

*На правах рукописи*

*Чельдиева Фариза Алановна*

**ВНЕКРИТЕРИАЛЬНЫЕ АНТИФОСФОЛИПИДНЫЕ АНТИТЕЛА  
У ПАЦИЕНТОВ С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ  
И СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ**

Специальность 3.1.27 — Ревматология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва — 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой».

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН  
**Лиля Александр Михайлович**

**Официальные оппоненты:**

**Моисеев Сергей Валентинович** — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой внутренних, профессиональных болезней и ревматологии ФГАОУ ВО «Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

**Беляева Ирина Борисовна** — доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры терапии, ревматологии, экспертизы временной нетрудоспособности и качества медицинской помощи им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «22» ноября 2022 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.182.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой», по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» и на сайте [www.rheumatolog.ru](http://www.rheumatolog.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

Дыдыкина И.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Антифосфолипидный синдром (АФС) — аутоиммунное заболевание, клинически проявляющееся рецидивирующими тромбозами сосудов любой локализации и калибра, а также рецидивирующими потерями плода [Насонов, 2004; Решетняк, 2014; Решетняк и соавт., 2020]. В первоначальных критериях АФС тромбоцитопения (ТП) была включена в основные признаки заболевания [Harris, 1985]. Кроме того, ТП является одним из гематологических нарушений при системной красной волчанке (СКВ). Сочетание ТП и удлинения времени свёртывания в фосфолипидзависимых тестах свертывания крови при АФС является парадоксальным явлением и не ассоциируется с кровотечением.

Серологическими маркерами АФС являются антитела к ФЛ (или антифосфолипидные антитела — аФЛ), которые выявляются и при других аутоиммунных заболеваниях, среди них 1-е место занимает СКВ. АФС на фоне другого диагностированного заболевания считается вторичным, при отсутствии — первичным. В связи со схожестью клинико-иммунологических проявлений в 2006 г. экспертами было принято решение не подразделять АФС на первичный и вторичный, но условное разграничение остается и в настоящее время [Miyakis et al., 2006].

По современным представлениям, аФЛ являются не только серологическим маркером, но и важным патогенетическим фактором, вызывающим развитие основных клинических проявлений АФС [Насонов, 2004; Arachchillage et al., 2017; Noureldine et al., 2019; Sciascia et al., 2017]. Доказано, что антитела воздействуют практически на все процессы гемостаза, повреждая его защитные звенья (эндотелиальный барьер, функцию естественных антикоагулянтов, эндогенный фибринолиз), активируют тромбоцитарное звено гемостаза и прокоагулянтные факторы, а также вызывают иммуноопосредованное нарушение свертывания крови через систему комплемента [Насонов, 2014; Решетняк, 2014].

По международным классификационным критериям АФС к классическим серологическим маркерам относятся: антитела к кардиолипину (аКЛ) иммуноглобулинов (Ig) G/IgM изотипов в средних и высоких уровнях; антитела к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 (анти- $\beta_2$ -ГП1) IgG/IgM изотипов и волчаночный антикоагулянт (ВА), которые выявляются в крови в средних или высоких уровнях по крайней мере 2 раза с промежутком времени не менее 12 нед [Miyakis et al., 2006]. Семейство аФЛ включает достаточно большую группу аутоантител, диагностическая значимость которых в настоящее время продолжает обсуждаться. Кроме того, у ряда пациентов имеются классические клинические признаки АФС без наличия стандартных аФЛ [Conti et al., 2014; Nayfe et al., 2013; Truglia et al., 2022].

В существующие классификационные критерии СКВ в раздел «иммунологические нарушения» были включены аФЛ [Hochberg, 1997; Petri et al., 2012; Aringer et al., 2019]. Пациенты с СКВ, положительные по аФЛ, имеют высокий риск тромбоэмболических осложнений, что требует проведения стратификации риска в зависимости от вида и уровней этих антител.

Таким образом, в настоящее время проблема диагностики АФС полностью не решена. Необходимы поиск новых специфических серологических маркеров АФС и изучение динамики

уровней аФЛ, которые могут иметь важное значение в определении прогноза заболевания и тактики терапии.

**Степень разработанности темы исследования.** Несмотря на наличие лабораторных рекомендаций по исследованию аФЛ, сохраняются межлабораторные вариации в оценке результатов их определения. В настоящее время для измерения аФЛ используют в основном иммуноферментный анализ (ИФА). Альтернативой ИФА является автоматизированный хемилюминесцентный анализ (ХЛА) с высокой аналитической чувствительностью и производительностью, широким диапазоном определяемых концентраций и высокой точностью на любом отрезке калибровочной кривой [Sciascia et al., 2017; Ткаченко и соавт., 2019]. Внедрение в практику твердофазных методов иммунохимического исследования аФЛ позволит снизить межлабораторные вариации.

Отсутствие стандартизации в диагностических системах приводит к неоднородным результатам, в связи с чем до настоящего времени в полной мере не проведена стратификация различных аФЛ по их виду и уровням. Согласно работам зарубежных авторов, у пациентов с антителами к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 (анти- $\beta_2$ -ГП1DI) класса IgG риск тромбоза и патологии беременности был выше по сравнению с IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI-негативными пациентами [Radin et al., 2018; Pericleous et al., 2016]. Результаты других исследований подтвердили клиническую значимость антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин (аФс/Пт), которые ассоциировались с тройной позитивностью и высокой частотой тромбозов и акушерской патологией [Canti et al., 2018; Hoxha et al., 2017; Zhu et al., 2017]. Имеются работы, показывающие, что комбинация ВА, анти- $\beta_2$ -ГП1 и аФс/Пт имеет большую диагностическую ценность при АФС [Sciascia et al., 2012]. Спорно и значение определения уровней IgA антител к фосфолипидам (ФЛ). Некоторые авторы не поддерживают включение IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 в качестве маркера АФС [Vlagea et al., 2018], другие считают, что позитивность по IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 важна для оценки риска тромботических осложнений [Despieres et al., 2014].

Существующие противоречия в оценке значимости аФЛ в диагностике АФС послужили основанием для проведения данной работы.

**Цель исследования.** Исследовать внекритериальные антифосфолипидные антитела в сопоставлении с классическими у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой и их роль в развитии сосудистых осложнений.

#### **Задачи исследования**

1. Определить диагностическую ценность IgG/IgM/IgA антител к кардиолипину, IgG/IgM/IgA антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1, IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 и IgG/IgM антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин в верификации антифосфолипидного синдрома.

2. Оценить сопоставимость уровней IgG/IgM антител к кардиолипину и IgG/IgM антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1, определенных с помощью иммуноферментного и хемилюминесцентного анализов.

3. Изучить связь между основными клинико-лабораторными проявлениями антифосфолипидного синдрома, тромбоцитопенией и уровнями IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1.

4. Определить роль IgA антител к кардиолипину и антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 в развитии сосудистых осложнений и тромбоцитопении у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой.

5. Исследовать IgG/IgM антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой.

6. Проанализировать динамику уровней антифосфолипидных антител и их связь с клиническими проявлениями антифосфолипидного синдрома по результатам проспективного исследования.

**Научная новизна.** Сопоставление результатов исследования IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 2 различными методами — с помощью ИФА и ХЛА — показало, что для диагностики АФС и оценки прогноза развития сосудистых осложнений у пациентов с АФС и СКВ наиболее точным и эффективным методом является ХЛА.

Оценены специфичность и чувствительность различных внекритериальных аФЛ в отношении достоверного АФС и его основных клинических проявлений. Высокая специфичность исследованных внекритериальных аФЛ свидетельствует о диагностической значимости IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI и IgG/IgM аФс/Пт в верификации АФС у пациентов с сосудистыми осложнениями.

Доказана тесная взаимосвязь между артериальными тромбозами и IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI/IgG аФс/Пт. Позитивность по IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI увеличивает риски артериальных тромбозов в 2,70 раза, а позитивность по IgG аФс/Пт — в 3,22 раза.

При анализе взаимосвязи внекритериальных аФЛ с невынашиванием беременности отмечено, что акушерская патология в анамнезе на поздних сроках гестации ассоциируется с позитивными значениями IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI.

Доказана взаимосвязь между ТП и позитивными значениями IgA анти- $\beta_2$ -ГП1.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** В основе исследования лежит современное представление об аФЛ как о маркерах системного заболевания, способствующих развитию тромбозов различной локализации и акушерской патологии, с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем.

В качестве лабораторных критериев диагностики АФС рекомендовано определение IgG/IgM аФс/Пт. Для диагностики тромбозов наиболее полезными лабораторными тестами являются IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI, IgA аКЛ, IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 и IgG аФс/Пт, а для диагностики артериальных тромбозов — IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI, IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 и IgG аФс/Пт, в верификации акушерской патологии — IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI.

Исследование различных серологических маркеров при тромбозах любой локализации и акушерской патологии позволило разработать алгоритм диагностики АФС, который будет

способствовать своевременной диагностике заболевания и прогнозированию риска развития тромбоэмболических осложнений и акушерской патологии у пациентов с АФС и СКВ.

Основные результаты работы внедрены в практику ведения больных ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» (ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой»), а также в учебную программу циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей кафедры ревматологии ФГБОУ ДПО РМАНПО и ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой». Результаты работы рекомендовано использовать в процессе комплексного обследования амбулаторных и стационарных пациентов с АФС и СКВ.

**Методология и методы исследования.** Для выполнения диссертационной работы использовались общенаучные методы, такие как количественное и качественное описание признаков, измерение, анализ, синтез, статистические методы (описательная и выборочная статистика). Проводилось анкетирование пациентов, выполнялись методы клинического и лабораторного анализа. В исследование были включены пациенты с АФС и СКВ, а также 100 относительно здоровых лиц (для контроля лабораторных методов исследования аФЛ методом ХЛА). Пациенты с другими ревматическими заболеваниями (РЗ), идиопатическими тромбозами и беременные женщины составили группу сравнения. В ходе проведения исследования определялись следующие аФЛ: IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 методами ИФА и ХЛА, IgA аКЛ, IgA анти- $\beta_2$ -ГП, IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI — ХЛА и IgG/IgM аФс/Пт — ИФА.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Уровни позитивности антифосфолипидных антител в различных методах их исследования следует стратифицировать для каждой лаборатории, они могут отличаться от значений, заявленных производителями реагентов.

