

«Экстракритериальные» антифосфолипидные антитела у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой (предварительные данные)

Чельдиева Ф.А.^{1,2}, Решетняк Т.М.^{1,2}, Черкасова М.В.¹, Лиля А.М.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;

²кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

¹Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ²Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Роль антифосфолипидных антител (аФЛ), не входящих в классификационные критерии, при антифосфолипидном синдроме (АФС) и системной красной волчанке (СКВ) изучена недостаточно.

Цель исследования — определение частоты выявления IgG-антител к домену 1 β₂-гликопротеина 1 (IgG-аβ₂ГП₁-D₁), IgA-антител к кардиолипину (аКЛ) и IgA-антител к β₂-гликопротеину 1 (IgA-аβ₂ГП₁) у пациентов с первичным АФС и АФС в сочетании с СКВ.

Пациенты и методы. В исследование включено 63 пациента, у которых выявляли IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM-аβ₂ГП₁ методом иммуноферментного анализа (ИФА) и IgG/IgM/IgA-аКЛ, IgG/IgM/IgA-аβ₂ГП₁ и IgG-аβ₂ГП₁-D₁ методом хемилюминесцентного анализа (ХМА).

Результаты и обсуждение. Частота обнаружения IgG-аβ₂ГП₁-D₁ составила 76%, IgA-аКЛ — 56%, IgA-аβ₂ГП₁ — 48%. Изолированной позитивности по IgA-аКЛ, IgA-аβ₂ГП₁, IgG-аβ₂ГП₁-D₁ не наблюдалось. Наличие IgA-аКЛ, IgA-аβ₂ГП₁, IgG-аβ₂ГП₁-D₁ ассоциировалось с высокой позитивностью по IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM-аβ₂ГП₁. Отмечалась статистически значимая связь между IgA-аКЛ/IgA-аβ₂ГП₁ и стандартным профилем аФЛ, а также IgG-аβ₂ГП₁-D₁ и IgG-аβ₂ГП₁.

Заключение. Обнаружена высокая частота выявления IgG-аβ₂ГП₁-D₁, IgA-аКЛ, IgA-аβ₂ГП₁ у пациентов с АФС. Установлена статистически значимая связь между IgA-аКЛ/IgA-аβ₂ГП₁ и стандартным профилем аФЛ, а также IgG-аβ₂ГП₁-D₁ с IgG-аКЛ и IgG-аβ₂ГП₁.

Ключевые слова: антифосфолипидные антитела; антифосфолипидный синдром; системная красная волчанка; антитела к домену β₂-гликопротеина 1; антитела к β₂-гликопротеину 1; антитела к кардиолипину.

Контакты: Татьяна Магомедалиевна Решетняк; t_reshetnyak@yahoo.com

Для ссылки: Чельдиева ФА, Решетняк ТМ, Черкасова МВ, Лиля АМ. «Экстракритериальные» антифосфолипидные антитела у пациентов с антифосфолипидным синдромом и системной красной волчанкой (предварительные данные). Современная ревматология. 2021;15(5):18–25. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-18-25

Extra criterial antiphospholipid antibodies in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus (preliminary data)

Cheldieva F.A.^{1,2}, Reshetnyak T.M.^{1,2}, Cherkasova M.V.¹, Lila A.M.^{1,2}

¹V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; ²Department of Rheumatology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow

¹34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia; ²2/1, Barrikadnaya Street, Build. 1, Moscow 125993, Russia

The role of antiphospholipid antibodies (aPL), which are not included in the classification criteria, in antiphospholipid syndrome (APS) and systemic lupus erythematosus (SLE) is not well understood.

Objective: to determine the frequency of detection of IgG antibodies to domain 1 of β₂-glycoprotein 1 (IgG-аβ₂GP₁-D₁), IgA antibodies to cardiolipin (aCL) and IgA antibodies to β₂-glycoprotein 1 (IgA-аβ₂GP₁) in patients with primary APS and APS in combination with SLE.

Patients and methods. The study included 63 patients in whom IgG/IgM-aCL and IgG/IgM-аβ₂GP₁ were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and IgG/IgM/IgA-aCL, IgG/IgM/IgA-аβ₂GP₁ and IgG-аβ₂GP₁-D₁ by chemiluminescence analysis (CLA).

Results and discussion. The detection rate of IgG-аβ₂GP₁-D₁ was 76%, IgA-aCL — 56%, IgA-аβ₂GP₁ — 48%. Isolated positivity for IgA-aCL, IgA-аβ₂GP₁, IgG-аβ₂GP₁-D₁ was not observed. The presence of IgA-aCL, IgA-аβ₂GP₁, IgG-аβ₂GP₁-D₁ was associated with high positivity for IgG/IgM-aCL and IgG/IgM-аβ₂GP₁. There was a statistically significant relationship between IgA-aCL/IgA-аβ₂GP₁ and the standard aPL profile, as well as IgG-аβ₂GP₁-D₁, IgG-aCL and IgG-аβ₂GP₁.

Conclusion. A high detection rate of IgG-аβ₂GP₁-D₁, IgA-aCL, IgA-аβ₂GP₁ was found in patients with APS. A statistically significant relationship was found between IgA-aCL/IgA-аβ₂GP₁ and the standard aPL profile, as well as IgG-аβ₂GP₁-D₁ with IgG-aCL and IgG-аβ₂GP₁.

Key words: antiphospholipid antibodies; antiphospholipid syndrome; systemic lupus erythematosus; antibodies to domain 1 of β_2 -glycoprotein 1; antibodies to β_2 -glycoprotein 1; antibodies to cardiolipin.

