

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (22)

2022

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	3
Михайлова Ю.В., Чепурченко Н.В., Обрядина А.П. Встречаемость антифосфолипидных антител у пациентов с диагнозом COVID-19 на разных стадиях заболевания	3
Серологическая диагностика антифосфолипидного синдрома	5
Фролова Е.А., Михайлова Ю.В. Общая информация (этиология, эпидемиология, клиника)	5
Михайлова Ю.В., Фролова Е.А., Обрядина А.П. Лабораторная диагностика антифосфолипидного синдрома	10
Кувшинов М.В., Михайлова Ю.В. Антифосфолипидный синдром, обусловленный наличием инфекционных агентов	22
Нормативные документы	32

Учредитель: ООО Научно производственное объединение "Диагностические системы"

Главный редактор Михайлова Ю.В.

Адрес редакции

РОССИЯ, 603022, Н. Новгород, ул. Барминская, 8а

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: see@npods.ru; www.npods.ru

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия

Регистрационное свидетельство ПИ №ФС 77-22849 от 30 декабря 2005 г.

Сдано в набор 12.12.2022

Подписано в печать 30.12.2022

Тираж 1500 экземпляров.

Отпечатано в ИП "Панин А.А.", 603138, Н, Новгород, ул. Строкина, д.8, оф.124

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бурков А.Н. (д.м.н., профессор),
Почетный председатель Редакционного совета

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Кувшинов М.В. (к.м.н.)

Бочкова Г.Б. (к.т.н.)

Михайлова Ю.В. (к.б.н.)

Голубева И.Ф.

Поляков С.Ю.

Плаксина Н.Б.

Уважаемые читатели!

Предлагаем вашему вниманию очередной выпуск информационно-реферативного журнала "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний". Данный журнал посвящен сложной и многогранной аутоиммунной патологии, в частности антифосфолипидному синдрому (АФС).

В разделе "Оригинальные статьи" представлены результаты исследования, проведенного специалистами компании, по изучению частоты обнаружения маркеров АФС у пациентов с COVID-19 на разных стадиях заболевания. Лабораторное обследование лиц, инфицированных SARS-CoV-2, проведено с использованием первых отечественных тест-систем для определения антифосфолипидных антител (АФЛ) на основе непрямого двухстадийного ИФА, разработанных и валидированных на базе ООО "НПО "Диагностические системы" в соответствии с российскими и международными рекомендациями. Материал адаптирован и расширен с учетом новых обработанных данных на основе статьи, опубликованной в Материалах научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины, 2022, С. 189-190.

Раздел "Общая информация" даёт понимание АФС как системного аутоиммунного заболевания с широким спектром сосудистых и акушерских проявлений, связанных с тромботическими и воспалительными механизмами, спровоцированными выработкой АФЛ. Основной акцент сделан на необходимость своевременного выявления АФС для реализации социально значимых проектов здравоохранения по сохранению женского здоровья, поскольку до 25% случаев невынашивания беременности и неудач вспомогательных репродуктивных технологий связаны именно с наличием АФЛ.

В дайджесте, рассматривающем вопросы лабораторной диагностики, особое внимание уделено трудностями в диагностике данного заболевания, с кото-

рыми сталкиваются клиницисты и специалисты лабораторной службы. Это обусловлено техническими особенностями создания тестов и проблемой стандартизации в интерпретации результатов тестирования с использованием методов и диагностикумов разных производителей. В разделе описаны факторы, способствующие вариабельности результатов лабораторных тестов, приведены сведения по наличию и доступности использования стандартных эталонных материалов, а также резюмированы сведения технических руководств по созданию тестов. Рассмотрен вопрос диагностической значимости обнаружения как отдельных маркеров АФС, так и профиля критериальных и некритериальных аутоантител.

Раздел "Антифосфолипидный синдром, обусловленный наличием инфекционных агентов" открывается обзором случаев связи предшествующей инфекции с последующим развитием АФС или циркулирующей детектируемых антител к фосфолипидам. Согласно данным литературы наиболее часто провоцирующим фактором развития данной аутоиммунной патологии служат вирусные инфекции.

Особое внимание уделено взаимосвязи АФС и вирусом SARS-CoV-2, вызывающим новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) и ставшим причиной одной из самых смертоносных пандемий современности.

В рубрике "Нормативные документы" приведен перечень актуальных на текущий момент времени нормативных правовых актов в сфере здравоохранения РФ, касающихся дифференциальной диагностики и лабораторного скрининга различных групп населения на маркеры АФС.