2. В диагностике антифосфолипидного синдрома и в оценке риска развития сосудистых осложнений у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой наиболее точным и эффективным методом является хемилюминесцентный анализ.

3. При подозрении на антифосфолипидный синдром у пациентов с тромбозами и акушерской патологией наряду с классическими антифосфолипидными антителами рекомендовано определение антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1.

4. У пациентов с сосудистыми осложнениями исследование IgA антител к кардиолипину и  $\beta_2$ -гликопротеину 1 не должно быть первостепенным, так как несмотря на их высокую специфичность (95 и 93% соответственно) в диагностике антифосфолипидного синдрома, они обладают низкой чувствительностью (54 и 44% соответственно) и не выявляются изолированно.

5. Риск развития тромбозов у пациентов с позитивными значениями IgG антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин был в 4 раза выше, а риск развития антифосфолипидного синдрома — в 5,55 раза, что свидетельствует о важности исследования этих антител.

**Степень достоверности результатов работы.** Достоверность результатов исследования основана на использовании современных клинических, биохимических и иммунологических методов в обследованных группах лиц. Диагноз СКВ основывался на классификационных критериях 1997 г. [Hochberg, 1997]. Другие РЗ диагностировали в соответствии с существующими критериями [Насонов и соавт., 2015]. Для верификации АФС использовались общепринятые международные критерии [Miyakis et al., 2006]. Диагноз вероятного АФС (верАФС) выставлялся при отсутствии признаков РЗ и патологии, способствующей выработке аФЛ, при стойких положительных значениях аФЛ и/или наличии внекритериальных проявлений заболевания (сетчатого ливеда, ТП, микроангиопатии головного мозга и др.) [Asherson, 2006]. Методики обследования, использованные в работе, были стандартизированы для всех групп исследования.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены: на Всероссийском ревматологическом форуме молодых ученых «Междисциплинарный подход к аутоиммунным заболеваниям» (2019 г.), ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» «Современная ревматология — эволюция взглядов: pro et contra» (2019 г.), ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» «Ревматология — 2020: реализация практического опыта в условиях новой реальности» (2020 г.), на XIX Всероссийской школе ревматологов им. В.А. Насоновой (2020 г.), Российском форуме по тромбозу и гемостазу (2020 г.), XX Юбилейной всероссийской школе ревматологов им. акад. В.А. Насоновой с международным участием (2021 г.), IX научно-практической конференции «Нестеровские чтения» (2021 г.), форуме антитромботической терапии с международным участием (FACT bridge 2021), научно-практической конференции НАТГ «Всемирный день тромбоза–2021» и премии НАТГ в области изучения тромбозов, кровотечений и патологии свертывания крови (2021 г.), ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» с международным участием «Системные иммуновоспалительные заболевания: научные исследования и реальная клиническая практика» (2021 г.), XXI Всероссийской школе ревматологов им. акад. В.А. Насоновой с международным участием (2022 г.), Российском форуме по тромбозу и гемостазу совместно с 11-й Конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (2022 г.). Проведение исследования одобрено комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО (протокол № 12 от 16.10.2019) и комитетом по этике при ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» (протокол № 25 от 19.12.2019).

По результатам работы была назначена стипендия Правительства РФ на 2021/2022 гг. (приказ №796 Минобрнауки России «О назначении стипендий Правительства Российской Федерации студентам (курсантам, слушателям) и аспирантам (адъюнктам), обучающимся по очной форме в государственных организациях, осуществляющих образовательную деятельность по образовательным программам высшего образования, находящихся в ведении федеральных государственных органов, на 2021/22 учебный год»).

Работы были отмечены на конкурсах: II место на конкурсе авторских рукописей 2020 г. «Система гемостаза — коагулопатии — массивные кровотечения — патология системы комплемента», организованного Национальной ассоциацией по тромбозу и гемостазу и научно-практическим журналом «Тромбоз, гемостаз и реология» за работу «Антифосфолипидные антитела и уровни компонентов комплемента у пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом»; II место на IX научно-практической конференции «Нестеровские чтения» (27 марта 2021 г.) в секции «Конкурс молодых ученых, устные выступления» за выступление «Развитие достоверного антифосфолипидного синдрома после перенесенной коронавирусной инфекции».

Первичная экспертиза диссертации проведена на заседании ученого совета ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» (протокол № 12 от 24.05.2022) и на расширенном заседании кафедры ревматологии ФГБОУ ДПО РМАНПО (протокол № 6 от 06.06.2022).

**Конкретное участие автора в получении научных результатов.** В соответствии с целью исследования автором изучена научная литература по теме работы, подготовлены и опубликованы обзоры литературы. Совместно с научным руководителем и научным консультантом определены цель и задачи исследования, выбраны методы для его проведения. Была разработана индивидуальная карта, заполняемая на каждого пациента. На протяжении всего периода наблюдения проводилась курация обследованных больных. Разработана специальная электронная база для хранения и статистической обработки данных. Все полученные результаты тщательно проанализированы, статистически обработаны. Сформулированы научные положения, выводы и практические рекомендации.

**Внедрение результатов исследования.** Основные результаты данной работы внедрены и применяются в ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой», материалы диссертационного исследования используются при чтении лекций, проведении круглых столов и практических занятий для врачей и ординаторов на кафедре ревматологии ФГБОУ ДПО РМАНПО и ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой».

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 210 страницах, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, обсуждение собственных результатов), выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 20 отечественных и 252 зарубежных источника. Диссертация иллюстрирована 73 таблицами, 27 рисунками и 3 клиническими примерами.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 6 литературных обзоров, 5 оригинальных научных статей, 4 описания клинических случаев в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований, и прочих журналах, 27 тезисов в материалах российских и международных научных конференций, съездов и конгрессов.



## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материал и методы исследования.** В исследование было включено 242 человека, из которых 192 пациента наблюдались в ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» в период с 2019 по 2021 г. с одним из следующих диагнозов: первичный АФС – ПАФС (n=55), верАФС (n=12), СКВ с АФС (n=61) и СКВ без АФС (n=64). Группу сравнения составили 50 пациентов, среди них 41 пациент был с другими РЗ (из них 19 (38%) с тромбозами в анамнезе), 3 беременные женщины без РЗ и 6 пациентов с тромбозами в анамнезе без установленной причины. В контрольную группу вошли 100 относительно здоровых лиц (без РЗ, не имеющих онкологической патологии и инфекционных заболеваний).

Критериями включения в исследование были: подписанное информированное согласие пациентом, мужчины и женщины в возрасте от 18 до 65 лет, пациенты с достоверным АФС и верАФС, с СКВ, проживающие в Москве, Московской и близлежащих областях, выразивших согласие на регулярные визиты. Критериями невключения в исследование были: отсутствие информированного согласия, возраст до 18 лет и старше 65 лет, хроническая легочно-сердечная недостаточность III стадии, хроническая болезнь почек V стадии, печеночная недостаточность декомпенсированная, острые или хронические инфекции, онкологические заболевания.

Пациенты, включённые в основную, контрольную группу и группу сравнения, были сопоставимы по возрасту (таблица 1). Пациенты с СКВ+АФС и ПАФС были старше по сравнению с пациентами с СКВ. Средняя продолжительность заболевания у больных вторичным АФС (12,0 [5,0–17,3]) была выше, чем у больных ПАФС (8,9 [3,6–13,0], p=0,049). Отмечалась тенденция к большей длительности заболевания в группе пациентов с ПАФС и СКВ+АФС по сравнению с пациентами с СКВ: 8,9 [3,6–13,0] и 12,0 [5,8–19,0] против 4,1 [1,8–9,3] соответственно (p=0,053).

**Таблица 1.** Общая характеристика обследованных больных и группы контроля

Параметр	Значение параметра						
	ПАФС, n=55	верАФС, n=12	СКВ+АФС, n=61	СКВ, n=64	Всего, n=192	Группа сравнения, n=50	Группа контроля, n=100
Возраст, лет	38,0 [32,0–43,0]	34,0 [29,5–45,5]	40,0 [33,0–46,0]	31,5 [24,0–40,5]	37,0 [29,0–43,5]	39,5 [35,0–49,0]	41,0 [30,0–54,0]
Длительность заболевания, лет	8,9 [3,6–13,0]	0,9 [0,3–2,1]	12,0 [5,8–19,0]	4,1 [1,8–9,3]	7,0 [2,0–15,0]	6,5 [1,6–20,0]	-
Пол: женщины/ мужчины, абс.	32/23	10/2	49/12	56/8	147/45	34/16	86/14
Тромбоз, n (%)	47 (90)	1 (8)	51 (86)	14 (22)	113 (60)	20 (40)	1 (1) **
Вен. тромбоз, n (%)	21 (45)	0 (0)	24 (47)	10 (72)	55 (49)	14 (70)	1 (100)