Contact: Tatyana Magomedalieвна Reshetnyak; t_reshetnyak@yahoo.com

For reference: Cheldieva FA, Reshetnyak TM, Cherkasova MV, Lila AM. Extra criterial antiphospholipid antibodies in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus (preliminary data). *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2021;15(5):18–25. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-18-25

Антифосфолипидные антитела (аФЛ) – семейство различных аутоантител, которые взаимодействуют с фосфолипидными детерминантами клеточных мембран, фосфолипидно-белковыми комплексами, фосфолипид-связывающими белками, белками свертывающей системы крови [1]. Наличие этих антител ассоциировано с развитием антифосфолипидного синдрома (АФС). К клиническим проявлениям АФС относят тромбозы сосудов любой локализации и калибра и/или акушерскую патологию (синдром потери плода) [1–3]. Серологическими маркерами АФС являются только три вида аФЛ, которые обнаруживаются вместе или по отдельности: IgG- и IgM-антитела к кардиолипину (аКЛ), IgG- и IgM-антитела к β_2 -гликопротеину 1 (β_2 ГП₁) и волчаночный антикоагулянт (ВА) [2].

Помимо классических, имеются аутоантитела, которые также участвуют в развитии клинических проявлений АФС. Это так называемые экстракритериальные аФЛ, роль которых продолжает обсуждаться. Научным комитетом по стандартизации Международного общества по изучению тромбоза и гемостаза были разработаны рекомендации по определению аФЛ для твердофазных тест-систем, обеспечивающих сорбцию антигена и его большую плот-

ность на твердофазном носителе, что способствовало снижению расхождений данных межлабораторных исследований [4, 5]. Несмотря на это, разница в результатах сохраняется при определении как классических антител, так и других видов аФЛ, а также различных классов иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG).

Цель исследования – определение частоты выявления IgG-антител к домену 1 β_2 -гликопротеина 1 (IgG- β_2 ГП₁-D₁), IgA-аКЛ и IgA- β_2 ГП₁ у пациентов с первичным АФС (пАФС) и АФС в сочетании с системной красной волчанкой (СКВ).

Пациенты и методы. В исследование включено 63 пациента с АФС, в том числе 22 с пАФС и 41 с АФС в сочетании с СКВ. Характеристика больных приведена в табл. 1.

У всех пациентов определяли IgG/IgM-аКЛ, IgG/IgM- β_2 ГП₁ методом иммуноферментного анализа (ИФА) на автоматическом анализаторе для лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний Alegria с набором реагентов для выявления антител (Orgentec Diagnostika GmbH, Германия). Фосфолипид-связывающую активность на 1 мкг/мл рассчитывали для IgG-аКЛ в единицах GPL (IgG phospholipid binding units, GPL Ед/мл), а для IgM-аКЛ – в MPL (IgM phospholipid binding units, MPL Ед/мл), уровень IgG/IgM- β_2 ГП₁ – в Ед/мл. Значения позитивности для IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM- β_2 ГП₁ приведены в табл. 2.

Исследование IgG/IgM/IgA-аКЛ, IgG/IgM/IgA- β_2 ГП₁, IgG- β_2 ГП₁-D₁ было проведено методом хемилюминесцентного анализа (ХМА) на автоматизированном хемилюминесцентном анализаторе BioFlash (Biokit S.A., Испания). Для определения IgG/IgM- β_2 ГП₁ и IgG/IgM-аКЛ использовали набор реагентов AcuStar (Испания), IgA-аКЛ, IgA- β_2 ГП₁ и IgG- β_2 ГП₁-D₁ – QUANTA Flash® (США). Уровень всех антител, определяемых методом ХМА, измеряли в относительных световых единицах (RLU). Позитивными, согласно инструкции фирмы-изготовителя, считали уровни 20 RLU для IgG/IgM/IgA-аКЛ и IgG/IgM/IgA- β_2 ГП₁, 19 RLU для IgG- β_2 ГП₁-D₁.

У 12 пациентов, не получавших антикоагулянты, определяли ВА на автоматическом коагулометре (Siemens Healthcare, Германия) с использованием скринингового (ВА1) и подтверждающего (ВА2) тестов.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica 12, включая обще-

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование
Table 1. Characteristics of patients included in the study

Параметр	Значение
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	38,0 [33,0; 43,0]
Пол, n (%): женщины/мужчины	42 (65)/21 (35)
Продолжительность АФС, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	10,0 [3,0; 17,0]
Продолжительность СКВ, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	12 [5,0; 21,9]
Тромбоз в анамнезе, n (%): венозный артериальный сочетанный	16 (33) 17 (34) 16 (33)
Акушерская патология (n=22), n (%)	18 (82)
Преднизолон, n (%)	35 (56)
Антикоагулянты, n (%): НМГ варфарин ПОАК	12 (19) 14 (22) 21 (34)
Отсутствие антикоагулянтной терапии	16 (25)
Низкие дозы АСК, n (%)	24 (38)
ГКХ, n (%)	49 (78)

Примечание. НМГ – низкомолекулярные гепарины; ПОАК – пероральные антикоагулянты; АСК – ацетилсалициловая кислота; ГКХ – гидроксихлорохин. Число пациенток с акушерской патологией рассчитано, исходя из числа женщин, имевших беременность на фоне заболевания.