Надеемся, что опубликованные в нашем издании материалы будут полезны специалистам лабораторной службы, врачам клиницистам различных специальностей, научным работникам и студентам.

Частота обнаружения и длительность циркуляции антифосфолипидных антител у больных COVID-19

ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород, Россия

Михайлова Ю.В.,
Чепурченко Н.В.,
Обрядина А.П.

Существует высокий риск возникновения тромбозов у больных COVID-19, обусловленный развитием антифосфолипидного синдрома (АФС), показателем которого служат антифосфолипидные антитела (аФЛ). Одними из основных лабораторных критериев АФС являются антикардиолипиновые антитела (аКЛ) и/или антитела к $\beta 2$ -гликопротеину 1 ($\alpha\beta 2$ -ГП1). Антитела к другим фосфолипидам и кофакторным белкам, таким как фосфотидилсерин/протромбин (аФС-ПТ), не имеют доказательного значения в диагностике АФС [1, 2]. Вместе с тем, их обнаружение расценивается как "пре-АФС"/"вероятный АФС" и может предшествовать развитию тромботических осложнений [3].

Цель работы: разработать ИФА-тесты для определения маркеров АФС и определить частоту выявления трех типов аФЛ у пациентов с COVID-19 на разных стадиях заболевания.

Ключевые слова: COVID-19; АФС; антикардиолипиновые антитела; антитела к $\beta 2$ -гликопротеину 1.

Обследовано 120 человек 18-67 лет с диагнозом COVID-19. Распределение обследованных лиц по тяжести заболевания представлено на рисунке 1.



Рис. 1. Профиль пациентов с COVID-19 по тяжести заболевания

Больные в острой фазе COVID-19 проходили лечение в стационаре ПОМЦ (Н. Новгород). Реконвалесценты (доноры ООКСПК, Оренбург) были обследованы трижды с интервалами в 2,5-3 мес.

Контрольная группа - образцы сыворотки крови доноров, собранные до ноября 2019 г. ($n=60$).

Для определения аКЛ, $\alpha\beta 2$ -ГП1, аФС-ПТ классов IgA, M, G на базе ООО "НПО "Диагностические системы" были разработаны и валидированы в соответствии с российскими и международными рекомендациями наборы реагентов на основе непрямого двухстадийного ИФА. Принцип и последовательность проведения анализа представлены на рисунке 2.



Рис. 2. Количественное определение аФЛ методом непрямого двухстадийного ИФА

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Адаптировано из статьи, опубликованной в Материалах НПК в рамках VIII РКЛМ 2022: сборник тезисов. 2022, С. 189-190

РЕЗУЛЬТАТЫ

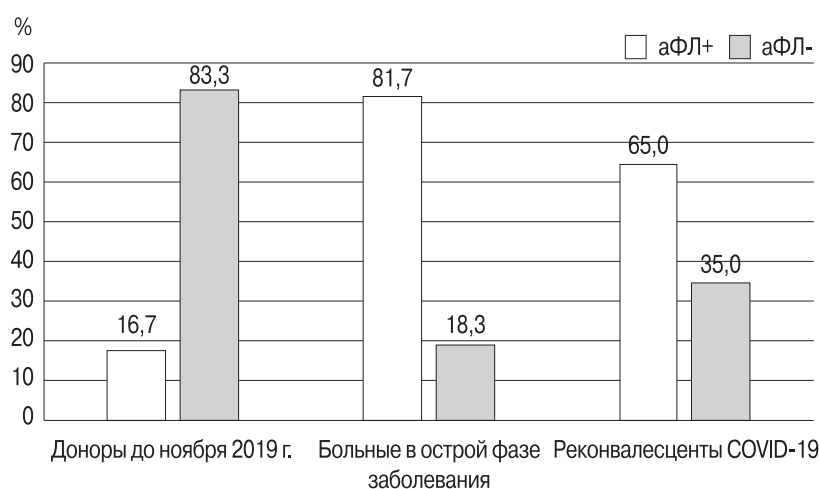


Рис. 3. Частота выявления аФЛ среди обследованных групп

В контрольной группе отмечена одинаково низкая встречаемость различных аФЛ (1,7-3,3%). У больных COVID-19 в острой фазе обнаружен, по крайней мере, один маркер АФС (рис. 3). У 20,8% пациентов выявлен более, чем один, у 25,0% - более, чем два типа аФЛ. Так, около 1/3 лиц с диагнозом COVID-19 имели высокую вероятность возникновения тромбозов.

