

Исследование антифосфолипидных антител иммуноферментным и хемилюминесцентным методами

Решетняк Т.М.^{1,2}, Черкасова М.В.¹, Чельдиева Ф.А.¹, Нурбаева К.С.¹, Ли́ла А.М.^{1,2}

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

²ФГБОУ 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

Антифосфолипидные антитела (аФЛ) являются признаком приобретенной тромбофилии и ассоциируются с рецидивирующими тромбозами и акушерской патологией. В классификационных критериях 2006 г. к серологическим маркерам антифосфолипидного синдрома (АФС) относятся волчаночный антикоагулянт, антитела к кардиолипину (аКЛ) и β_2 -гликопротеину 1 (анти- β_2 -ГП1) классов IgG и IgM в средних и высоких концентрациях. Задача стандартизации уровней аФЛ остается нерешенной, что приводит к вариативности результатов.

Цель исследования — оценка сопоставимости результатов определения IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП1 с помощью иммуноферментного (ИФА) и хемилюминесцентного (ХЛА) анализов.

Материал и методы. Была исследована периферическая кровь у 192 пациентов (147 женщин и 45 мужчин), у 55 (29%) из которых был первичный АФС, у 12 (6%) — вероятный АФС, у 61 (32%) — системная красная волчанка (СКВ) с АФС и у 64 (33%) — СКВ без АФС. У всех участников определяли IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП1 методом ИФА. Методом ХЛА исследовали IgG/IgM аКЛ у 192 пациентов и IgG/IgM анти- β_2 -ГП1 у 191.

Результаты и обсуждение. Оценка сопоставимости результатов ИФА и ХЛА показала существенные расхождения по позитивным значениям. Так, в 16% случаев отмечалось расхождение по уровням IgG аКЛ и IgM аКЛ по данным обоих методов ($n=30$ и $n=31$ соответственно), в 18% — по уровню IgG анти- β_2 -ГП1 ($n=34$) и в 15% — по уровню IgM анти- β_2 -ГП1 ($n=28$). В большей степени эти расхождения были связаны с более частым выявлением аФЛ в ХЛА при их отрицательных уровнях в ИФА, что свидетельствует о большей информативности метода ХЛА.

Однако небольшое количество пациентов были позитивны по аФЛ в ИФА, но негативны в ХЛА: 5 — с IgG аКЛ, 4 — с IgM аКЛ, 6 — с IgG анти- β_2 -ГП1 и 2 — с IgM анти- β_2 -ГП1.

Заключение. Показано, что ХЛА является более информативным методом определения IgG аКЛ и IgG анти- β_2 -ГП1, чем ИФА ($p<0,05$).

Ключевые слова: антифосфолипидные антитела; антифосфолипидный синдром; системная красная волчанка; иммуноферментный анализ; хемилюминесцентный анализ; антитела к β_2 -гликопротеину 1; антитела к кардиолипину.

Контакты: Татьяна Магомедовна Решетняк; t_reshetnyak@yahoo.com

Для ссылки: Решетняк ТМ, Черкасова МВ, Чельдиева ФА, Нурбаева КС, Ли́ла АМ. Исследование антифосфолипидных антител иммуноферментным и хемилюминесцентным методами. Современная ревматология. 2025;19(2):32–38. DOI: 10.14412/1996-7012-2025-2-32-38

Assessment of antiphospholipid antibodies using enzyme-linked immunosorbent assay and chemiluminescent method

Reshetnyak T.M.^{1,2}, Cherkasova MV.¹, Cheldieva F.A.¹, Nurbaeva K.S.¹, Lila A.M.^{1,2}

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

Professional Education, Ministry of Health of Russia, Moscow

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

Antiphospholipid antibodies (aPL) are a sign of acquired thrombophilia and are associated with recurrent thrombosis and obstetric pathology. According 2006 classification criteria, serological markers of antiphospholipid syndrome (APS) include lupus anticoagulant, moderate and high levels of antibodies to cardiolipin (aCL) and β_2 -glycoprotein 1 (anti- β_2 -GP1) IgG and IgM. The task of standardizing aPL values remains unresolved, leading to variability in results.

Objective: to evaluate the comparability of IgG/IgM aCL and IgG/IgM anti- β_2 -GP1 measurement results using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemiluminescence (CLU) tests.