Параметр	Значение параметра						
	ПАФС, n=55	верАФС, n=12	СКВ+АФС, n=61	СКВ, n=64	Всего, n=192	Группа сравнения, n=50	Группа контроля, n=100
Арт. тромбоз, n (%)	16 (34)	0 (0)	15 (29)	2 (14)	33 (29)	5 (25)	0 (0)
Арт. и вен. тромбоз, n (%)	10 (21)	1 (100)	12 (24)	2 (14)	25 (22)	1 (5)	0 (0)
Невынашивание беременности, n (%)*	n=20 19 / (95)	n=2 1 / (50)	n=31 26 / (84)	n=16 7 / (44)	n=69 53 / (77)	n=13 5 / (38)	n=51 2 (4)***
ТП	7 (13)	5 (42)	19 (32)	15 (23)	46 (24)	0 (0)	нд
➤ На момент включения в исследование	0 (0)	4 (33)	3 (5)	4 (6)	11 (6)	0 (0)	
➤ В анамнезе	7 (13)	5 (42)	19 (32)	13 (20)	44 (23)	0 (0)	
IgG аКЛ, n (%)	40 (73)	7 (58)	41 (67)	8 (12,5)	96 (50)	n=21; 0 (0)	нд
IgM аКЛ, n (%)	12 (23)	3 (25)	11 (18)	7 (11)	33 (17)	n=21; 0 (0)	
IgG+IgM аКЛ, n (%)	8 (15)	1 (8)	8 (13)	6 (9)	23 (12)	n=21; 0 (0)	
IgG анти-β <sub>2</sub> -ГП1, n (%)	39 (71)	7 (58)	46 (75)	9 (14)	100 (52)	n=19; 2 (10,5)	нд
IgM анти-β <sub>2</sub> -ГП1, n (%)	12 (22)	5 (42)	13 (21)	7 (11)	37 (19)	n=19; 0 (0)	
IgG+IgM анти-β <sub>2</sub> -ГП1, n (%)	11 (20)	3 (25)	12 (20)	6 (9)	32 (17)	n=19; 0 (0)	

*Примечание:* значения представлены как Ме [25%; 75%-ные квартили] или количество (доля в процентах), арт — артериальный тромбоз, вен — венозный тромбоз, нд — нет данных; \*акушерская патология рассчитана из числа женщин, имевших беременность на фоне заболевания, \*\*постинъекционный тромбоз, \*\*\*у 1 — выкидыш до 10-й недели гестации, у 1 — преэклампсия.

В исследование было включено 125 пациентов с СКВ, из них 61 (48,8%) пациент был с СКВ в сочетании с АФС и 64 (51,2%) — с СКВ без АФС. Частота клинических и лабораторных проявлений СКВ у больных с/без АФС была сопоставима (таблица 2).

**Таблица 2.** Клинические и лабораторные проявления системной красной волчанки за весь период заболевания по критериям 1997 г.

Показатели	СКВ с АФС (n=61) n (%)	СКВ без АФС (n=64) n (%)	Всего (n=125) n (%)
Сыпь на скулах	19 (32)	26 (41)	45 (36)
Дискоидная сыпь	3 (5)	2 (3)	5 (4)
Фотосенсибилизация	11 (18)	14 (22)	25 (20)
Язвы в ротовой полости	8 (13)	18 (28)	26 (21)
Неэрозивный артрит	29 (48)	39 (61)	68 (54)

Показатели	СКВ с АФС (n=61)	СКВ без АФС (n=64)	Всего (n=125)
	n (%)	n (%)	n (%)
Серозит	26 (43)	32 (50)	58 (46)
Поражение почек	22 (37)	28 (44)	50 (40)
Поражение ЦНС	9 (15)	1 (2)	10 (8)
Гематологические нарушения	39 (64)	44 (69)	83 (66)
Иммунологические нарушения	59 (97)	63 (98)	122 (98)
Повышение титров АНФ	61 (100)	64 (100)	125 (100)

*Примечание:* ЦНС — центральная нервная система, АНФ — антинуклеарный фактор.

Активность СКВ при подсчете с помощью индекса SLEDAI составила  $7,3 \pm 7,4$  балла, а индекс повреждения SLICC —  $1,1 \pm 1,5$  балла (таблица 3). Индекс активности SLEDAI был достоверно выше у пациентов с СКВ без АФС, по сравнению с пациентами с СКВ с АФС ( $p=0,02$ ). Среди пациентов с очень высокой активностью заболевания ( $n=10$ ) достоверно чаще встречались пациенты с СКВ без АФС (90%) по сравнению с пациентами с СКВ+АФС ( $p=0,01$ ). Индекс повреждения SLICC был достоверно выше у пациентов с СКВ в сочетании с АФС —  $1,4 \pm 1,7$  ( $p=0,007$ ).

**Таблица 3.** Оценка активности и повреждения органов у пациентов с системной красной волчанкой на момент включения в исследование

<b>SLEDAI</b>			
	СКВ с АФС (n=60) n (%)	СКВ без АФС (n=64) n (%)	Всего (n=124) n (%)
Нет активности	7 (12)	7 (11)	14 (11)
Низкая активность	30 (49)	23 (36)	53 (43)
Средняя степень активности	15 (25)	12 (19)	27 (22)
Высокая степень активности	7 (12)	13 (20)	20 (16)
Очень высокая степень активности	1 (2)	9 (14)	10 (8)
Индекс активности SLEDAI (баллы; $M \pm SD$ )	$5,3 \pm 4,9$	$9,2 \pm 8,8$	$7,3 \pm 7,4$
<b>ИП SLICC</b>			
Повреждение отсутствует	25 (42)	42 (66)	67 (54)
Низкий ИП	13 (22)	9 (14)	22 (18)
Средний ИП	20 (33)	11 (17)	31 (25)
Высокий ИП	2 (3)	2 (3)	4 (3)
Индекс повреждения SLICC (баллы; $M \pm SD$ )	$1,4 \pm 1,7$	$0,7 \pm 1,4$	$1,1 \pm 1,5$

*Примечание:* ИП — индекс повреждения.

Все пациенты, включенные в исследование, обследовались и получали основную терапию в стационарных или амбулаторных условиях ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой».

Подсчет числа тромбоцитов в периферической крови проводился с помощью автоматических гематологических анализаторов Sysmex XN 1000 и Sysmex 2000 и с оценкой мазка крови под микроскопом по методу Фолио. Методика основана на подсчете числа этих клеток в окрашенном мазке крови на 1000 эритроцитов с пересчетом на 1 мл крови. За ТП принимались значения менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , зарегистрированные дважды.

Пациентам основной группы и группы сравнения проводилось определение IgG/IgM аКЛ, IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 методом ИФА на автоматическом анализаторе для лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний Alegria (фирма «Orgentec Diagnostika GmbH», Германия) с набором реагентов для определения антител фирмы Orgentec Diagnostika GmbH (Германия). IgG аКЛ измерялись в фосфолипидсвязывающей активности IgG аКЛ на 1 мкг/мл в единицах GPL, а IgM аКЛ — в фосфолипидсвязывающей активности IgM аКЛ на 1 мкг/мл в MPL. IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 измеряли в Ед/мл.

Пациентам, включенным в исследование, в том числе и группе контроля проводилось определение IgG/IgM/IgA аКЛ, IgG/IgM/IgA анти- $\beta_2$ -ГП1, IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI методом ХЛА с помощью BIO-FLASH® (фирма «Biokit S.A.», Испания). Использовались следующие наборы реагентов: для определения IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 и IgG/IgM аКЛ — AcuStar, Испания, для определения IgA аКЛ, IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 и IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI — QUANTA Flash®, США. Исследуемые аФЛ измерялись в хемилюминесцентных единицах (chemiluminescent units — CU).

У 190 из 192 пациентов, включенных в исследование, проводилось определение IgG/IgM аФс/Пт методом ИФА с помощью абсорбционного микропланшетного спектрофотометра Tecan sunrise (Австрия) с набором реагентов для определения антител фирмы AESKULISA Serin-Prothrombin-GM. IgG/IgM аФс/Пт измерялись в Ед/мл.

Исследование ВА проводилось на автоматическом коагулометре фирмы Siemens Healthcare (Германия) с использованием скринингового (ВА1) и подтверждающего (ВА2) тестов. Исследование ВА проводилось у пациентов, не получавших антикоагулянты. ВА был определен у 58 пациентов, включенных в исследование, из которых у 31 пациента тест был положительным, у 27 — отрицательным. У оставшихся 134 (70%) пациентов исследование ВА не проводилось в связи с приемом антикоагулянтов.

**Статистический анализ.** При статистической обработке результатов для описания количественных переменных использовались следующие показатели: среднее арифметическое (M), стандартное отклонение ( $\delta$ ), медиана, 25-й и 75-й перцентили; для качественных переменных — частота. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Для анализа различия частот в двух независимых группах объектов исследования использовали методы статистического анализа:  $\chi^2$  (критерий Пирсона), при наличии абсолютных частот в клетках таблиц частот меньше 10 применялся  $\chi^2$  с поправкой по Йетесу. Корреляционные взаимосвязи оценивались с помощью метода Спирмена. Сравнение медиан аФЛ в динамике проводилось с использованием

непараметрического метода — Т-критерия Вилкоксона. На основании средних значений группы контроля для определения IgG/IgM/IgA аКЛ, IgG/IgM/IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 (ХЛА) и IgG/IgM аФс/Пт (ИФА) были выделены уровни позитивности по формулам: среднее арифметическое (M) + 3 или 5 стандартных отклонений (SD): M+3SD и M+5SD. Оценка диагностической ценности выделенных уровней позитивности и уровней, предложенных производителями реагентов, проводилась согласно формулам, представленным в таблице 4.

**Таблица 4.** Формулы для определения метрик диагностической ценности предложенных уровней позитивности исследуемых антифосфолипидных антител [Реброва, 2002; Морозов и соавт., 2019]

Показатель	Формула
Чувствительность	Истинно позитивные/истинно позитивные + ложно-отрицательные
Специфичность	Истинно отрицательные/истинно отрицательные + ложно-позитивные
Точность (общая валидность)	Истинно позитивные + истинно отрицательные/истинно позитивные + истинно отрицательные + ложно-позитивные + ложно-отрицательные
Отношение правдоподобия положительного результата	Чувствительность/1 — специфичность
Отношение правдоподобия отрицательного результата	1 — чувствительность/специфичность
Прогностическая ценность положительного результата	Истинно позитивные/истинно позитивные + ложно-позитивные
Прогностическая ценность отрицательного результата	Истинно отрицательные/истинно отрицательные + ложно-отрицательные
Частота ложных срабатываний	1 — специфичность

ROC-кривые (receiver operating characteristic, «кривая ошибок») строились в пакете программы IBM SPSS Statistics 13.0 for Windows (IBM Corporation, USA). Площадь под ROC-кривой (AUC = area under the curve) являлась диагностической метрикой ROC-кривых. AUC оценивалась в диапазоне 0–1: <0,6 — непригодно, 0,61–0,8 — требуется доработка,  $\geq 0,81$  — может быть допущено к клинической валидации [Реброва, 2002; Морозов и соавт., 2019].