Мониторинг профиля выявляемых аФЛ у реконвалесцентов показал смену доминирования аФС-ПТ IgG и аКЛ IgM в первые 6 месяцев на аКЛ IgG в дальнейшем (30,0% от всех аФЛ). Доля больных с наличием аФС-ПТ и отсутствием других аФЛ составила 6,7%. Не установлено достоверных различий во встречаемости каких-либо аФЛ в зависимости от тяжести COVID-19.

ВЫВОДЫ

Наравне с другими инфекциями COVID-19 является триггером выработки аФЛ [4]. У 54,2% обследованных обнаружен как минимум один тип аФЛ. Большинство аФЛ могут являться транзи-

торными и циркулировать кратковременно, не исключая риск развития тяжелого тромбо-воспалительного поражения легких при COVID-19.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb. Haemost.* 2006; 4(2): 295-306.
2. Tektonidou M.G., Andreoli L., Limper M., Amoura Z., Cervera R., Costedoat-Chalumeau N. et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann. Rheum. Dis.* 2019; 78(10): 1296-1304.

3. Zohoury N., Bertolaccini M.L., Rodriguez-Garcia J.L., Shums Z., Ateka-Barrutia O., Sorice M. et al. Closing the Serological Gap in the Antiphospholipid Syndrome: The Value of "Non-criteria" Antiphospholipid Antibodies. *J. Rheumatol.* 2017; 44(11): 1597-1602.

4. Serrano M., Espinosa G., Serrano A., Cervera R. Antigens and Antibodies of the Antiphospholipid Syndrome as New Allies in the Pathogenesis of COVID-19 Coagulopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(9): 4946.

Серологическая диагностика антифосфолипидного синдрома

Фролова Е.А., Михайлова Ю.В.

Общая информация (этиология, эпидемиология, клиника)

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Общая информация [1]

Изучение антифосфолипидного синдрома (АФС) началось в XX-ом веке, первые обобщённые данные о причинах возникновения и развитии данного заболевания были собраны Hughes G. в 1983 г. Он предположил, что в основе АФС лежит образование аутоантител к фосфолипидам в эндотелии, тромбоцитах, нервной ткани. Поскольку проявления АФС затрагивают работу различных систем и органов, а также имеют общий патогенез, в 2002 г. (Италия, Таормина) на X-ом международном конгрессе по антифосфолипидным антителам (АФЛ) было признано, что АФС является системным синдромом [1].

В настоящее время под АФС подразумевают системное аутоиммунное заболевание с широким спектром сосудистых и акушерских проявлений, связанных с тромботическими и воспалительными механизмами, спровоцированными АФЛ. Общие клинические признаки АФС включают венозную тромбоземболию (ВТЭ), инсульт, повторяющиеся ранние выкидыши, поздние потери беременности и пр. [2].

Фосфолипиды являются основными компонентами клеточных мембран и служат универсальной матрицей для запуска каскада коагулологических реакций и протекания естественных антикоагулянтных регуляций. АФЛ - это гетерогенная группа циркулирующих аутоиммунных и аллоиммунных (АФЛ, появляющиеся при инфекционной патологии или злокачественных новообразованиях) антител, представленная IgG, IgM и IgA, которые направлены против отрицательно заряженных и нейтральных фосфолипидов, а также фосфолипидсвязывающих белков. При АФС имеет место белок-опосредованное взаимодействие АФЛ с фосфолипидами. В качестве белков-кофакторов зачастую выступают β 2-гликопротеин 1 (β 2-ГП1) и протромбин, являющиеся нормальными составляющими плазмы крови. Связываясь с фосфолипидами, они образуют истинный антиген для АФЛ. Реже в качестве белков-кофакторов выступают протеины С и S, аннексин 5 (А5) и др. [1]. В настоящее время серологическая диагностика АФС основана на определении волчаночного антикоагулянта (ВА) и антител к кардиолипину (аКЛ) и к β 2-ГП1 (а β 2-ГП1) [3].