Material and methods. Peripheral blood from 192 patients (147 women and 45 men) was analyzed, 55 patients (29%) had primary APS, 12 (6%) had probable APS, 61 (32%) had systemic lupus erythematosus (SLE) and APS, and 64 (33%) had SLE without APS. IgG/IgM aCL and IgG/IgM anti- β_2 -GP1 were determined in all participants by ELISA. By CLU method IgG/IgM aCL were analyzed in 192 patients and IgG/IgM anti- β_2 -GP1 in 191 patients.

Results and discussion. The evaluation of the comparability of the results of ELISA and CLU revealed considerable discrepancies in the positive tests. Thus, in 16% of cases, a discrepancy was found in the levels of IgG aCL and IgM aCL by both methods ($n=30$ and $n=31$, respectively), in 18% in the level of IgG anti- β_2 -GP₁ ($n=34$) and in 15% in the level of IgM anti- β_2 -GP₁ ($n=28$). These discrepancies were to a greater extent associated with a more frequent detection of aPL in CLU when their values were negative in ELISA, indicating the greater information capacity of the CLU method.

However, a small number of patients were positive for aPL in ELISA but negative in CLU: 5 with IgG aCL, 4 with IgM aCL, 6 with IgG anti- β_2 -GP₁, and 2 with IgM anti- β_2 -GP₁.

Conclusion. CLU is shown to be a more informative method for determining IgG aCL and IgG anti- β_2 -GP₁ than ELISA ($p<0.05$).

Keywords: antiphospholipid antibodies; antiphospholipid syndrome; systemic lupus erythematosus; immunosorbent analysis; chemiluminated analysis; antibodies against β_2 -glycoprotein 1; antibodies against cardiolipin.

Contact: Tatyana Magomedaliyeva Reshetnyak; t_reshetnyak@yahoo.com

For reference: Reshetnyak TM, Cherkasova MV, Cheldieva FA, Nurbaeva KS, Lila AM. Assessment of antiphospholipid antibodies using enzyme-linked immunosorbent assay and chemiluminescent method. *Sovremennaya Revmatologiya*=Modern Rheumatology Journal. 2025;19(2):32–38. DOI: 10.14412/1996-7012-2025-2-32-38

Диагноз антифосфолипидного синдрома (АФС) правомочен при наличии в крови антифосфолипидных антител (аФЛ), ассоциированных с тромбозами и акушерской патологией. Кроме того, эти антитела играют ключевую роль в прогнозировании клинических проявлений АФС [1–4].

Современные классификационные критерии АФС включают только три вида аФЛ: волчаночный антикоагулянт (ВА), антитела к кардиолипину (аКЛ) и β_2 -гликопротеину 1 (анти- β_2 -ГП₁) классов IgG и IgM. Для диагностики АФС средние или высокие уровни этих антител должны быть выявлены в двух последовательных измерениях с интервалом не менее 12 нед [5].

Традиционно для определения аФЛ используется иммуноферментный анализ (ИФА), который, несмотря на наличие различных рекомендаций, недостаточно стандартизирован и подвержен межлабораторным вариациям [6]. К тому же

при ИФА могут обнаруживаться антитела, не обладающие патогенными свойствами, что снижает его специфичность [7]. Для улучшения точности диагностики и стандартизации тестирования был разработан хемилюминесцентный анализ (ХЛА). Этот метод характеризуется высокой аналитической чувствительностью и точностью, отсутствием влияния на его результаты интерферирующих веществ [8].

Цель исследования — оценить сопоставимость результатов определения IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП₁ с помощью ИФА и ХЛА.

Материал и методы. В исследование включено 192 пациента (147 женщин и 45 мужчин), у 55 (29%) из которых диагностирован первичный АФС (ПАФС), у 12 (6%) — вероятный АФС (ВАФС), у 61 (32%) — системная красная волчанка (СКВ) с АФС и у 64 (33%) — СКВ без АФС. Характеристика пациентов приведена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов
Table 1. Characteristics of patients