Для измерения степени согласованности результатов определения аФЛ методами ИФА и ХЛА использовался коэффициент каппа Коэна. Вычисление коэффициента производилось с помощью статистического программного пакета IBM SPSS 26.0.

Расчет выполнен на персональном компьютере с использованием пакета статистического анализа данных Statistica 10.0 for Windows (StatSoftInc., USA) и IBM SPSS Statistics 13.0 for Windows (IBM Corporation, USA), VassarStats.

### **Результаты и обсуждение собственных исследований**

**Оценка диагностической точности определения исследуемых антифосфолипидных антител.** Надёжный лабораторный метод важен для верификации АФС в связи с

неспецифичностью клинических признаков. Существуют проблемы по определению аФЛ, связанные с внутрилабораторными и межлабораторными вариациями [Favaloro et al, 2008]. Отсутствие стандартизации тестов диктует необходимость разработки собственного диапазона нормальных значений. В зависимости от уровней позитивности, высчитывались параметры, по которым оценивалась диагностическая точность. По результатам анализа были приняты следующие положительные уровни: для IgG аКЛ >25,9 CU (M+5SD), для IgM аКЛ >19,5 CU (M+3SD), для IgA аКЛ >18,9 CU (M+5SD), для IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 >32,0 CU (M+5SD), для IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 >6,9 CU (M+3SD), для IgA анти-β<sub>2</sub>-ГП1 >20,0 CU, для IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1DI >19,0 CU, для IgG аФс/Пт >73,6 Ед/мл (M+3SD), для IgM аФс/Пт >18,0 Ед/мл. Полученные значения IgG аКЛ, IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1, IgG аФс/Пт для верификации АФС были выше значений, предложенных производителями реагентов, а IgM/IgA аКЛ, IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 — ниже значений производителей реагентов.

**Сопоставимость двух методов исследования антифосфолипидных антител.** По литературным данным, определение аФЛ методом ХЛА не уступает ИФА, а по некоторым данным превосходит его [Pericleous et al, 2016; Zhang et al, 2015; Devreese et al, 2009; De Moerloose et al, 2010; Capozzi et al, 2012].

Позитивные уровни IgG аКЛ и IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 выявлялись достоверно чаще при исследовании ХЛА ( $\chi^2=5,11$ ,  $p=0,02$ ;  $\chi^2=5,21$ ;  $p=0,02$  соответственно) по сравнению с ИФА. IgG аКЛ и IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 выявлялись у 50 и 52% обследованных больных методом ИФА, а у 61 и 64% — ХЛА соответственно (таблица 5).

**Таблица 5.** Частота положительных значений IgG/IgM аКЛ, IgG/IgM антител к β<sub>2</sub>-гликопротеину 1 при исследовании иммуноферментным и хемилюминесцентным анализом

Показатель	ИФА		ХЛА		$\chi^2$ ; p	Каппа; p
	Число позитивных пациентов, n (%)	Уровни позитивности в GPL/MPL, Me [25–75%]	Число позитивных пациентов, n (%)	Уровни позитивности в CU, Me [25–75%]		
<b>IgG аКЛ, n=192</b>	пол	96 (50)	119,9	118 (61)	<b>5,11;</b> <b>0,02</b>	0,667; 0,0001
	отр	96 (50)	[69,6–120,0]	74 (39)		
<b>IgM аКЛ, n=192</b>	пол	33 (17)	55,2	56 (29)	<b>7,74;</b> <b>0,005</b>	0,537; 0,0001
	отр	159 (83)	[36,9–80,0]	136 (71)		
<b>IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1, n=191</b>	пол	100 (52)	86,6	122 (64)	<b>5,21;</b> <b>0,02</b>	0,621; 0,0001
	отр	91 (48)	[50,1–100,0]	69 (36)		
<b>IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1, n=191</b>	пол	37 (19)	41,3	61 (32)	<b>7,91;</b> <b>0,004</b>	0,615; 0,0001
	отр	154 (81)	[25,0–84,7]	130 (68)		

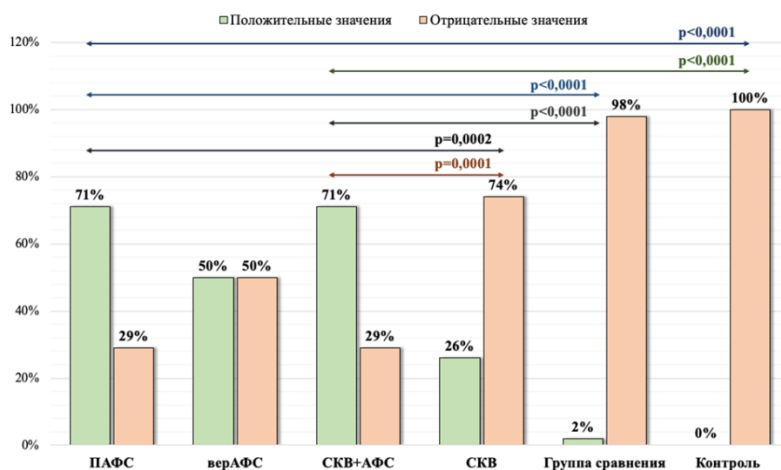
Примечание: пол — положительные, отр — отрицательные.

В 16% (у 31 из 192 пациентов) случаев отмечалось расхождение в уровнях IgG аКЛ по данным используемых методов определения, из них 87% (27 из 31) пациентов с отрицательными уровнями IgG аКЛ по результатам ИФА имели позитивные значения в ХЛА. У оставшихся 13% (4 из 31) пациентов с IgG аКЛ в ИФА они были отрицательными по данным ХЛА. Расхождение в уровнях IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 отмечалось у 18% (34 из 191) пациентов. Из них 82% (28 из 34) пациентов были отрицательными по данным ИФА, но позитивными в ХЛА, а 18% (6 из 34 пациентов) позитивных случаев при исследовании ИФА были негативными в ХЛА.

Позитивные уровни IgM аКЛ достоверно чаще выявлялись при исследовании методом ХЛА по сравнению с ИФА: у 29 и 17% пациентов соответственно ( $\chi^2=7,74$ ,  $p=0,005$ ); таблица 5. В 16% (31 из 192 пациентов) случаев отмечалось расхождение в уровнях IgM аКЛ по результатам обоих методов определения, из них 87% (27 из 31) пациентов были с негативными значениями IgM аКЛ по данным ИФА, но позитивными при исследовании ХЛА, а 13% (4 из 31 пациента) были позитивными по данным ХЛА и негативными в ИФА. IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 достоверно чаще выявлялись методом ХЛА, по сравнению с ИФА: (32% к 19%,  $\chi^2=7,91$ ,  $p=0,004$ ); таблица 5. В 15% (28 из 191 пациентов) случаев значения IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 не совпадали при определении ИФА и ХЛА: 97% (26 из 28 пациентов) из них негативных в ИФА были позитивными в ХЛА, а 7% (2 из 28 пациентов) — с IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 в ИФА имели отрицательные значения в ХЛА.

**Внекритериальные антифосфолипидные антитела.** Вопрос о включении ряда аФЛ, а также IgA классических антител в качестве серологических маркеров АФС продолжает обсуждаться. В данной работе мы определяли следующие внекритериальные аФЛ: IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1D1, IgA аКЛ, IgA-аβ<sub>2</sub>-ГП1, IgG аФс/Пт, IgM аФс/Пт.

У пациентов с ПАФС и СКВ+АФС достоверно чаще встречались IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1D1, по сравнению с пациентами с СКВ ( $p=0,0002$  и  $p=0,0001$  соответственно), с группой контроля и сравнения ( $p<0,0001$ ); рисунок 1. Медиана уровней IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1D1 у пациентов с ПАФС, верАФС, СКВ+АФС и СКВ была выше по сравнению с группой контроля ( $p<0,000001$ , 0,03,  $<0,000001$  и 0,02 соответственно). У пациентов с ПАФС и СКВ+АФС уровни IgG-аβ<sub>2</sub>-ГП1-D1 были достоверно выше по сравнению с пациентами с СКВ ( $p=0,001$  и  $p=0,000005$  соответственно) и пациентами из группы сравнения ( $p<0,05$ ).



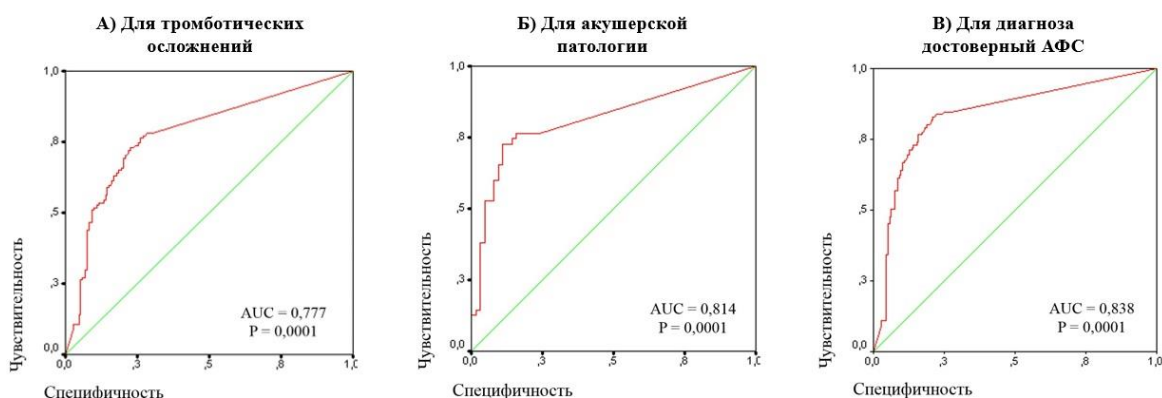
**Рисунок 1.** Частота выявления IgG антител к домену I β<sub>2</sub>-гликопротеина 1 в группах пациентов

Отмечена достоверная связь между IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI и развитием тромбозов. Так, риск развития тромбозов у пациентов с наличием IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI был в 2,63 раза выше, по сравнению с пациентами без IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI (отношение шансов — ОШ 2,63 доверительный интервал — ДИ 1,42–4,76). Артериальные тромбозы регистрировались достоверно чаще у пациентов с IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI (у 41 (40%) из 102 пациентов) по сравнению с теми, у кого определялись отрицательные уровни IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI (у 17 (20%) из 85 пациентов) ( $\chi^2=8,84$ ;  $p=0,002$ ).