Этиология

В настоящее время причины АФС доподлинно не установлены. Пока не ясно, какие факторы (генетические и/или связанные с окружающей средой) приводят к образованию АФЛ, а также почему только у определенных индивидуумов с аутоантителами развиваются клинические проявления АФС. Известно, что повышение (как правило, транзиторное) уровня АФЛ в крови наблюдается на фоне широкого спектра бактериальных (лепра, туберкулез и заболевания, вызванные другими микобактериями, сальмонеллезы, стафилококковые, стрептококковые инфекции, Q-лихорадка и др.) и вирусных инфекций (гепатит С; инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр, вирусом иммунодефицита человека, цитомегаловирусом, парвовирусом В19, аденовирусом, вирусом герпеса 3-го типа, кори, краснухи и др.) [3, 4]. Также у пациентов с АФС частота развития системной красной волчанки (СКВ) и других аутоиммунных заболеваний, включая тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру и аутоиммунный тиреоидит, выше, чем в остальной популяции. Таким образом, генетические факторы, возможно, имеют значение в предрасположенности к АФС. У 33% родственников пациентов с АФС обнаруживаются АФЛ. Слабая корреляция отмечена между АФС и полиморфизмом рецепторов иммуноглобулина [3].

Согласно сиднейским рекомендациям (XI Международный конгресс по АФЛ, 2006, Сидней) всех пациентов с АФЛ подразделяют на два класса:

- АФС с дополнительными унаследованными или приобретенными факторами, способствующие тромбозу: возраст (>55 у мужчин, >65 у женщин), гипертензия, диабет, нарушение уровня липопротеинов низкой/высокой плотности, курение, наследственность, индекс массы тела >30, врожденная тромбофилия, прием пероральных контрацептивов и пр.

- АФС без дополнительных факторов [3].

Вместе с тем, женщины, соответствующие сиднейским критериям, у которых ранее не было тромботических эпизодов, квалифицируются как пациентки с акушерским АФС (ААФС).

Однако общепринятой клинической классификацией является разделение на **первичный и вторичный АФС**. О первичном АФС говорят при наличии его клинических признаков и отсутствии симптомов других заболеваний. Вторичный АФС может развиваться на фоне: аутоиммунных состояний и заболеваний соединительной ткани (СКВ, ревматоидный артрит, аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура, аутоиммунный тиреоидит, синдром Шегрена и др.), инфекционных заболеваний, приема лекарственных препаратов, злокачественных опухолей.

Отдельно выделяют **катастрофический АФС (КАФС)** как наиболее тяжелую форму заболевания, когда на фоне высокого титра АФЛ развиваются множественные тромбозы микроциркуляторного русла жизненно важных органов. Это приводит к развитию полиорганной недостаточности, напоминающей таковую при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдроме), инфаркта миокарда, поражения центральной нервной системы (инсульт, ступор, дезориентация), надпочечниковой недостаточности и другим проявлениям [1]. При развитии КАФС существует высокий риск летального исхода для пациента (смертность - около 37%) [5].

Эпидемиология

По оценкам различных исследователей, около 5% населения имеют циркулирующие АФЛ, при этом частота АФС составляет только 5 случаев на 100 тыс. человек. Одной из причин низкой частоты выявления АФС является то, что постановка данного диагноза требует одновременного наличия клинических и лабораторных данных, что не всегда представляется возможным [6, 5]. Средний возраст дебюта болезни - 31 год [7]. Подобно другим аутоантителам, концентрация АФЛ в организме увеличивается с возрастом. Вместе с тем, описаны случаи выявления АФЛ у детей, в том числе у новорожденных [1].

Среди здоровых людей высокие титры и стойкая положительная реакция на аутоантитела встречаются редко (менее 1%). Высокий риск выявления АФЛ и связанного с их циркуляцией клинического исхода (тромбоз/патология беременности) имеют пациенты с СКВ. В 50-70% случаев пациентам с СКВ и наличием АФЛ впоследствии ставится диагноз АФС. Также АФЛ обнаруживаются у 20% пациентов с ревматоидным артритом, у 14% пациентов с рецидивирующей ВТЭ [8]. АФЛ присутствуют примерно у 13% пациентов с инсультом, у 11% - с инфарктом миокарда [9].

Установлено, что АФС чаще встречается у женщин, чем у мужчин в соотношении 5:1 [3, 4]. Подобные гендерные различия сосудистых проявлений при первичном АФС были показаны в многоцентровом исследовании Moschetti L. et al. (2022). Показано, что тромбозы у женщин возникают в более молодом возрасте и чаще имеют венозную локализацию, в то время как у мужчин наблюдается повышенный риск рецидивирующих артериальных тромбозов, проявляющихся в более позднем возрасте. В тоже время авторы высказали предположение, что эти различия могут быть связаны не столько с гендерной принадлежностью обследованных, сколько с наличием дополнительных факторов риска [10].