Таблица 2. Границы степеней позитивности при оценке результатов определения аКЛ и аβ₂ГП₁ методом ИФА [10]
Table 2. Limits of the degree of positivity of aCL and aβ₂GP₁ assessments by ELISA [10]

Уровень	аКЛ		аβ ₂ ГП ₁	
	IgG-аКЛ, GPL	IgM-аКЛ, MPL	IgG-аβ ₂ ГП ₁ , Ед/мл	IgM-аβ ₂ ГП ₁ , Ед/мл
Высокопозитивный	≥65,0	≥45,0	≥60,0	≥60,0
Среднепозитивный	35,0–65,0	35,0–45,0	30,0–60,0	30,0–60,0
Низкопозитивный	25,0–35,0	24,7–35,0	15,3–30,0	17,0–30,0
Негативный	<25,0	<24,7	<15,3	<17,0

Таблица 3. Частота выявления IgA/IgM/IgG-аКЛ и IgA/IgM/IgG-аβ₂ГП₁ у пациентов с АФС (n=63)
Table 3. Frequency of of IgA/IgM/IgG-aCL and IgA/IgM/IgG-aβ₂GP₁ detection in patients with APS (n=63)

Показатель	ИФА		ХМА	
	аКЛ	аβ ₂ ГП ₁	аКЛ	аβ ₂ ГП ₁
IgA:				
n (%)	Нд	Нд	35 (56)	30 (48)
Ме [25-й; 75-й перцентили]*	Нд	Нд	352,0 [29,5; 110,8]	63,0 [30,9; 132,8]
IgM:				
n (%)	18 (29)	17 (27)	19 (30)	16 (25)
Ме [25-й; 75-й перцентили]*	67,1 [49,8; 80,0]	76,1 [46,9; 100,0]	448,3 [31,1; 243,6]	162,2 [70,9; 205,7]
IgG:				
n (%)	44 (70)	50 (79)	55 (87)	59 (94)
Ме [25-й; 75-й перцентили]*	92,0 [64,6; 120,0]	63,7 [27,2; 98,8]	1571,0 [183,4; 2024,0]	5831,9 [420,4; 6100,0]

Примечание. Нд – нет данных. * – показатели рассчитаны на основании положительных значений антител.

принятые методы параметрического и непараметрического анализа. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Ме [25-й; 75-й перцентили]). Рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена (r). Различия считали значимыми при p<0,05

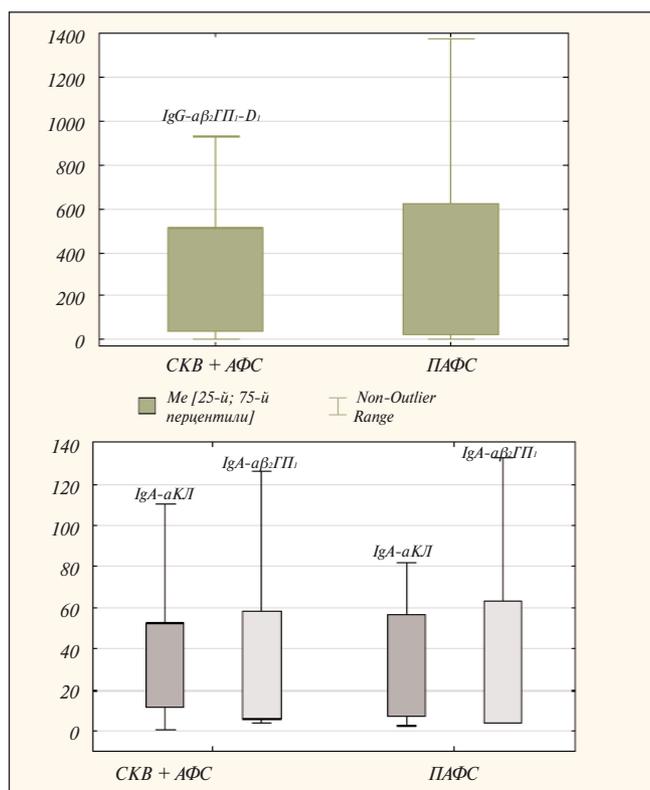
Результаты. Положительный уровень IgG-аβ₂ГП₁-D₁, медиана которого составила 356,0 [109,3; 719,2], выявлен у 48 (76%) больных, а IgA-аКЛ – у 35 (56%), чуть менее чем у половины пациентов (48%) имелись IgA-аβ₂ГП₁ (табл. 3). IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM-аβ₂ГП₁ обнаружены у 44 (70%)/18 (29%) и у 50 (79%)/17 (27%) пациентов методом ИФА, а также у 55 (87%)/19 (30%) и 59 (94%)/16 (25%) при ХМА (см. табл. 3). У пациентов с АФС IgA-аКЛ и IgA-аβ₂ГП₁ встречались соответственно в 1,84 и 1,87 раза чаще по сравнению с IgM-аКЛ и IgM-аβ₂ГП₁. ВА выявлен у 9 (75%) из 12 пациентов, у которых проводилось исследование.

У пациентов с ПАФС и СКВ + АФС средние уровни IgG-аβ₂ГП₁-D₁, IgA-аКЛ, IgA-аβ₂ГП₁, выявленные при ХМА, были сопоставимы (см. рисунок).

Положительные значения IgG-аβ₂ГП₁-D₁ в сочетании с IgG-аКЛ и с IgM-аКЛ при ИФА выявлены у 38 (79%) и 15 (31%) пациентов соответственно (табл. 4). При ХМА сочетание IgG-аβ₂ГП₁-D₁ с IgG-аКЛ, IgM-аКЛ, IgG-аβ₂ГП₁ и IgM-аβ₂ГП₁ обнаружено у 46 (96%), 17 (35%), 47 (98%) и 14 (29%) больных соответственно. В большинстве случаев IgG-аβ₂ГП₁-D₁ определялись у пациентов с высокопозитивным уровнем аКЛ и аβ₂ГП₁ (см. табл. 4).

Наличие IgG-аβ₂ГП₁-D₁ в крови ассоциировалось с позитивностью по IgG-аβ₂ГП₁ при применении обоих методов исследования (см. табл. 4).