Показатель	ПАФС (n=55)	ВАФС (n=12)	СКВ + АФС (n=61)	СКВ без АФС (n=64)	Всего (n=192)
Возраст, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	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]
Длительность заболевания, годы Me [25-й; 75-й перцентили]	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]
Пол: женщины/мужчины, n	32/23	10/2	49/12	56/8	147/45
Тромбоз, в том числе:	47 (90)	1 (8)	51 (86)	14 (22)	113 (60)
венозный	21 (45)	0 (0)	24 (47)	10 (72)	55 (49)
артериальный	16 (34)	0 (0)	15 (29)	2 (14)	33 (29)
артериальный и венозный	10 (21)	1 (100)	12 (24)	2 (14)	25 (22)
Беременность на фоне заболевания, n	20	2	31	16	69
Невынашивание беременности*	19 (95)	1 (50)	26 (84)	7 (44)	53 (77)
IgG аКЛ+	37 (71)	7 (58)	39 (66)	8 (12,5)	91 (49)
IgM аКЛ+	12 (23)	3 (25)	10 (17)	7 (11)	32 (17)
IgG+IgM аКЛ+	8 (15)	1 (8)	7 (12)	6 (9)	22 (12)
IgG анти- β_2 -ГП ₁ +	36 (69)	7 (58)	44 (75)	9 (14)	96 (51)
IgM анти- β_2 -ГП ₁ +	12 (23)	5 (42)	12 (20)	7 (11)	36 (19)
IgG+IgM анти- β_2 -ГП ₁ +	11 (21)	3 (25)	11 (19)	6 (9)	31 (17)

Примечание. Показатели представлены как n (%), если не указано иначе. * — в скобках приведен процент от общего числа, женщин, имевших беременность на фоне заболевания.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Таблица 2. Границы степени позитивности при оценке результатов определения аКЛ и анти-β₂-ГП₁ [9]
 Table 2. The limits of the degrees of positivity in the evaluation of the results of determination of aCL and anti-β₂-GP₁ [9]

Результат	аКЛ		анти-β ₂ -ГП ₁	
	IgG аКЛ, GPL	IgM аКЛ, MPL	IgG анти-β ₂ -ГП ₁ , Ед/мл	IgM анти-β 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. Формулы для определения метрик диагностической ценности предложенных уровней позитивности исследуемых аФЛ [10, 11]
 Table 3. Formulas for determining the metrics of the diagnostic value of the proposed positivity levels of the analyzed aPLs [10, 11]

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

У всех пациентов исследовали IgG/IgM аКЛ, IgG/IgM анти-β₂-ГП₁ методом ИФА на автоматическом анализаторе для лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний Alegria (Orgentec Diagnostika GmbH, Германия) с набором реагентов для определения антител (Orgentec Diagnostika GmbH, Германия). IgG аКЛ измеряли в фосфолипидсвязывающей активности IgG аКЛ на 1 мкг/мл в единицах GPL (IgG phospholipid binding units, GPL Ед/мл), а IgM аКЛ – в фосфолипидсвязывающей активности IgM аКЛ на 1 мкг/мл в MPL (IgM phospholipid binding units, MPL Ед/мл). IgG/IgM анти-β₂-ГП₁ определяли в Ед/мл. Уровни позитивности для IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти-β₂-ГП₁ приведены в табл. 2.

Методом ХЛА было проведено исследование IgG/IgM аКЛ у 192, IgG/IgM анти-β₂-ГП₁ – у 191 пациента с помощью автоматизированного хемилюминесцентного анализатора Bio-Flash (Biokit S.A., Испания) и набора реагентов для определения IgG/IgM анти-β₂-ГП₁ и IgG/IgM аКЛ (AcuStar, Испания). Концентрация антител определялась в хемилюминесцентных единицах (chemiluminescent units, CU). Позитивным, согласно рекомендации фирмы изготовителя, считался уровень ≥20 CU.

В группу контроля включено 100 относительно здоровых лиц (86 женщин и 14 мужчин) без ревматических заболеваний, онкологической патологии, острых и хронических инфекций, сопоставимых по возрасту с пациентами основной группы. Медиана возраста лиц контрольной группы составила 41,0 [30,0; 54,0] год. Как в группе контроля, так и в основной группе преобладали женщины. На основании средних значений группы контроля для определения IgG/IgM/аКЛ, IgG/IgM/анти-β₂-ГП₁ были выделены уровни позитивности

по формулам: среднее арифметическое (М) + 3 или 5 стандартных отклонений (SD): М + 3SD и М + 5SD. Оценка диагностической ценности выделенных уровней позитивности и уровней, предложенных производителями реагентов, проводилась по формулам, представленным в табл. 3.

На основании результатов анализа были приняты следующие положительные уровни: для IgG аКЛ >25,9 CU (М + 5SD), для IgM аКЛ >19,5 CU (М + 3SD), для IgG анти-β₂-ГП₁ >32,0 CU (М + 5SD), для IgM анти-β₂-ГП₁ >6,9 CU (М + 3SD).