В настоящее время особый интерес представляет изучение предиктивного значения АФЛ в развитии акушер-

ской патологии. В норме АФЛ выявляются у 1–5% здоровых женщин репродуктивного возраста. Вместе с тем, распространенность АФЛ среди данного контингента в последние годы неуклонно растет, до 29% женщин с неблагоприятными акушерскими исходами являются носителями АФЛ [11].

Результаты большинства работ свидетельствуют о том, что для АФС характерен любой тип синдрома потери плода, включая предимплантационные потери. Так, группа исследователей (De Oliveira Rodrigues V. et al., 2019) из Федерального университета Жуис-де-Фора (Gynecology Department, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Бразилия) опубликовали библиографический обзор статей из различных баз данных за последние 20 лет, в котором рассмотрена взаимосвязь АФС и бесплодия. Было проанализировано 31 исследование, во всех работах показана высокая ассоциативная связь между наличием АФЛ и женским бесплодием. В общей сложности 45% этих работ подтвердили связь между аКЛ и бесплодием; однако этот показатель снизился до 31%, когда была проанализирована связь с ВА. Только в 4 исследованиях оценивался аβ2-ГП1 и в 75% из них была выявлена положительная связь данного маркера АФС с бесплодием. В то время, как встречаемость аβ2-ГП1 и ВА была одинаковой как у бесплодных, так и у фертильных женщин, значительные различия показаны в частоте выявления аКЛ. Следует подчеркнуть, что в 25% проанализированных исследований использовался средне-высокий пороговый уровень для определения позитивности аКЛ и/или аβ2-ГП1 в соответствии с международными рекомендациями [12]. Кроме того, в последние годы появились публикации, в которых показана взаимосвязь между наличием АФЛ и неудачами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Так, анализ данных литературы ($n=17$), проведенный Papadimitriou E. et al. (2022), показал, что распространенность АФЛ, особенно аβ2-ГП1 и антител к фосфатидилсерину (аФС), значительно выше у женщин без диагноза АФС, переживших как минимум две неудачи имплантации при ЭКО, чем у пациенток с успешной имплантацией после ЭКО / женщин с минимум одной успешной спонтанной беременностью / здоровых фертильных женщин без истории ЭКО [13]. Подобные диагностические результаты были получены группой исследователей из Испании (Jarne-Borras M. et al., 2022). Проведенный ими метаанализ 17-ти работ продемонстрировал высокую степень вариабельности выявляемых АФЛ при рецидивирующей неудаче в имплантации: среди критерияльных антител АФЛ выделены IgG аКЛ (отношение шансов [ОШ] 5,02; 95% доверительный материал [ДИ]: 1,9–12,9), среди некритерияльных - аβ2-ГП1 IgA (ОШ 64,8; 95% ДИ: 9,7–431,0) и антифосфатидилглицерин-IgG (ОШ 10,7; 95% ДИ: 5,3–22,0) и IgM (ОШ 4,3; 95% ДИ: 1,8–0,3) [14]. Учитывая вышеописанное, женщинам с бесплодием в анамнезе, направленным на ЭКО, рекомендуется обязательное проведение исследования на наличие АФЛ.

Кроме того, на сегодняшний день АФЛ считаются доказанными предикторами привычного невынашивания беременности. Прерывание беременности может иметь место в любые сроки, выкидыш зачастую остается единственным симптомом у женщин с первичным АФС [1]. Alijotas-Reig J. et al. (2019) на значительной когорте пациенток ($n=1000$) с ААФС было показано, что наиболее частыми неблагопри-

ятными исходами были: привычное невынашивание беременности (38%), потеря плода (25%) и гибель плода (23%). Спектр обнаруженных АФЛ не отличался в зависимости от исхода ААФС, наиболее часто выявлялся ВА [15]. Ретроспективный анализ 4542 пациенток (из них у 272 человек был диагностирован первичный и у 42 - вторичный АФС) с рецидивирующим самопроизвольным аборт продемонстрировал следующее соотношение выявляемых АФЛ: аβ2-ГП1 IgM (151/48,1%), ВА (36/11,5%), аКЛ IgM (32/10,2%), аβ2-ГП1 IgM и аКЛ IgM (29/9,2%) и аКЛ IgG (16/5,1%). Исчезновение АФЛ после проведенного лечения способствовало благоприятным исходам беременности у женщин с диагнозом АФС [16].