Положительные значения одновременно трех иммуноглобулинов: IgG-аβ₂ГП₁-D₁, IgA-аβ₂ГП₁ и IgA-аКЛ имелись у 29 (60%) пациентов, сочетание IgG-аβ₂ГП₁-D₁ и IgA-аКЛ –



Средние уровни IgG-аβ₂ГП₁-D₁, IgA-аКЛ, IgA-аβ₂ГП₁, выявленные методом ХМА, у больных ПАФС и СКВ + АФС
Average levels of IgG-aβ₂GP₁-D₁, IgA-aKL, IgA-aβ₂GP₁, detected by CLA, in patients with primary APS and SLE + APS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Таблица 4. Сочетание IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$, IgA-аКЛ, IgA-а β :ГП $_1$ с IgG/IgM-аКЛ, IgG/IgM-а β :ГП $_1$, обнаруженное методами ИФА и ХМА, n (%)
 Table 4. Combination of IgG-а β :GP $_1$ -D $_1$, IgA-aCL, IgA-а β :GP $_1$ with IgG/IgM-aKL, IgG/IgM-а β :GP $_1$ detected by ELISA and CLA, n (%)

Показатель	Метод	IgG-аКЛ	IgM-аКЛ	IgG-а β :ГП $_1$	IgM-а β :ГП $_1$
IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$ (n=48)	ИФА:				
	общее количество	38 (79)	15 (31)	42 (88)	13 (27)
	в/п	30 (79)	13 (87)	29 (69)	8 (62)
	с/п	6 (16)	1 (6,5)	8 (19)	2 (15)
	н/п	2 (5)	1 (6,5)	5 (12)	3 (23)
	ХМА	46 (96)	17 (35)	47 (98)	14 (29)
IgA-аКЛ (n=35)	ИФА:				
	общее количество	30 (86)	13 (37)	32 (91)	13 (37)
	в/п	22 (73)	11 (85)	24 (75)	9 (70)
	с/п	6 (20)	1 (7,5)	5 (16)	2 (15)
	н/п	2 (7)	1 (7,5)	3 (9)	2 (15)
	ХМА	34 (97)	16 (46)	34 (97)	13 (37)
IgA-а β :ГП $_1$ (n=30)	ИФА:				
	общее количество	27 (90)	10 (33)	28 (93)	11 (37)
	в/п	20 (74)	8 (80)	21 (75)	7 (64)
	с/п	5 (19)	1 (10)	4 (14)	2 (18)
	н/п	2 (7)	1 (10)	3 (11)	2 (18)
	ХМА	30 (100)	14 (47)	30 (100)	11 (37)

Примечание. В/п – высокопозитивный уровень; с/п – среднепозитивный; н/п – низкопозитивный. Процент рассчитан от числа пациентов с положительным результатом.

у 4 (8%), тогда как IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$ с IgA-а β :ГП $_1$ ни в одном случае не выявлено. У 15 (31%) больных, позитивных по IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$, антител к IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП $_1$ не обнаружено. Изолированная позитивность (позитивность по IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$ при отрицательных значениях аФЛ стандартного профиля) не отмечена.

У 8 из 9 ВА-позитивных пациентов при ИФА была определена тройная позитивность по аФЛ, из них у 7 (87%) имелись положительные значения IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$.

По данным ХМА, 35 (56%) из 63 пациентов были позитивны по IgA-аКЛ, из них у 30 (86%) при ИФА выявлены IgG-аКЛ. Большинство (73%) больных с IgA-аКЛ были высокопозитивны по IgG-аКЛ (см. табл. 4). Также у пациентов с IgA-аКЛ в 37% случаев определялись IgM-аКЛ, при этом у 85% больных они были высокопозитивными (см. табл. 4). У 34 (97%) позитивных по IgA-аКЛ пациентов при ХМА обнаружены IgG-аКЛ, а у 16 (46%) – IgM-аКЛ.

В большинстве случаев наличие IgA-аКЛ, выявленное методами ИФА и ХМА, совпадало с позитивностью (91 и 97% соответственно) и высокими уровнями IgG-а β :ГП $_1$ (см. табл. 4). У пациентов с IgA-аКЛ при использовании обоих методов с одинаковой частотой (37%) обнаруживались IgM-а β :ГП $_1$. Позитивные уровни IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП $_1$ имелись у 30 больных. Тройная позитивность (по IgA-аКЛ, IgG-аКЛ и IgM-аКЛ) отмечалась у 15 (43%) пациентов; двойная (по IgA-аКЛ и IgG-аКЛ) – у 19 (54%) и по IgA-аКЛ и IgM-аКЛ – у 1 (3%). Изолированной позитивности по IgA-аКЛ не зафиксировано.

При ХМА у 30 (48%) из 63 больных обнаружены IgA-а β :ГП $_1$, которые во всех случаях сочетались как с IgG-аКЛ, так и с IgG-а β :ГП $_1$ (см. табл. 4). Помимо этого, в 47 и 37% случаев имелись IgM-аКЛ и IgM-а β :ГП $_1$ соответственно.

Из 30 пациентов, позитивных по IgA-а β :ГП $_1$, у 27 (90%) при ИФА определены IgG-аКЛ, у 10 (33%) – IgM-аКЛ, у 28 (93%) – IgG-а β :ГП $_1$ и у 11 (37%) – IgM-а β :ГП $_1$. Тройная позитивность (по IgA-а β :ГП $_1$, IgG-а β :ГП $_1$ и IgM-а β :ГП $_1$) отме-

чалась у 19 (63%) больных; двойная (по IgA-а β :ГП $_1$ и IgG-а β :ГП $_1$) – у 11 (37%). Сочетания IgA-а β :ГП $_1$ с IgM-а β :ГП $_1$ не зарегистрировано. Пациентов с изолированным повышением уровня только IgA-а β :ГП $_1$ не выявлено.