Статистический анализ данных был проведен с использованием программного обеспечения Statistica и Epi Info. Применялись методы описательной статистики и непараметрические методы. Статистическая значимость результатов оценивалась с использованием порога вероятности ложноположительных результатов $p < 0,05$. Для описания центральных тенденций количественных признаков с приближенно нормальным распределением применялись среднее

Таблица 4. Интерпретация коэффициента κ Коэна
 Table 4. Interpretation of the κ Cohen coefficient

Значение коэффициента κ Коэна	Степень согласованности
<0,20	Очень слабая
0,21–0,40	Слабая
0,41–0,60	Умеренная
0,61–0,80	Хорошая
0,81–1,00	Очень хорошая

Таблица 5. Сравнение результатов определения аФЛ с помощью ИФА и ХЛА
Table 5. Comparison of the results of determination of aPL using ELISA and CLU

Показатель	ИФА	ХЛА	уровень антител, CU, Me [25-й; 75-й перцентили]	χ^2 ; p	к; p
	n (%)	n (%)			
IgG аКЛ (n=192)					
+	96 (50)	118 (61)	406,2 [132,8; 981,1]		
-	96 (50)	74 (39)		5,11; 0,02	0,667; 0,0001
Низкопозитивные	2 (2)	-/-	244,3 [8,3; 480,4]		
Среднепозитивные	17 (8)	-/-	216,5 [105,0; 352,9]		
Высокопозитивные	77 (80)	-/-	632,6 [369,9; 1714,0]*		
IgM аКЛ (n=192)					
+	33 (17)	56 (29)	51,9 [29,6–142,0]	7,74; 0,005	0,537; 0,0001
-	159 (83)	136 (71)			
Низкопозитивные	8 (24)	-/-	38,7 [24,5; 58,2]		
Среднепозитивные	2 (6)	-/-	90,2 [82,5; 97,9]		
Высокопозитивные	23 (70)	-/-	155,0 [100,6; 122,8]**		
IgG анти-β_2-ГП1 (n=191)					
+	100 (52)	122 (64)	1810,5 [492,4; 4694,4]	5,21; 0,02	0,621; 0,0001
-	91 (48)	69 (36)			
Низкопозитивные	6 (6)	-/-	529,3 [420,4; 705,9]		
Среднепозитивные	28 (28)	-/-	1557,4 [1022,0; 1976,9]		
Высокопозитивные	66 (66)	-/-	3371,8 [1546,9; 6100,0]#		
IgM анти-β_2-ГП1 (n=191)					
+	37 (19)	61 (32)	35,4 [11,4; 117,6]	7,91; 0,004	0,615; 0,0001
-	154 (81)	130 (68)			
Низкопозитивные	13 (35)	-/-	22,2 [13,6; 40,8]		
Среднепозитивные	11 (30)	-/-	77,8 [11,4; 117,6]		
Высокопозитивные	13 (35)	-/-	187,2 [144,5; 258,2]##		

Примечание. (+) – положительные; (-) – отрицательные; -/- – число пациентов, разделенных по уровням позитивности по данным ХЛА, соответствует числу пациентов по результатам ИФА. * – $p < 0,0001$ по сравнению со среднепозитивными уровнями в ХЛА; ** – $p = 0,007$ по сравнению с низкопозитивными уровнями в ХЛА; # – $p = 0,009$ по сравнению со среднепозитивными уровнями в ХЛА; ## – $p = 0,009$ по сравнению с низкопозитивными уровнями в ХЛА.

значение (M) и среднее квадратическое отклонение (SD), для признаков с ненормальным распределением – медиана и интерквартильный интервал (Me [25-й; 75-й перцентили]). Сравнение двух независимых групп по количественному признаку проводилось с помощью критерия Манна–Уитни. Для анализа качественных показателей в двух независимых группах использовался критерий χ^2 , при этом для таблиц сопряженности 2×2 применялась поправка Йейтса, если количество наблюдений в ячейке было менее 5. Если количество наблюдений превышало 5, статистическая обработка данных выполнялась в программе Epi Info. В этих случаях для оценки статистической значимости по χ^2 использовался стандартный тест, а также рассчитывалось отношение шансов с 95% доверительным интервалом.

Измерение степени согласованности результатов определения аФЛ методами ИФА и ХЛА проводилось с помощью коэффициента к Коэна, который вычисляли с применением статистического программного пакета IBM SPSS 26.0. Коэффициент к Коэна интерпретировали согласно данным табл. 4.