Акушерская патология достоверно чаще встречалась у пациенток с позитивными IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI: у 32 (86%) из 37 женщин с беременностью в анамнезе выявлялась акушерская патология и наличие IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI против 21 (66%) из 32 женщин с отрицательными значениями IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI ( $\chi^2=4,19$ ;  $p=0,04$ ; с поправкой по Йейтсу:  $\chi^2=3,1$ ;  $p=0,07$ ). Эклампсия/преэклампсия и фетоплацентарная недостаточность ассоциировались с наличием IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI ( $\chi^2=4,62$ ;  $p=0,03$ ). На поздних сроках гестации эклампсия/преэклампсия и фетоплацентарная недостаточность в анамнезе были у 19 из 37 женщин с позитивными IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI против 7 из 32 с акушерской патологией, но без IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI.

Верификация достоверного АФС статистически значимо ассоциировалась с позитивностью по IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI ( $\chi^2=30,45$ ;  $p<0,0001$ ). Вероятность развития АФС у пациентов с IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI была в 5,88 раза выше по сравнению с пациентами без этих антител (ОШ — 5,88; ДИ 3,03–11,11).

Диагностическую ценность IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI мы оценили по ROC-кривым (рисунок 2). Площадь под ROC-кривой при наличии тромбозов составила 0,777 [0,720–0,835], при акушерской патологии — 0,814 [0,732–0,897], при достоверном АФС — 0,838 [0,787–0,889].



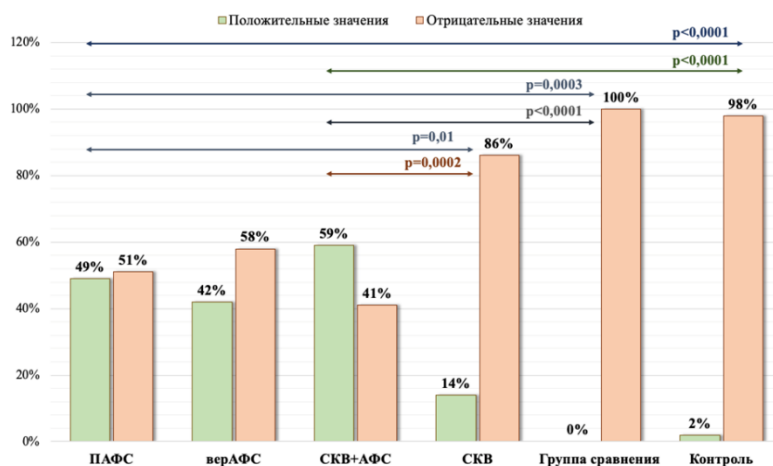
**Рисунок 2.** ROC-анализ IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 в зависимости от наличия антифосфолипидного синдрома и его основных клинических проявлений

Чувствительность и специфичность IgG анти- $\beta_2$ -ГП1DI при наличии АФС составили 71 и 89% соответственно, тромбозов — 54 и 84%, акушерской патологии — 53 и 94%.



Достоверно чаще IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1DI выявлялись у пациентов на фоне позитивности всех классических антител. Отмечена высокая частота выявления IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1DI на фоне позитивных IgG аКЛ и IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1, что подтверждается высокой корреляционной связью IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1DI с IgG аКЛ и IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 (R=0,83 и 0,82 соответственно). Изолированная позитивность IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1DI выявлялась редко (в 2% случаев) и не ассоциировалась с проявлениями АФС.

IgA аКЛ выявлялись у 75 (40%) из 187 обследованных пациентов, у 2 (2%) из контрольной группы и ни у одного пациента из группы сравнения (рисунок 3).



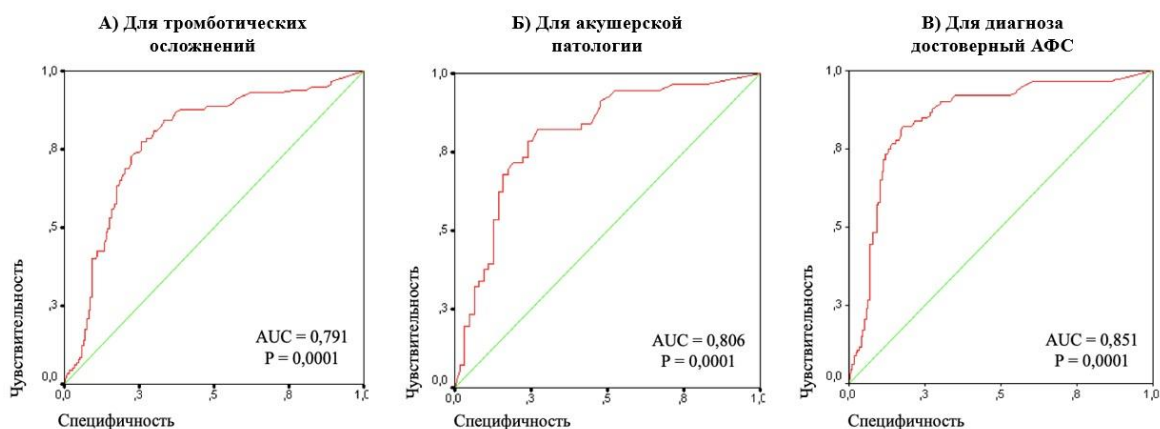
**Рисунок 3.** Частота выявления IgA антител к кардиолипину в группах пациентов

Медиана уровней IgA аКЛ у пациентов с ПАФС, верАФС, СКВ+АФС, и СКВ была выше по сравнению с группой контроля (p < 0,000001), у пациентов с ПАФС, верАФС, СКВ+АФС — по сравнению с пациентами из группы сравнения (p < 0,0001, 0,01, < 0,0001 соответственно), у пациентов с ПАФС и СКВ+АФС — по сравнению с пациентами с СКВ (p = 0,0001 и p < 0,0001 соответственно).

Отмечена достоверная связь между IgA-аКЛ и развитием тромбозов. Тромбозы регистрировались у 53 (71%) из 75 пациентов с IgA аКЛ ( $\chi^2=4,96$ ; p=0,02). Риск развития тромбозов у пациентов с позитивными IgA аКЛ был в 2,04 раза выше по сравнению с пациентами без этих антител (ОШ — 2,04; ДИ 1,08–3,84). Локализация тромбозов и акушерская патология в анамнезе не ассоциировалась с наличием IgA аКЛ.

Верификация достоверного АФС статистически значимо коррелировала с позитивностью по IgA аКЛ: так АФС диагностировался у 61 (85%) из 75 пациентов с IgA аКЛ против 51 (65%) из 112 пациентов с АФС, но без IgA аКЛ ( $\chi^2=23,96$ ; p < 0,0001). Риск развития АФС при позитивных значениях IgA аКЛ был в 5,26 раза выше (ОШ — 5,26; ДИ 2,63–11,11).

Проведена оценка диагностической ценности IgA аКЛ по данным ROC-кривых (рисунок 4). Площадь под ROC-кривой при наличии тромбозов составила 0,791 [0,725–0,837], при акушерской патологии — 0,806 [0,725–0,886], при достоверном АФС — 0,851 [0,803–0,889].

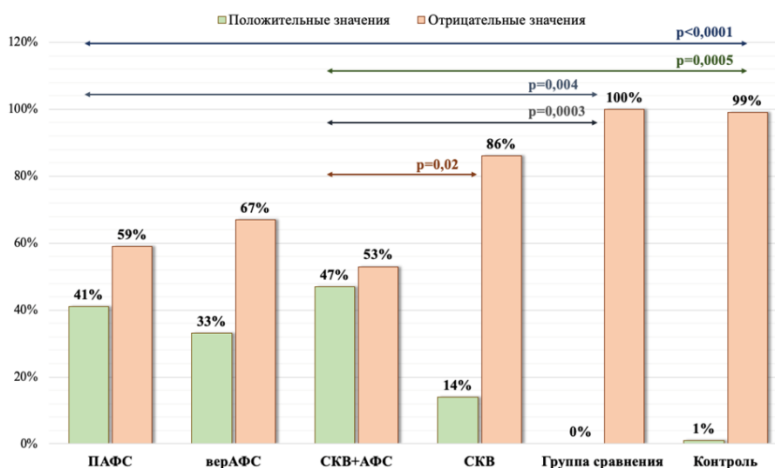


**Рисунок 4.** ROC-анализ IgA антител к кардиолипину в зависимости от наличия антифосфолипидного синдрома и его основных клинических проявлений

Чувствительность и специфичность IgA аКЛ в зависимости от диагноза АФС и его клинических проявлений (тромбозов и акушерской патологии) составили 54 и 95%, 39 и 88%, 32 и 93% соответственно.