Обнаружена различной степени выраженности связь между уровнем IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$ и другими аФЛ (табл. 5). Обращает на себя внимание наличие умеренной ($r > 0,6$, $p < 0,0001$) и сильной ($r > 0,9$, $p < 0,0001$) связи между антителами к домену I и IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП $_1$ соответственно.

Выявлена умеренная положительная связь между уровнями IgA-аКЛ и IgG-аКЛ, а также IgG-а β :ГП $_1$, определяемыми методами ИФА и ХМА. Обнаружена статистически значимая положительная связь между уровнями IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП $_1$ (см. табл. 5).

Имелась умеренная связь между уровнями IgA-а β :ГП $_1$ и IgG-а β :ГП $_1$ -D $_1$, а также IgG-аКЛ и IgG-а β :ГП $_1$, выявленными обоими методами, и IgM-а β :ГП $_1$, который определяли с помощью ХМА (см. табл. 5).

Обсуждение. Патогенетически значимые аФЛ взаимодействуют со скрытым эпитопом белков кофакторов, наиболее изученным из которых является естественный антикоагулянт β_2 ГП $_1$. Впервые β_2 ГП $_1$ был описан в 1961 г. [6]. Он представляет собой одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 43 кДа. В плазме человека β_2 ГП $_1$ обнаруживается в концентрациях 50–400 мкг/мл, синтезируется эндотелиальными клетками, гепатоцитами и клетками трофобласта [7]. В конце 90-х годов многие исследования были направлены на выявление эпитопов β_2 ГП $_1$ для связывания антител и определение их клинической роли [8]. В результате был идентифицирован домен I как «иммунодоминантный эпитоп» [8, 9] в β_2 ГП $_1$, что соответствовало данным F. Fischetti и соавт. [10] и B. de Laat и соавт. [11], подтверждающим роль а β :ГП $_1$ -D $_1$ в развитии клинических проявлений АФС.

По данным С.В. Chighizola и соавт. [12], у пациентов с высоким риском рецидива тромбоза (с тройной позитивностью) обнаруживались значительно более высокие значения

Таблица 5. Связь между IgG-а β :ГП₁-D₁, IgA-аКЛ, IgA-а β :ГП₁ и другими аФЛ
Table 5. Relationship between IgG-а β :GP₁-D₁, IgA-aCL, IgA-а β :GP₁ and other aPL

Показатель	IgG-аКЛ		IgM-аКЛ		IgA-аКЛ		IgG-а β :ГП ₁		IgM-а β :ГП ₁		IgA-а β :ГП ₁		IgG-а β :ГП ₁ -D ₁	
	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА	ИФА	ХМА
IgG-а β :ГП ₁ -D ₁ :														
г	0,51	0,53	0,24	0,32	Нд	0,60	0,47	0,54	0,22	0,24	Нд	0,61	Нп	Нп
р	0,0001	0,0001	0,05	0,009		0,0001	0,0001	0,0001	0,07	0,04		0,0001		
IgA-аКЛ:														
г	0,40	0,41	0,21	0,38	Нп	Нп	0,33	0,42	0,19	0,39	Нд	0,96	Нд	0,60
р	0,001	0,0008	0,09	0,002			0,007	0,0005	0,1	0,001		0,0001		0,0001
IgA-а β :ГП ₁ :														
г	0,39	0,39	0,10	0,30	Нд	0,96	0,34	0,42	0,08	0,33	Нп	Нп	Нд	0,61
р	0,001	0,001	0,39	0,016		0,0001	0,005	0,0006	0,52	0,007				0,0001

Примечание. Нд – нет данных; нп – не применимо.

циркулирующих а β :ГП₁-D₁ по сравнению с пациентами, имевшими более низкий уровень риска (позитивными по одному или двум аФЛ).

Предположение о возможном влиянии методов исследования на уровень аФЛ способствовало использованию различных способов их оценки. В 2016 г. М. Mahler и соавт. [6] проанализировали уровень аФЛ методом ХМА у 106 пациентов с пАФС и вторичным АФС, а также у 272 лиц контрольной группы. Было показано, что встречаемость и уровень IgG-а β :ГП₁-D₁ выше у пациентов с АФС и тромбозами, чем у пациентов с АФС без тромбозов. ХМА хорошо зарекомендовал себя в качестве метода определения IgG-а β :ГП₁-D₁ с целью оценки риска возникновения тромботических событий у пациентов с АФС. L. Meneghel и соавт. [13] отмечают, что а β :ГП₁-D₁ можно считать перспективным биомаркером риска развития тромботических осложнений АФС, особенно у пациентов с тройной позитивностью. Авторы выявили статистически значимую связь между уровнями а β :ГП₁-D₁ и IgG-аКЛ и IgG-а β :ГП₁ ($p < 0,001$ во всех случаях). Полученные нами данные о взаимосвязи а β :ГП₁-D₁ с классическими аФЛ (IgG-аКЛ и IgG-а β :ГП₁) согласуются с результатами ранее опубликованных работ. Для обоих методов исследования была отмечена связь между а β :ГП₁-D₁ и IgG-аКЛ, а также IgG-а β :ГП₁, тогда как корреляция с IgM аФЛ была низкой.

При использовании любого метода исследования стратификация уровней позитивности важна для достоверности диагноза. По данным фирмы-изготовителя, при проведении ХМА на аппарате QUANTA Flash® значения > 19 RLU считаются позитивными. A.S. de Craemer и соавт. [14] исследовали уровень а β :ГП₁-D₁ у 123 пациентов с аутоиммунными заболеваниями, у 82 без аутоиммунной патологии и у 120 здоровых лиц, тест признавали позитивным при показателях > 20 RLU. У пациентов с АФС чувствительность а β :ГП₁-D₁ составила 53,5%, а специфичность – 98,8%. По мнению авторов, а β :ГП₁-D₁ не повышают диагностическую ценность исследования по сравнению со стандартной панелью аФЛ и менее чувствительны по сравнению с IgG-а β :ГП₁ (чувствительность 56,4%). Положительные значения а β :ГП₁-D₁ чаще встречались у пациентов с тройной позитивностью по аФЛ. Собственные предварительные данные также свидетельствуют о том, что у большинства пациентов с IgG-а β :ГП₁-D₁ (у которых было возможно определение трех маркеров АФС) имелась тройная позитивность.