Результаты. По данным ИФА 96 (50%) из 192 пациентов были позитивны по IgG аКЛ, а по данным ХЛА таких пациентов было 118 (61%). Как видно из табл. 5, IgG аКЛ в ХЛА выявлялись статистически значимо чаще ($p = 0,02$). Коэффициент к Коэна составил 0,667, что указывает на хорошую согласованность методов. В ИФА 77 (80%) из 96 пациентов имели высокопозитивные уровни IgG аКЛ, 17 (18%) – среднепозитивные, 2 (2%) – низкопозитивные. Медиана высокопозитивных уровней – 120,0 [101,8; 120,0] Ед/мл, среднепозитивных – 49,1 [43,6; 55,0] Ед/мл, низкопозитивных – 28,2 [27,5; 28,9] Ед/мл. В ХЛА медиана высокопозитивных уровней IgG аКЛ составила 632,6 [369,9; 1714,0] CU. Высокопозитивные уровни в ХЛА были значительно выше среднепозитивных ($p < 0,0001$), а средне- и низкопозитивные уровни не различались.

У 31 (16%) из 192 пациентов имелись расхождения в уровнях IgG аКЛ между методами: в 27 (87%) случаях выявлены негативные результаты в ИФА и позитивные в ХЛА (медиана их значений – 41,0 [33,2; 102,5] CU), а в 4 – обратные расхождения.

Позитивны по IgM аКЛ были 33 (17%) пациента по данным ИФА и 56 (29%) по данным ХЛА (см. табл. 5). Выявляемость IgM аКЛ оказалась статистически значимо выше в ХЛА ($p=0,005$). Коэффициент к Коэна составил 0,537. В ИФА 23 (70%) из 33 пациентов имели высокопозитивные уровни, 2 (6%) — среднепозитивные, 8 (24%) — низкопозитивные. Медиана высокопозитивных уровней — 69,9 [53,6; 82,4] Ед/мл, среднепозитивных — 39,2 [36,9; 41,5] Ед/мл, низкопозитивных — 27,5 [25,2; 29,4] Ед/мл. Высокопозитивные уровни в ХЛА, соответствовавшие высокопозитивным значениям в ИФА, были значимо выше по сравнению со значениями низких уровней по данным ХЛА ($p=0,007$; см. табл. 5).

У 31 (16%) пациента наблюдалось расхождение в уровнях IgM аКЛ между методами: у 27 (87%) из них получен негативный результат в ИФА и позитивный в ХЛА (медиана — 31,1 [21,1; 48,3] CU), а у 4 (13%) имелись позитивные значения в ИФА и отрицательные в ХЛА.

Выявлено, что 100 (52%) из 191 пациента были позитивны по IgG анти- β_2 -ГП₁ в ИФА и 122 (64%) — в ХЛА ($p=0,001$; см. табл. 5). Коэффициент к Коэна составил 0,621. В ИФА высокопозитивные уровни обнаружены у 66 (66%) из 100 пациентов, среднепозитивные — у 28 (28%) и низкопозитивные — у 6 (6%). Медиана высокопозитивных уровней — 100,0 [86,6; 100,0] Ед/мл, среднепозитивных — 46,7 [40,6; 53,8] Ед/мл, низкопозитивных — 24,0 [21,1; 24,8] Ед/мл. В ХЛА медианы высоко-, средне- и низкопозитивных уровней составили 3371,8 [1546,9; 6100,0]; 1557,4 [1022,0; 1976,9] и 529,3 [420,4; 705,9] CU соответственно. Высокопозитивные уровни в ХЛА были статистически значимо выше, чем низко- и среднепозитивные ($p<0,0001$).

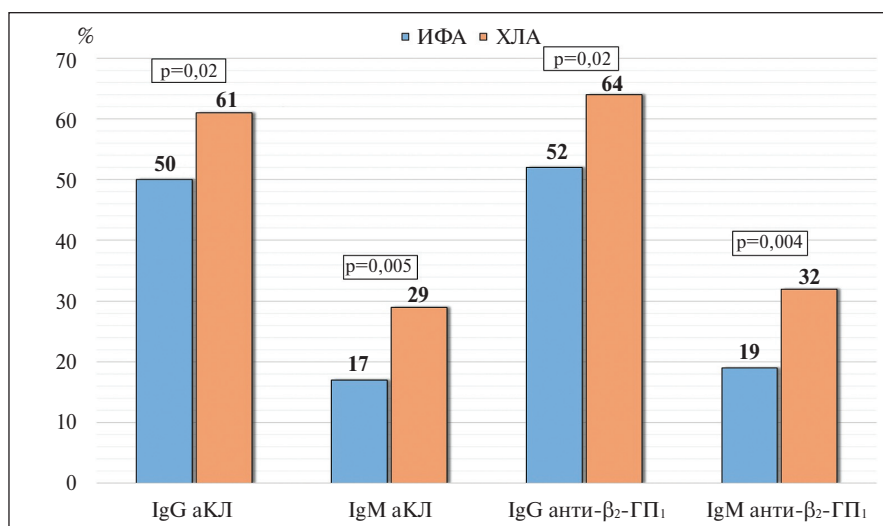
У 34 (18%) из 191 пациента наблюдались расхождения в уровнях IgG анти- β_2 -ГП₁ между методами: у 28 (82%) получены негативные результаты в ИФА и позитивные в ХЛА (медиана — 109,1 [67,5; 313,5] CU), а у 6 (18%) — позитивные в ИФА и негативные в ХЛА.