Отмечена ассоциация IgA аКЛ с IgG аКЛ и IgM аКЛ ( $\chi^2=59,02$ ;  $p<0,0001$  и  $\chi^2=28,0$ ;  $p<0,0001$  соответственно). В 95% случаев (у 71 из 75 пациентов) при позитивных значениях IgA аКЛ выявлялись IgG-аКЛ, а в 49% (у 37 из 75 пациентов) — IgM аКЛ. При отрицательных уровнях IgA аКЛ у 37% (у 42 из 112) пациентов определялись IgG аКЛ и у 13% (у 15 из 112) — IgM аКЛ. Частота IgA аКЛ позитивности ассоциировалась с наличием IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1 и их комбинациями. В 100% случаях позитивность по IgA аКЛ ассоциировалась с наличием анти- $\beta_2$ -ГП1. Изолированной позитивности IgA аКЛ у пациентов с отрицательными значениями классических аФЛ не отмечалось. Установлена достоверная корреляционная связь IgA аКЛ с IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- $\beta_2$ -ГП1.

IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 выявлялись у 63 (34%) из 187 пациентов, у 1 (1%) из группы контроля и ни у одного пациента из группы сравнения (рисунок 5).



**Рисунок 5.** Частота выявления IgA антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 в группах пациентов

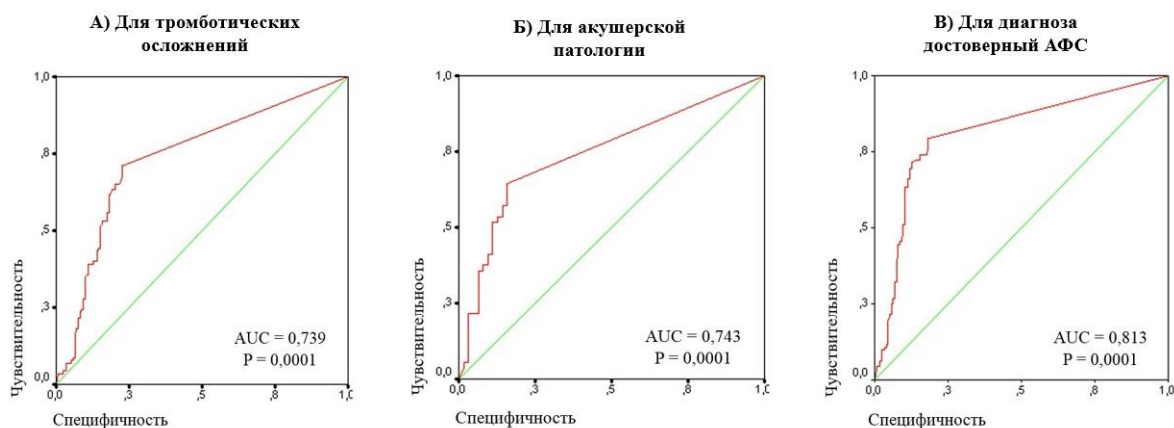
Медиана уровней IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 у пациентов с ПАФС, верАФС и СКВ+АФС была выше по сравнению с группой контроля и группой сравнения ( $p < 0,0001$ ). У пациентов с ПАФС и СКВ+АФС уровни IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 были достоверно выше по сравнению с пациентами с СКВ ( $p = 0,0005$  и  $p = 0,0000025$  соответственно), а значения IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 — у пациентов с СКВ по сравнению с группой контроля ( $p = 0,009$ ).

Позитивные значения IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 ассоциировались с развитием тромбозов ( $\chi^2 = 4,37$ ;  $p = 0,04$ ), в том числе с артериальными. Артериальные тромбозы в анамнезе были у 41% ( $n = 26$ ) пациентов с позитивными IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 и у 26% ( $n = 32$ ) пациентов без IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 ( $\chi^2 = 4,67$ ;  $p = 0,03$ ). Вероятность артериальных тромбозов у пациентов с IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 была выше в 2,04 раза (ОШ — 2,04; ДИ 1,06–3,84). Наличие IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 не ассоциировалось с акушерской патологией в анамнезе.

У 21 (33%) из 63 пациентов с IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 за весь период заболевания отмечалась ТП, и у 25 (20%) из 124 без IgA анти- $\beta_2$ -ГП1. Выявлена достоверная взаимосвязь между ТП за весь период заболевания и IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 ( $\chi^2 = 3,91$ ;  $p = 0,048$ ).

Верификация достоверного АФС статистически значимо ассоциировалась с позитивностью по IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 ( $\chi^2 = 15,00$ ;  $p = 0,0001$ ).

Диагностическая ценность IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 была оценена по ROC-кривым (рисунок 6). Площадь под ROC-кривой при наличии тромбозов составила 0,739 [0,678–0,799], при акушерской патологии — 0,743 [0,651–0,835], при достоверном АФС — 0,813 [0,759–0,867].



**Рисунок 6.** ROC-анализ IgA антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 в зависимости от наличия антифосфолипидного синдрома и его основных клинических проявлений

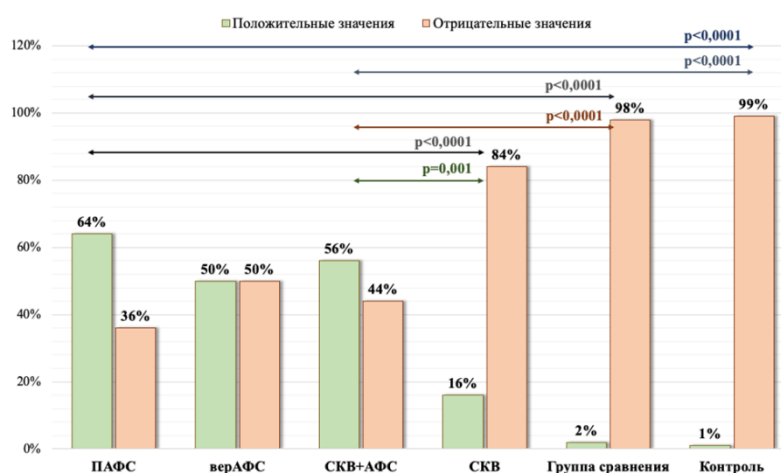
Чувствительность и специфичность IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 в зависимости от диагноза АФС, тромбозов и акушерской патологии составили 44 и 93%, 33 и 90%, 29 и 93% соответственно.

У пациентов с позитивными значениями IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 в 97% (61 из 63 пациентов) случаев выявлялись аКЛ. Отмечалась более частая ассоциация IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 с IgG аКЛ — в 95% (60 из 63 пациентов) случаев, тогда как с IgM аКЛ — в 49% (у 31 из 63 пациентов). В 100%

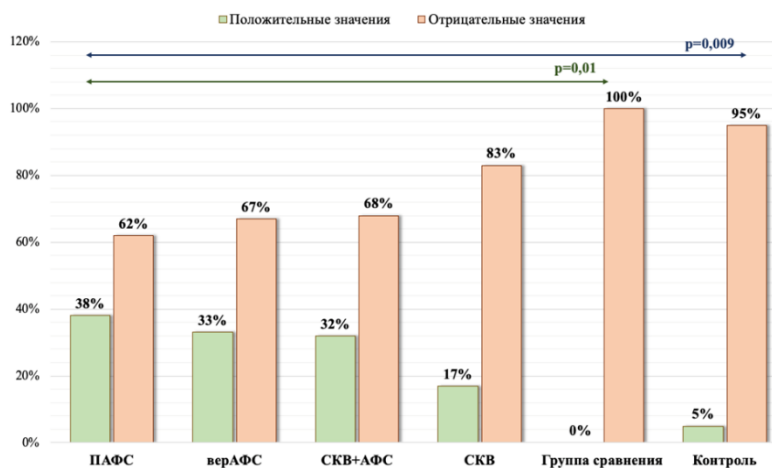
случаев позитивные уровни IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 сочеталась с анти- $\beta_2$ -ГП1, чаще с IgG анти- $\beta_2$ -ГП1 (в 96% случаев), чем с IgM анти- $\beta_2$ -ГП1. Изолированная позитивность IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 не встречалась ни у одного пациента. Корреляция IgA анти- $\beta_2$ -ГП1 была выше с IgG аКЛ и IgG анти- $\beta_2$ -ГП1 ( $R=0,67$  и  $0,68$  соответственно).

IgG аФс/Пт были выявлены у 84 (44%) из 190 пациентов, IgM аФс/Пт — у 55 (29%), а сочетание IgG аФс/Пт и IgM аФс/Пт отмечалось у 36 (19%) пациентов. Частота выявления IgG/IgM аФс/Пт в группах пациентов приведена на рисунке 7.

### А) IgG антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин



### Б) IgM антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин



**Рисунок 7.** Частота выявления IgG/IgM антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин в группах пациентов

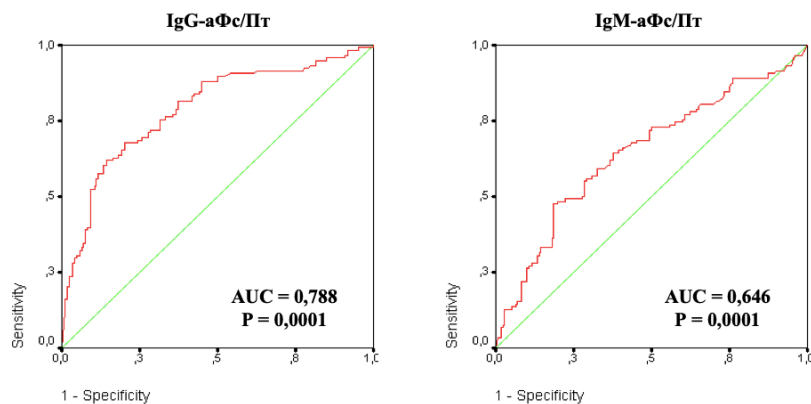
Сочетание IgG аФс/Пт и IgM аФс/Пт отмечалось у 36 (19%) из 190 пациентов. У одного (2%) из 50 пациентов, включенных в группу сравнения, выявлялись IgG аФс/Пт, при этом ни у одного из них не определялись IgM аФс/Пт. У одного (1%) из 100 лиц группы контроля определялись IgG аФс/Пт и у 5 (5%) — IgM аФс/Пт.