Повышенный клинический интерес вызывают IgA-аФЛ, которые не включены в классификационные критерии АФС и исследованию которых не уделяется должного внимания. По данным M.L. Bertolaccini и G. Sanna [15], IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ обнаруживаются в качестве доминирующего изотипа у афрокарибцев и афроамериканцев, однако они присутствовали в низких или средних титрах и иногда являлись преходящими антителами. Кроме того, их наличие в этих этнических группах не было связано с клиническими проявлениями АФС [15]. В нашем исследовании IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ определяли только у пациентов с АФС. Уровни позитивности этих антител оценивали в соответствии с указаниями фирмы-производителя. Необходимо отметить, что эти значения могут отличаться в зависимости от этнической принадлежности пациента, поэтому необходима разработка норм и уровней позитивности (выше 99-го перцентиля) для IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ в российской популяции.

В систематическом обзоре H. Meijide и соавт. [16] проанализирована 31 публикация. Все исследования были разделены на группы: работы, показавшие диагностическое и клиническое значение выявления IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ у пациентов с аутоиммунными заболеваниями; исследования, не показавшие такого значения, а также публикации, в которых изучались IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ у лиц без аутоиммунных заболеваний. В обзоре оценивалась изолированная позитивность по IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁. В результате только в 6 исследованиях была выявлена статистически значимая связь между различными клиническими проявлениями АФС и наличием IgA-аФЛ при отсутствии других серологических маркеров заболевания. Эта проблема продолжает обсуждаться. По мнению M.L. Bertolaccini и G. Sanna [15], необходимость тестирования IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ не доказана, так как эти антитела встречаются редко, а точность исследований при регулярном тестировании вызывает вопросы. Кроме того, в большинстве случаев они обычно обнаруживаются наряду с другими аФЛ, что продемонстрировано и в нашем исследовании. В то же время в ряде работ показана значимость этих антител [17–22]. Так, G. Lakos и соавт. [17] выявили IgA-аКЛ в 38% случаев при СКВ и в 78% при АФС, а IgA-а β :ГП₁ в 16 и 49% при СКВ и АФС соответственно. Авторы отметили наличие изолированной позитивности по IgA-а β :ГП₁ в 5,7% случаев. По нашим данным, изолированная позитивность по IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ отсутствовала. Наличие IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁

ассоциировалось с высокой позитивностью по IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM-а β :ГП₁.

Возможная связь между IgA-аФЛ и этнической принадлежности продемонстрирована в работе E. Digi и соавт. [18]. Было показано, что у 8 afroамериканцев с АФС в 87% случаев выявлялись IgA-аКЛ, в 50% – IgA-а β :ГП₁ и 25% – только IgA-аКЛ. В нашем исследовании IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ встречались в 56 и 48% случаев соответственно. Было отмечено, что IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ приблизительно в 1,9 раза чаще обнаруживали у пациентов с АФС по сравнению с аКЛ и IgM-а β :ГП₁. Эти результаты согласуются с данными T. Liu и соавт. [19], которые выявляли у больных с АФС изотип IgA более чем в 2 раза чаще, чем изотип IgM. Некоторые авторы указывают на более высокую чувствительность для диагностики АФС IgA-а β :ГП₁ по сравнению с IgM-а β :ГП₁ и IgM-аКЛ [20, 21].

Представляет интерес работа R.M. Lee и соавт. [22], основанная на анализе данных 133 женщин с рецидивирующим синдромом потери плода, 48 с внутриутробной гибелью плода (ВУГП), 145 здоровых женщин репродуктивного возраста и 67 с достоверным АФС. При наличии акушерской патологии (рецидивирующий синдром потери плода и ВУГП) частота обнаружения IgA-а β :ГП₁ была выше, чем у здоровых женщин репродуктивного возраста ($p < 0,01$). IgA-а β :ГП₁ выявлялись при отсутствии ВА и IgG-аКЛ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что определение IgA-а β :ГП₁ может быть полезным для ранней диагностики АФС.

В нашем исследовании наблюдалась умеренная связь между IgA-а β :ГП₁ и IgG-а β :ГП₁, выявленными методом ХМА ($r = 0,42$; $p = 0,0006$), а также IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ с IgG-аФЛ, исследованными с помощью как ХМА, так и ИФА. Обращает на себя внимание наличие статистически значимой связи между антителами к домену I и IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ ($r > 0,6$, $p < 0,0001$).

Предположение о значимости тестирования IgA-а β :ГП₁ и IgA-аКЛ для ранней диагностики АФС основано на следующих фактах: 1) активация комплемента по классическому пути является одним из наиболее важных патогенетических механизмов АФС [23]. Однако IgA не взаимодействуют с компонентами комплемента, так как у них отсутствует зона связывания C1q, расположенная в Fc-областях IgG и IgM [24]. Следовательно, IgA-аФЛ не участвуют в процессах активации комплемента, и в то же время сама система комплемента не способна воздействовать на IgA-аФЛ. Воспалительная реакция через интерлейкин 8 посредством TLR-сигнальных путей может быть опосредована аФЛ [25]. Из-