Позитивные уровни IgM анти- β_2 -ГП₁ были зарегистрированы у 37 (19%) пациентов по данным ИФА и у 61 (32%) — по данным ХЛА ($p=0,004$). Коэффициент к Коэна составил 0,615 (см. табл. 5). В ИФА высокопозитивные уровни выявлены у 13 (35%) из 37 пациентов, среднепозитивные — у 11 (30%), низкопозитивные — у 13 (35%). Медиана высокопозитивных уровней — 90,9 [84,7; 100,0] Ед/мл. В ХЛА высокопозитивные уровни были статистически значимо выше, чем низко- и среднепозитивные ($p<0,0001$ и $p=0,009$).

У 28 (15%) пациентов наблюдались расхождения в уровнях IgM анти- β_2 -ГП₁ между методами: у 26 (93%) пациентов получен негативный результат в ИФА и позитивный в ХЛА (медиана значений — 15,3 [8,6; 31,0] CU), а у 2 (7%) — позитивный в ИФА, но негативный в ХЛА.

На рисунке представлена частота выявления IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП₁ методами ХЛА и ИФА.

Обсуждение. Исследование аФЛ является неотъемлемой частью современных классификационных критериев



Частота выявления IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП₁ при использовании ХЛА и ИФА
Frequency of detection of IgG/IgM aCL and IgG/IgM anti- β_2 -GP₁ when using ELISA and CLU

АФС [12]. При подозрении на АФС выявление устойчивых циркулирующих аФЛ играет важнейшую роль, так как клинические проявления заболевания распространены в популяции в целом и часто осложняются различными факторами, лежащими в его основе. Тесты, используемые для выявления аФЛ, должны быть одновременно чувствительными и специфичными, чтобы обеспечить точный диагноз. Такая точность имеет жизненно важное значение для пациента, поскольку ошибочный диагноз может существенно повлиять на тактику лечения. Поэтому выбор методов выявления аФЛ и оценка их эффективности должны быть тщательными и соответствовать международным рекомендациям [13–16]. При рассмотрении вопроса об исследовании на аФЛ важно помнить, что оно проводится только в случае высокой вероятности развития АФС [17]. Поскольку тесты на аФЛ используются при различных заболеваниях, часто при отсутствии показаний для их проведения в реальной практике отмечается снижение частоты выявления аФЛ и, как следствие, ухудшение диагностики АФС в целом. Этому аспекту уделено внимание в недавно опубликованных классификационных критериях ACR/EULAR (American College of Rheumatology / European Alliance of Associations for Rheumatology) [12]. Рутинный скрининг аФЛ при отсутствии клинических признаков заболевания, как правило, не рекомендуется, что позволяет предотвратить случайное обнаружение аФЛ. Клинические ситуации, в которых можно с высокой степенью вероятности подозревать АФС, включают, например, более молодых пациентов (в возрасте до 50 лет) с неспровоцированными тромботическими явлениями, тромбозом в атипичных местах или тромботическими осложнениями либо осложнениями беременности, связанными с сопутствующим аутоиммунным заболеванием [12, 14]. Рекомендуется проводить все тесты на аФЛ одновременно и интерпретировать результаты с учетом клинических проявлений и всех лабораторных маркеров, поскольку аФЛ представляют собой разнообразный набор аутоантител с перекрывающимися, но различными признаками.

Плохая корреляция между результатами определения аФЛ с помощью ИФА и не ИФА — серьезная проблема [17].

Для улучшения диагностики АФС необходимы новые методы, одним из которых является ХЛА [18–20]. По данным литературы, определение аФЛ методом ХЛА по надежности не уступает ИФА, а по другим параметрам превосходит его [18, 21–23]. Так, А. Сароззи и соавт. [24] установили, что у 30,13% пациентов, отрицательных по ВА и анти- β_2 -ГП₁, но положительных по аКЛ по данным ИФА, уровень анти- β_2 -ГП₁ был позитивным в ХЛА. Кроме того, у 20% пациентов, положительных по ВА, но устойчиво отрицательных по аКЛ и анти- β_2 -ГП₁ по данным ИФА, получены позитивные результаты в ХЛА. В нашей работе позитивные уровни IgG/IgM аКЛ и IgG/IgM анти- β_2 -ГП₁ статистически значимо чаще встречались при использовании ХЛА ($p < 0,05$).