Медиана уровней IgG аФс/Пт у пациентов ПАФС, верАФС и СКВ+АФС и СКВ была выше по сравнению с группой контроля ( $p < 0,0001$ ), при этом уровни IgG аФс/Пт у пациентов с ПАФС и СКВ+АФС были значимо выше по сравнению с группой сравнения и пациентами с СКВ ( $p < 0,0001$ ). Значения IgM аФс/Пт были достоверно выше у пациентов с ПАФС, верАФС, СКВ+АФС по сравнению с группой сравнения и контроля ( $p < 0,0001, 0,001, 0,0003$  — для группы сравнения и  $< 0,0001, 0,001, < 0,0001$  — для группы контроля).

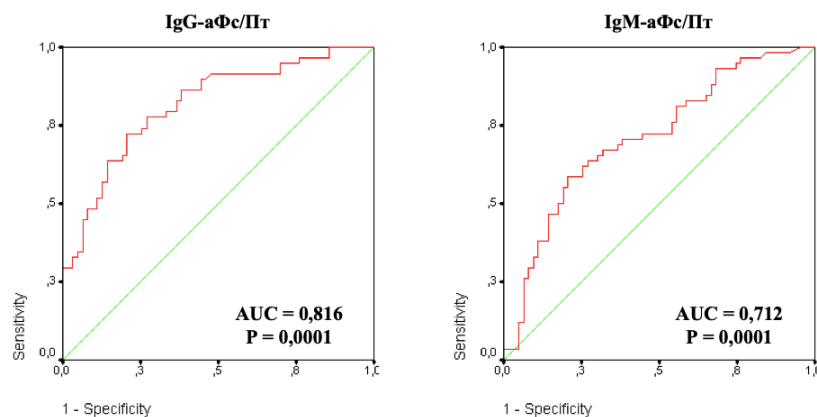
Тромбозы чаще регистрировались у пациентов с IgG аФс/Пт по сравнению с пациентами без них: у 66 (79%) из 84 пациентов с IgG аФс/Пт и у 51 (48%) из 106 пациентов без IgG аФс/Пт ( $\chi^2 = 18,38; p < 0,0001$ ). Риск развития тромбозов у пациентов с позитивными IgG аФс/Пт был в 4 раза выше (ОШ — 4,00; ДИ 2,08–7,69). Артериальные, но не венозные тромбозы, ассоциировались с позитивностью по IgG аФс/Пт ( $\chi^2 = 13,00; p = 0,0003$ ). Вероятность артериальных тромбозов была в 3,22 раза выше у пациентов с IgG аФс/Пт по сравнению с пациентами без этих антител (ОШ — 3,22; ДИ 1,69–6,25). Акушерская патология не ассоциировалась с IgG/IgM аФс/Пт.

Верификация достоверного АФС статистически значимо ассоциировалась с IgG/IgM аФс/Пт. У пациентов с IgG аФс/Пт риск развития АФС был больше чем в 5,5 раз выше по сравнению с пациентами без IgG аФс/Пт (ОШ — 5,5; ДИ 2,85–11,11).

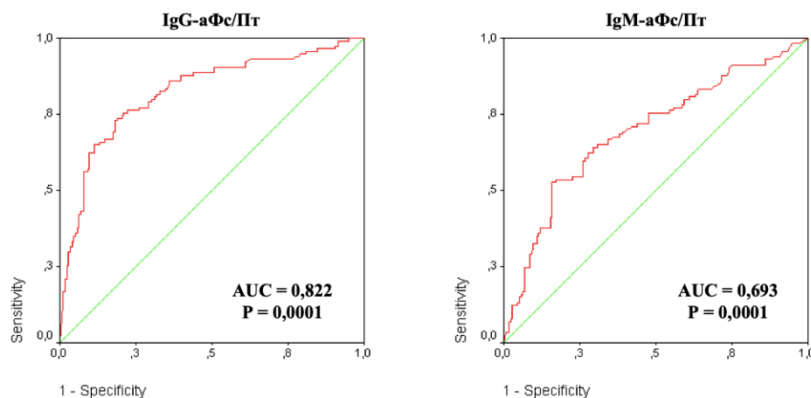
На рисунке 8А-В представлена диагностическая ценность IgG аФс/Пт и IgM аФс/Пт по ROC-кривым для тромбозов, акушерской патологии и достоверного АФС.



**А) Для тромботических осложнений**



**Б) Для акушерской патологии**



### В) Для диагноза достоверный антифосфолипидный синдром

**Рисунок 8.** ROC-анализ IgG/IgM антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин в зависимости от наличия антифосфолипидного синдрома и его основных клинических проявлений

*Примечание: Sensitivity — чувствительность, Specificity — специфичность*

Площадь под ROC-кривой для диагноза АФС при наличии IgG аФс/Пт и IgM аФс/Пт составила 0,822, для тромбозов при наличии IgG аФс/Пт — 0,788 и IgM аФс/Пт — 0,646, для акушерской патологии — 0,816 и 0,712 соответственно.

Чувствительность IgG аФс/Пт в зависимости от наличия АФС, тромбозов и акушерской патологии составила 59%, 48% и 41% соответственно, а для IgM аФс/Пт — 35%, 26%, 26%. Специфичность IgG аФс/Пт при установленном диагнозе АФС составила 92%, при наличии тромбозов — 90%, акушерской патологии — 93%; IgM аФс/Пт: 91%, 88 и 93% соответственно.

У 94% (n=79) пациентов с IgG аФс/Пт выявлялись повышенные уровни аКЛ, преобладала позитивность по IgG аКЛ (в 93% случаев). Частота сочетания IgG аФс/Пт с анти-β<sub>2</sub>-ГП1 была высокой (92%), при этом преобладала позитивность по IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 (77 пациентов). IgG аФс/Пт ассоциировались с ВА ( $\chi^2=4,57$ ; P=2,79), IgM аФс/Пт в 87% случаев ассоциировались с аКЛ, преимущественно с IgG аКЛ (73%). При позитивных значениях IgM аФс/Пт в 82% (n=45) встречались анти-β<sub>2</sub>-ГП1, IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1 — в 76%. Отмечена высокая корреляция между IgG аФс/Пт и IgG аКЛ/IgG анти-β<sub>2</sub>-ГП1, тогда как IgM аФс/Пт в большей степени коррелировали с IgM аКЛ и IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1.

Негативные значения классических антител отмечались у 37% (70 из 190) обследованных больных. У 6% (4 из 70) пациентов выявлялась изолированная позитивность по IgG аФс/Пт: у одного пациента с СКВ+АФС и у 3 — с СКВ. Акушерская патология была у двух женщин, имевших беременность на фоне заболевания, а тромбозы — у одного из этих 4 пациентов. У 7% (5 из 70) пациентов регистрировалась изолированная позитивность по IgM аФс/Пт: у одного был ПАФС, у двух — СКВ+АФС и у двух — СКВ. Обе пациентки с позитивными IgM аФс/Пт имели акушерскую патологию, а тромбозы были у 3 из этих 5 пациентов.

Таким образом, изолированная позитивность IgG/IgM аФс/Пт представляет высокую клиническую ценность для диагностики АФС при определении IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти-β<sub>2</sub>-ГП1 методом ИФА.

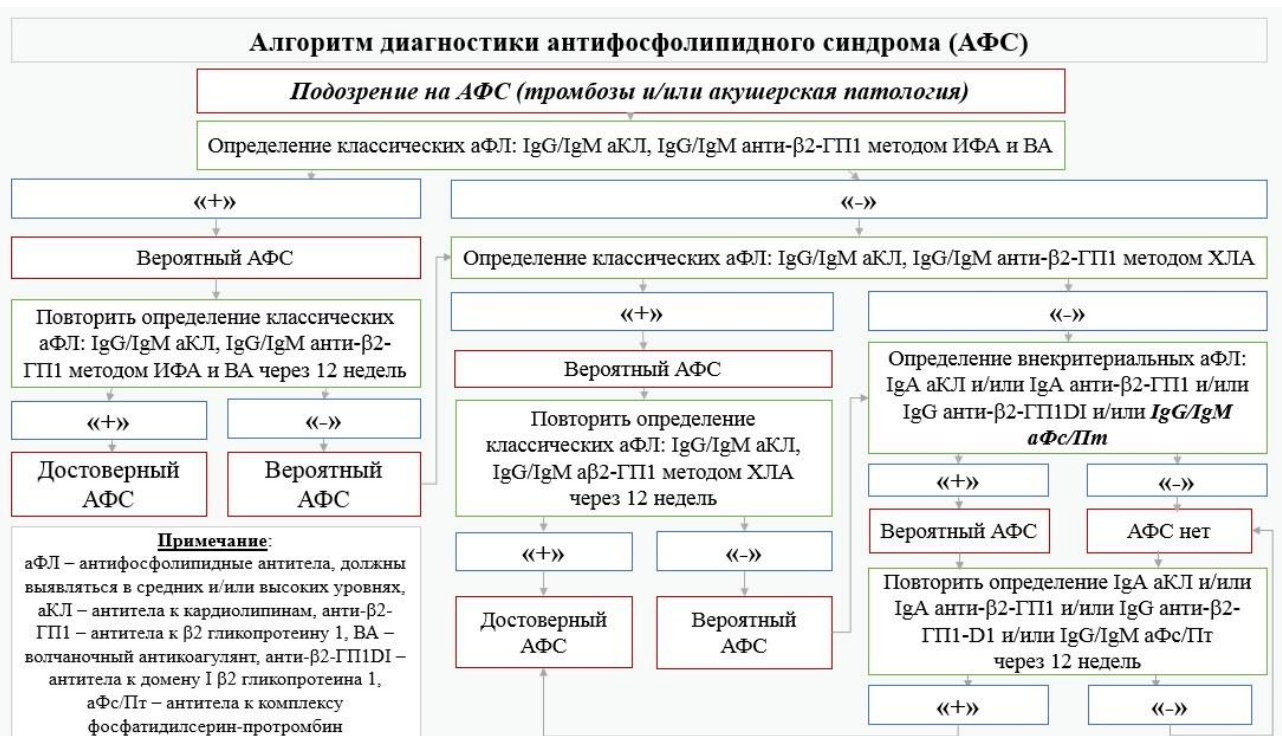
У 62 (32%) из 192 пациентов определяли исследуемые аФЛ в динамике (в среднем через 11,5±4,5 мес), у 44 из 62 пациентов был диагностирован АФС.