вестно, что TLR-сигнальные пути играют пусковую роль в развитии иммунных реакций и в последующем инициируют активацию комплемента; 2) имеются данные о раннем отторжении трансплантата в связи с наличием IgA-аФЛ, что позволяет обсуждать их более раннюю продукцию по сравнению с IgM/IgG-аФЛ. Влияние IgA-а β :ГП₁ было оценено у 740 больных, перенесших трансплантацию почки [26]. Результаты исследования показали, что IgA-а β :ГП₁ являлся независимым фактором риска ранней потери трансплантата из-за тромбоза; 3) не стоит забывать и о гипотезе «двойного удара» в патогенезе АФС, согласно которой аФЛ создают условия для реализации процессов гиперкоагуляции и выступают в качестве «первого удара», а формирование тромба индуцируется дополнительными факторами («второй удар»), которыми зачастую являются инфекционные агенты [27]. Под действием факторов «второго удара» запускается механизм тромбовоспаления. Актуальность данной теории подтверждена в пандемии COVID-19 – описано развитие COVID-19-индуцированного АФС-подобного синдрома [28]. Она обосновывается и тем, что в когортах пациентов с хроническими заболеваниями отмечается высокая распространенность IgA-а β :ГП₁ [29]. Кроме того, IgA являются главными секреторными иммуноглобулинами, первыми реагирующими на инфекционные агенты, взаимодействие с которыми при наличии аФЛ объясняет их более раннее выявление по сравнению с IgG/IgM аФЛ. В настоящее время вопрос о способности инфекционных агентов вызывать повышение уровня аФЛ остается открытым. При некоторых инфекциях в сыворотке крови больных наблюдается переходящее повышение IgA-а β :ГП₁ [30] и, возможно, с этим связано их частое выявление при COVID-19 [31–33].

Представленные положения обосновывают необходимость более раннего определения IgA-аКЛ и IgA-а β :ГП₁ при подозрении на АФС, а также изучения их связи с клиническими проявлениями данного заболевания.

Заключение. Таким образом, по предварительным данным настоящего исследования, частота обнаружения IgA-аКЛ составила 56%, IgA-а β :ГП₁ – 48%, IgG-а β :ГП₁-D₁ – 76%. При АФС изолированной позитивности по IgA-аКЛ, IgA-а β :ГП₁ и IgG-а β :ГП₁-D₁ не наблюдалось. Наличие IgA-аКЛ, IgA-а β :ГП₁ и IgG-а β :ГП₁-D₁ ассоциировалось с высокой позитивностью по IgG/IgM-аКЛ и IgG/IgM-а β :ГП₁. Отмечена статистически значимая связь между IgA-аКЛ/IgA-а β :ГП₁ и стандартным профилем аФЛ, а также IgG-а β :ГП₁-D₁ с IgG-аКЛ и IgG-а β :ГП₁.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Решетняк ТМ. Антифосфолипидный синдром: диагностика и клинические проявления (лекция). Научно-практическая ревматология. 2014;52(1):56-71. [Reshetnyak TM. Antiphospholipid syndrome: diagnosis and clinical manifestations (lecture). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2014;52(1):56-71. (In Russ.)].
2. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006 Feb;4(2):295-306. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x
3. Насонов ЕЛ. Антифосфолипидный синдром. Монография. Москва: Литерра; 2004. 36 с.
4. Tincani A, Filippini M, Scarsi M, et al. European attempts for the standardisation of the antiphospholipid antibodies. *Lupus*. 2009 Sep;18(10):913-9. doi: 10.1177/0961203309106919.
5. Devreese KM, Pierangeli SS, de Laat B, et al. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid/Dependent Antibodies. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2014 May;12(5):792-5. doi: 10.1111/jth.12537
6. Mahler M, Albesa R, Zohoury N, et al. Autoantibodies to domain I of β_2 glycoprotein I determined using a novel chemilumines-