Оценка сопоставимости результатов ИФА и ХЛА показала существенные расхождения по позитивным значениям. Так, в 16% случаев отмечалось расхождение по уровням IgG аКЛ и IgM аКЛ по данным обоих методов ($n=30$ и $n=31$ соответственно), в 18% — по уровню IgG анти- β_2 -ГП₁ ($n=34$) и в

15% — по уровню IgM анти- β_2 -ГП₁ ($n=28$). В большей степени эти расхождения были связаны с более частым выявлением аФЛ в ХЛА при их отрицательных уровнях в ИФА, что свидетельствует о преимуществах ХЛА.

Однако небольшое число пациентов были позитивны по аФЛ в ИФА, но негативны в ХЛА: 5 — с IgG аКЛ, 4 — с IgM аКЛ, 6 — с IgG анти- β_2 -ГП₁ и 2 — с IgM анти- β_2 -ГП₁. Возможно, позитивность по аФЛ по данным ИФА обусловлена наличием низкоаффинных аФЛ, не обладающих патогенным потенциалом. Известно, что для проявления патогенных свойств аФЛ необходим аКЛ-кофактор, который в большинстве случаев идентифицируется как β_2 -гликопротеин 1 (β_2 -ГП₁) [25]. Непатогенные аФЛ циркулируют в крови и не связывают β_2 -ГП₁ и/или другие кофакторы [23].

Заключение. Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что ХЛА является более информативным методом определения аКЛ и анти- β_2 -ГП₁, чем ИФА ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Arachchilage DRJ, Laffan M. Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol*. 2017 Jul;178(2):181–195. doi: 10.1111/bjh.14632.
2. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep;71(9):1400–1412. doi: 10.1002/art.40930.
3. Asherson RA. New subsets of the antiphospholipid syndrome in 2006: "PRE-APS" (probable APS) and microangiopathic antiphospholipid syndromes ("MAPS"). *Autoimmun Rev*. 2006 Dec;6(2):76–80. doi: 10.1016/j.autrev.2006.06.008.
4. Atsumi T, Amengual O, Yasuda S, Koike T. Antiprotease antibodies — are they worth assaying? *Thromb Res*. 2004;114(5–6):533–8. doi: 10.1016/j.thromres.2004.08.024.
5. 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.
6. Bertolaccini ML, Atsumi T, Koike T, et al. Antiprotease antibodies detected in two different assay systems. Prevalence and clinical significance in systemic lupus erythematosus. *Thromb Haemost*. 2005 Feb;93(2):289–97. doi: 10.1160/TH04-06-0382.
7. Bidot CJ, Jy W, Horstman LL, et al. Factor VII/VIIa: a new antigen in the anti-phospholipid antibody syndrome. *Br J Haematol*. 2003 Feb;120(4):618–26. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04161.x.
8. De Moerloose P, Reber G, Musial J, Arnout J. Analytical and clinical performance of a new, automated assay panel for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2010 Jul;8(7):1540–6. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.03857.x.
9. Александрова ЕН, Новиков АА, Решетняк ТМ и др. Антитела к β_2 -гликопротеину 1 и антитела к кардиолипину при антифосфолипидном синдроме: анализ чувствительности и специфичности. Клиническая медицина. 2003;(9):25–31. [Alexandrova EN, Novikov AA, Reshetnyak TM, et al. Antibodies to 2-glycoprotein 1 and antibodies to cardiolipin in antiphospholipid syndrome: sensitivity and specificity analysis. *Klinicheskaya meditsina*. 2003;(9):25–31. (In Russ.)].
10. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСфера; 2002. [Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application of STATISTICA package of applied programs. Moscow: MediaSfera; 2002].
11. <https://telemadi.ru/biblioteka-dokumentov/klinicheskie-ispytaniya-programmnogo-obespecheniya-na-osnove-intellektualnyh-tehnologij-luchevaya-diagnostika>
12. Barbhuiya M, Zuily S, Naden R, et al. ACR/EULAR APS Classification Criteria Collaborators. The 2023 ACR/EULAR Antiphospholipid Syndrome Classification Criteria. *Arthritis Rheumatol*. 2023 Oct;75(10):1687–1702. doi: 10.1002/art.42624.
13. Devreese KMJ, Bertolaccini ML, Branch DW, et al. An update on laboratory detection and interpretation of antiphospholipid antibodies for diagnosis of antiphospholipid syndrome: guidance from the ISTH-SSC Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies. *J Thromb Haemost*. 2024 Nov 5:S1538-7836(24)00638-X. doi: 10.1016/j.jtha.2024.10.022.
14. Atsumi T, Chighizola CB, Fujieda Y, et al. 16th International congress on antiphospholipid antibodies task force report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends. *Lupus*. 2023 Dec;32(14):1625–1636. doi: 10.1177/09612033231211820.
15. Forastiero R, Papalardo E, Watkins M, et al. Evaluation of different immunoassays for the detection of antiphospholipid antibodies: report of a wet workshop during the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Clin Chim Acta*. 2014 Jan 20;428:99–105. doi: 10.1016/j.cca.2013.11.009.
16. Reber G, Boehlen F, de Moerloose P. Technical aspects in laboratory testing for antiphospholipid antibodies: is standardization an impossible dream? *Semin Thromb Hemost*. 2008 Jun;34(4):340–6. doi: 10.1055/s-0028-1085476.
17. Sciascia S, Montaruli B, Infantino M. Antiphospholipid antibody testing. *Med Clin (Barc)*. 2024 Aug;163 Suppl 1:S4–S9. doi: 10.1016/j.medcli.2024.06.002.
18. Van Hoecke F, Persijn L, Decavele AS, Devreese K. Performance of two new, automated chemiluminescence assay panels for anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in the laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Int J Lab Hematol*. 2012 Dec;34(6):630–40. doi: 10.1111/j.1751-553X.2012.01448.x.
19. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost*. 2020 Nov;18(11):2828–2839. doi: 10.1111/jth.15047.
20. Ткаченко ОЮ, Лапин СВ, Лазарева НМ и др. Сравнительный анализ информативности тест-систем разных производителей для определения антифосфолипидных антител для диагностики антифосфолипидного синдрома. Клиническая лаборатор-