В динамике наблюдалось достоверное снижение уровней IgG аКЛ, IgG/IgM аФс/Пт при исследовании ИФА, и IgM аКЛ по данным ХЛА ( $p < 0,05$ ). Тромбоз за период наблюдения развился у 3 (5%) из 62 пациентов: у 1 пациентки с СКВ и АФС, у 1 пациента с ПАФС и у 1 пациента с верАФС. У пациентки с СКВ+АФС тромбоз развился на фоне снижения дозы низкомолекулярного гепарина. У пациента с ПАФС был диагностирован тромбоз верхнего полюса почки на фоне терапии прямыми оральными антикоагулянтами (ПОАК). У пациента с верАФС был обнаружен тромбоз правого поперечного синуса.

Беременность на фоне заболевания была у 5 (10%) из 48 женщин. У 1 пациентки из них с диагностированным ПАФС беременность, наступившая на фоне приема ПОАК, закончилась выкидышем на сроке 4–5 нед. У данной пациентки отмечались негативные значения классических аФЛ в ИФА, выявлялись низко-позитивные значения IgG-аКЛ, но высокие уровни IgG анти-β2-ГП1 по данным ХЛА. В динамике отмечалось повышение уровней IgG аКЛ, IgG анти-β2-ГП1 и IgG анти-β2-ГП1D1. У оставшихся 4 пациенток (3 — с АФС и 1 — с СКВ) беременность завершилась срочными родами.

Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, уровни внекритериальных аФЛ в динамике оставались повышенными и в основном ассоциировались с позитивностью классических аФЛ. Риск рецидива тромбозов и акушерской патологии был выше у пациентов с позитивными значениями аФЛ.

По результатам проведенного исследования предложен алгоритм диагностики АФС (рисунок 9).



**Рисунок 9.** Алгоритм диагностики антифосфолипидного синдрома

## ВЫВОДЫ

1. Диагностическая значимость IgG антител к кардиолипину, IgG антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1, IgG антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин в верификации антифосфолипидного синдрома при исследовании хемиллюминесцентным анализом была выше значений, указанных производителями реагентов, а IgM/IgA антител к кардиолипину, IgM антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 — ниже; уровни IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1, IgA антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1, IgM антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин соответствовали позитивным значениям, заявленным производителями реагентов.

2. Позитивные уровни IgG/IgM антител к кардиолипину и IgG/IgM антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 выявлялись достоверно чаще при исследовании хемиллюминесцентным анализом по сравнению с иммуноферментным ( $\chi^2=5,11$ ,  $p=0,02/\chi^2=7,74$ ,  $p=0,005$  и  $\chi^2=5,21$ ;  $p=0,02/\chi^2=7,91$ ,  $p=0,004$  соответственно). Показатель каппа Коэна соответствовал хорошей степени согласованности результатов наших исследований.

3. Частота встречаемости и медиана уровней IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 была выше у пациентов с антифосфолипидным синдромом (первичным и вторичным) по сравнению с пациентами с системной красной волчанкой, с группой сравнения и контроля ( $p<0,05$ ); IgG антитела к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 ассоциировались с достоверным антифосфолипидным синдромом и его клиническими проявлениям (тромбозами и акушерской патологией) ( $\chi^2=30,45$ ,  $p<0,0001$ ;  $\chi^2=9,69$ ,  $p=0,001$ ;  $\chi^2=4,19$ ,  $p=0,04$  (с поправкой по Йейтсу по акушерской патологии:  $\chi^2=3,1$ ,  $p=0,07$ ) соответственно); изолированная позитивность IgG антител к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 выявлялась редко (в 2% случаев) и не ассоциировалась с проявлениями АФС.

4. Специфичность IgA антител к кардиолипину и IgA антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 для антифосфолипидного синдрома составила 95 и 93% соответственно, чувствительность — 54 и 44% соответственно, изолированной позитивности IgA антифосфолипидных антител не отмечалось. Выявлена достоверная взаимосвязь между тромбоцитопенией и IgA антителами к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 ( $\chi^2=3,9$ ,  $p=0,048$ ).

5. Медиана уровней IgG антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин была достоверно выше у пациентов с антифосфолипидным синдромом по сравнению с пациентами без него и группой контроля ( $p<0,0001$ ). Тромбоз ассоциировался с позитивностью IgG антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин — риск развития тромбоза у пациентов с позитивными IgG антителами к комплексу фосфатидилсерин-протромбин был в 4 раза выше. Артериальные тромбозы были чаще у пациентов с IgG антителами к комплексу фосфатидилсерин-протромбин ( $\chi^2=4,85$ ;  $p=0,006$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Высокая частота позитивности классических антифосфолипидных антител по данным хемиллюминесцентного анализа свидетельствует о необходимости их исследования у пациентов с



тромбозами и акушерской патологией при их негативных значениях при исследовании иммуноферментным анализом.

2. Для оценки рисков развития артериальных тромбозов у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой необходимо, помимо классических серологических маркеров, определять IgG антитела к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1, IgG антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин.

3. У пациентов с сосудистыми осложнениями и подозрении на антифосфолипидный синдром, при отрицательных значениях классических серологических маркеров, следует определять внекритериальные антифосфолипидные антитела: IgG антитела к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1, IgA антитела к кардиолипину и  $\beta_2$ -гликопротеину 1, IgG/IgM антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин. Наиболее значимую ценность имеет определение IgG/IgM антител к комплексу фосфатидилсерин-протромбин.

4. Необходимость определения антифосфолипидных антител в динамике связана с их стойкой позитивностью, являющейся фактором риска сосудистых осложнений и требующей контроля эффективности и переносимости антикоагулянтной терапии.

**По теме диссертации автором опубликованы следующие работы:  
статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах  
и изданиях, указанных в перечне ВАК при Минобрнауки России**

1. Оценка активности и повреждения органов при антифосфолипидном синдроме / Ф.А. Чельдиева, Т.М. Решетняк, А.М. Лиля // Современная ревматология. — 2021. — Т. 15. — № 4. — С.101–106.

2. Антифосфолипидные антитела и их клиническое значение / Ф.А. Чельдиева, Т.М. Решетняк, А.М. Лиля // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — № 2. — С. 4–15.

3. Антифосфолипидный синдром: диагностика, механизм развития, вопросы терапии / Т.М. Решетняк [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2020. — № 4. — С. 4–21.

4. Нарушения гемостаза, тромбозы, антифосфолипидные антитела у пациентов с COVID-19 / Т.М. Решетняк, Ф.А. Чельдиева, А.М. Лиля, Е.Л. Насонов // Consilium Medicum. — 2021. — Т. 23. — № 1. — С. 35–42.

5. Клиническое значение антител к комплексу фосфатидилсерин/протромбин / Т.М. Решетняк, Ф.А. Чельдиева, М.В. Черкасова, А.М. Лиля // Современная ревматология. — 2022. — Т. 16. — № 2. — С. 81–86.

6. Классификационные критерии антифосфолипидного синдрома и его некритериальные проявления / Т.М. Решетняк, Ф.А. Чельдиева // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — 4. — С. 4–12.

7. Антифосфолипидные антитела и уровни компонентов комплемента у пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом / Ф.А. Чельдиева,

А.А. Шумилова, А.М. Ли́ла, Т.М. Решетняк // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — № 1. — С. 81–89.

8. «Экстракритериальные» антифосфолипидные антитела у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой (предварительные данные) / Ф.А. Чельдиева, Т.М. Решетняк, М.В. Черкасова, А.М. Ли́ла // Современная ревматология. — 2021. — Т.15. — № 5. — С. 18–25.

9. Исследование антифосфолипидных антител иммуноферментным и хемилюминесцентными методами у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой (предварительные данные) / Ф.А. Чельдиева, Т.М. Решетняк, М.В. Черкасова, А.М. Ли́ла // Клиническая лабораторная диагностика. — 2021. — Т. 66. — № 9. — С. 546–551.

10. Антитела к комплексу фосфатидилсерин/протромбин у пациентов с антифосфолипидным синдромом / Т.М. Решетняк [и др.] // Терапевтический архив. — 2022. — Т. 94. — № 5. — С. 628–634.

11. Антитела к домену I  $\beta_2$ -гликопротеина 1 у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой / Ф.А. Чельдиева [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2022. — Т. 60. — № 3. — С. 353–359.

12. Тромбоэмболические осложнения при антифосфолипидном синдроме и анкилозирующем спондилите (Два клинических наблюдения из практики) / К.С. Нурбаева [и др.] // Современная ревматология. — 2021. — Т. 15. — № 1. — С. 98–104.

13. Аваскулярный некроз при системной красной волчанке: тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава при мутации в гене V (Leiden) фактора свертывания крови (клиническое наблюдение) / Ф.А. Чельдиева [и др.] // Современная ревматология. — 2021. — Т. 15. — № 2. — С. 69–76.

14. Антифосфолипидный синдром и системная красная волчанка: какое заболевание является причиной повреждения органов? / Ф.А. Чельдиева [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2020. — Т. 58. — № 2. — С. 225–231.

15. Трудности ведения больных системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом в сочетании с меланомой и инфильтративным туберкулезом (клинические наблюдения) / А.А. Шумилова, Т.М. Решетняк, Ф.А. Чельдиева, А.М. Ли́ла // Современная ревматология. — 2021. — Т. 15. — № 4. — С. 87–93.