- cence immunoassay demonstrate association with thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2016 Jul; 25(8):911-6. doi: 10.1177/0961203316640366
7. McNeeley PA, Dlott JS, Furie RA, et al. Beta2-glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies preferentially bind the amino terminal domain of beta2-glycoprotein I. *Thromb Haemost*. 2001 Aug;86(2):590-5.
8. De Laat B, Derksen RH, van Lummel M, et al. Pathogenic anti-beta2 glycoprotein I antibodies recognize domain I of beta-2 glycoprotein I only after a conformational change. *Blood*. 2006 Mar 1;107(5):1916-24. doi: 10.1182/blood-2005-05-1943
9. Giannakopoulos B, Krillis SA. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2013 Mar 14;368(11):1033-44. doi: 10.1056/NEJMr1112830.
10. Fischetti F, Durigutto P, Pellis V, et al. Thrombus formation induced by antibodies to β_2 -glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor. *Blood*. 2005 Oct 1;106(7):2340-6. doi: 10.1182/blood-2005-03-1319. Epub 2005 Jun 14.
11. De Laat B, Derksen RH, Urbanus RT, de Groot PG. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of beta 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood*. 2005 Feb 15;105(4):1540-5. doi: 10.1182/blood-2004-09-3387. Epub 2004 Oct 26.
12. Chighizola CB, Gerosa M, Meroni PL. New tests to detect antiphospholipid antibodies: anti-domain I beta-2-glycoprotein-I antibodies. *Curr Rheumatol Rep*. 2014 Feb;16(2):402. doi: 10.1007/s11926-013-0402-7
13. Meneghel L, Ruffatti A, Gavasso S, et al. Detection of IgG anti-Domain I beta2 Glycoprotein I antibodies by chemiluminescence immunoassay in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Chim Acta*. 2015 Jun 15;446:201-5. doi: 10.1016/j.cca.2015.04.033. Epub 2015 Apr 30.
14. De Craemer AS, Musial J, Devreese KM. Role of anti-domain I- β_2 glycoprotein I antibodies in the diagnosis and risk stratification of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2016 Sep;14(9):1779-87. doi: 10.1111/jth.13389
15. Bertolaccini ML, Sanna G. The Clinical Relevance of Noncriteria Antiphospholipid Antibodies. *Semin Thromb Hemost*. 2018 Jul 3;44(5):453-7. doi: 10.1055/s-0037-1601328
16. Meijide H, Sciascia S, Sanna G, et al. The clinical relevance of IgA anticardiolipin and IgA anti- β_2 glycoprotein I antiphospholipid antibodies: a systematic review. *Autoimmun Rev*. 2013 Jan;12(3):421-5. doi: 10.1016/j.autrev.2012.08.002
17. Lakos G, Kiss E, Regöczy N, et al. Isotype distribution and clinical relevance of anti-beta2-glycoprotein I (beta2-GPI) antibodies: importance of IgA isotype. *Clin Exp Immunol*. 1999 Sep;117(3):574-9. doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.01007.x
18. Diri E, Cucurull E, Gharavi AE, et al. Antiphospholipid (Hughes') syndrome in African-Americans: IgA aCL and abeta2 glycoprotein-I is the most frequent isotype. *Lupus*. 1999;8(4):263-8. doi: 10.1191/096120399678847812
19. Liu T, Gu J, Wan L, et al. «Non-criteria» antiphospholipid antibodies add value to antiphospholipid syndrome diagnoses in a large Chinese cohort. *Arthritis Res Ther*. 2020 Feb 21;22(1):33. doi: 10.1186/s13075-020-2131-4
20. Martinez-Flores JA, Serrano M, Perez D, et al. Detection of circulating immune complexes of human IgA and beta 2 glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome symptomatology. *J Immunol Methods*. 2015 Jul;422:51-8. doi: 10.1016/j.jim.2015.04.002
21. Pericleous C, Ferreira I, Borghi O, et al. Measuring IgA anti- β_2 -glycoprotein I and IgG/IgA anti-domain I antibodies adds value to current serological assays for the antiphospholipid syndrome. *PLoS One*. 2016 Jun 2; 11(6):e0156407. doi: 10.1371/journal.pone.0156407
22. Lee RM, Branch DW, Silver RM. Immunoglobulin A anti-beta2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Sep;185(3):748-53. doi: 10.1067/mob.2001.117659
23. Tedesco F, Borghi MO, Gerosa M, et al. Pathogenic Role of Complement in Antiphospholipid Syndrome and Therapeutic Implications. *Front Immunol*. 2018 Jun 19;9:1388. doi: 10.3389/fimmu.2018.01388. eCollection 2018.
24. De Sousa-Pereira P, Woolf JM. IgA: Structure, Function, and Developability. *Antibodies (Basel)*. 2019 Dec 5;8(4):57. doi: 10.3390/antib8040057
25. Mulla MJ, Brosens JJ, Chamley LW, et al. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *Am J Reprod Immunol*. 2009 Aug;62(2):96-111. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00717.x
26. Morales JM, Serrano M, Martinez-Flores JA, et al. Antiphospholipid Syndrome and Renal Allograft Thrombosis. *Transplantation*. 2019 Mar;103(3):481-6. doi: 10.1097/TP.0000000000002510
27. Meroni PL, Chighizola CB, Rovelli F, Gerosa M. Antiphospholipid syndrome in 2014: more clinical manifestations, novel pathogenic players and emerging biomarkers. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(2):209. doi: 10.1186/ar4549
28. Насонов ЕЛ, Бекетова ТВ, Решетняк ТМ и др. Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19) и иммуновоспалительные ревматические заболевания: на перекрестке проблем тромбовоспаления и аутоиммунитета. Научно-практическая ревматология. 2020;58(4):353-67. [Nasonov EL, Beketova TV, Reshetnyak TM, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and immuno-inflammatory rheumatic diseases: at the intersection of thromboinflammation and autoimmunity problems. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2020; 58(4):353-67. (In Russ.)].
29. Cabrera-Marante O, Rodriguez de Frias E, Serrano M, et al. The Weight of IgA Anti- β_2 glycoprotein I in the Antiphospholipid Syndrome Pathogenesis: Closing the Gap of Seronegative Antiphospholipid Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 26;21(23):8972. doi: 10.3390/ijms21238972
30. Sikara MP, Routsias JG, Samiotaki M, et al. β_2 Glycoprotein I (β_2 GPI) binds platelet factor 4 (PF4): Implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2010 Jan 21;115(3):713-23. doi: 10.1182/blood-2009-03-206367. Epub 2009 Oct 5.
31. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al. Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Apr 23;382(17):e38. doi: 10.1056/NEJMc2007575. Epub 2020 Apr 8.
32. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: Arelevant observation? *J Thromb Haemost*. 2020 Sep;18(9): 2191-201. doi: 10.1111/jth.14994. Epub 2020 Jul 23.
33. Решетняк ТМ, Чельдиева ФА, Лиля АМ, Насонов ЕЛ. Нарушения гемостаза, тромбозы, антифосфолипидные антитела у пациентов с COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021;2(1):35-42. [Reshetnyak TM, Chel'dieva FA, Lila AM, Nasonov EL. Hemostatic disorders, thrombosis, antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 2(1):35-42. (In Russ.)].

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
26.05.2021/22.07.2021/27.07.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья подготовлена в рамках темы «Разработка методов персонализированной терапии ревматических заболеваний с коморбидной патологией» (AAAA-A19-119021190151-3).

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has been conducted within scientific topic №AAAA-A19-119021190151-3 «Development of methods for personalized therapy of rheumatic diseases with comorbid pathology».

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Чельдиева Ф.А. <https://orcid.org/0000-0001-5217-4932>
Решетняк Т.М. <https://orcid.org/0000-0003-3552-2522>
Черкасова М.В. <https://orcid.org/0000-0002-3246-1157>
Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>