- ная диагностика. 2017;62(1):40-4.
[Tkachenko OYu., Lapin SV, Lazareva NM, et al. Comparative analysis of the informativeness of test systems from different manufacturers to determine antiphospholipid antibodies for diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017;62(1):40-4. (in Russ.)].
21. Zhang S, Wu Z, Li P, et al. Evaluation of the Clinical Performance of a Novel Chemiluminescent Immunoassay for Detection of Anticardiolipin and Anti-Beta2-Glycoprotein 1 Antibodies in the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Nov;94(46):e2059. doi: 10.1097/MD.
- 0000000000002059.
22. Borghi MO, Beltagy A, Garrafa E, et al. Anti-Phospholipid Antibodies in COVID-19 Are Different From Those Detectable in the Anti-Phospholipid Syndrome. *Front Immunol*. 2020 Oct 15;11:584241. doi: 10.3389/fimmu.2020.584241.
23. Oku K, Amengual O, Kato M, et al. Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Res*. 2016 Oct;146:1-6. doi: 10.1016/j.thromres.2016.08.018.
24. Capozzi A, Lococo E, Grasso M, et al. Detection of antiphospholipid antibodies by automated chemiluminescence assay. *J Immunol Methods*. 2012 May 31;379(1-2):48-52. doi: 10.1016/j.jim.2012.02.020.
25. Волкова МВ, Кундер ЕВ, Генералов ИИ, Роггенбук Д. Антифосфолипидные антитела: современные представления о патогенетическом действии и лабораторной диагностике. Вестник Витебского государственного медицинского университета 2015;(14-3):6-15.
[Volkova MV, Kunder EV, Generalov A., Roggenbuk D. Antiphospholipid antibodies: modern ideas about pathogenetic action and laboratory diagnosis. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* 2015;(14-3):6-15. (In Russ.)].

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

18.01.2025/03.03.2025/05.03.2025

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья подготовлена в рамках фундаментальной научной темы РК 125020501434-1

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 article was prepared as part of the fundamental scientific topic PK 125020501434-1.

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.

Решетняк Т.М. <https://orcid.org/0000-0003-3552-2522>

Черкасова М.В. <https://orcid.org/0000-0002-3246-1157>

Чельдиева Ф.А. <https://orcid.org/0000-0001-5217-4932>

Нурбаева К.С. <https://orcid.org/0000-0001-6685-7670>

Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>