Вместе с тем, вопрос взаимосвязи между привычным невынашиванием беременности и циркуляцией АФЛ требует дополнительного изучения. Так, рядом исследователей высказано предположение, что диагностика ААФС более актуальна во втором и третьем триместрах беременности при необъяснимом мертворождении или преждевременных родах из-за плацентарной недостаточности, чем при привычном невынашивании беременности, поскольку последнее может объясняться многими другими причинами, отличными от наличия АФЛ [11]. Исследование по изучению значимости АФЛ при внутриутробной гибели плода, проведенное Helgadottir L. V. et al. (2012), показало, что положительные результаты на аКЛ или аβ2-ГП1 были обнаружены в 9,5% случаев потери плода на 20-ой неделе

беременности. После исключения случаев мертворождения, связанных с другими объяснимыми причинами, положительные результаты на IgG и IgM аКЛ увеличивали вероятность гибели плода в 5 и 2 раза соответственно, а на аβ2-ГП1 IgG - в 3 раза. Следовательно, большинство изотипов выявляемых АФЛ были связаны с повышенным относительным риском мертворождения [17]. Более поздние публикации, касающиеся данного аспекта проблемы ААФС, установили подобный риск только при наличии ВА в отличие от обнаружения единичных положительных результатов на аКЛ или аβ2-ГП1 [18].

Наряду с другими, частым проявлением ААФС является фетоплацентарная недостаточность, проявляющаяся внутриутробной задержкой развития плода и его дистрессом. Частота развития фетоплацентарной недостаточности у пациенток с АФЛ, по данным различных исследователей, составляет 12,8–30% [1]. Также имеются немногочисленные данные о развитии ранней и тяжелой преэклампсии, эклампсии и отслойки плаценты (9,5–18, 4,4 и 2,0% соответственно) среди женщин с ААФС [11].

Клинические проявления АФС [1]

Являясь системным заболеванием, АФС обладает широким спектром клинических проявлений и может быть представлен как одним, так и множеством признаков со стороны различных систем органов (рис. 1).



Рис. 1. Частота различных клинических проявлений АФС [1]

Акушерский антифосфолипидный синдром [11]

Как и при других аутоиммунных заболеваниях, многие из пациенток с подозрением на ААФС не полностью соответствуют диагностическим критериям (Alijotas-Reig J.

et al., 2019; Pires da Rosa G. et al., 2020). Классификацию данных пациентов предложили Alijotas-Reig J. et al. (2022), она представлена в табл. 1.

Клинические и лабораторные критерии ААФС и его вариантов

ААФС*	Клинические критерии
	1. ≥ 3 выкидышей подряд до 10-ой недели беременности, 2. минимум одна потеря плода после 10-ой недели беременности, 3. минимум одни преждевременные роды до 34-ой недели беременности из-за преэклампсии/эклампсии или плацентарной недостаточности.
ААФС*	Лабораторные критерии
	1. два положительных теста на ВА с интервалом не менее 12 недель, 2. два положительных теста IgG или IgM аКЛ с интервалом не менее 12 недель, 3. два положительных теста IgG или IgM $\alpha\beta 2$ -ГП1 с интервалом не менее 12 недель.
АПАФС	Клинические критерии
	1. два последовательных необъяснимых выкидыша у правильно сформированных эмбрионов, 2. три и более непоследовательных выкидышей у правильно сформированных эмбрионов, 3. преэклампсия/эклампсия после 34-ой недели беременности или в послеродовом периоде, 4. отслойка плаценты, 5. поздние преждевременные роды, 6. преждевременный разрыв плодных оболочек, 7. необъяснимая рецидивирующая неудача имплантации при экстракорпоральном оплодотворении (неудачный перенос минимум трех эмбрионов хорошего качества).
	Лабораторные критерии
АПАФС	Соответствуют лабораторным критериям, описанным для ААФС.
НК-ААФС	Клинические критерии
	Соответствуют клиническим критериям, описанным для ААФС
	Лабораторные критерии
НК-ААФС	1. положительный результат на ВА, аКЛ или $\alpha\beta 2$ -ГП1 обнаружен только один раз, 2. низкие положительные титры IgG/IgM аКЛ или $\alpha\beta 2$ -ГП1, 3. стойкая положительная реакция на некритериальные АФЛ, включая IgA - аКЛ и $\alpha\beta 2$ -ГП1, 4. устойчивость к антикоагулянтной активности А5, 5. тромбоцитопения.

Примечание:

1. ААФС - критерии соответствуют действующим сиднейским критериям (2006) [3];
2. АПАФС - акушерская патология, связанная с АФЛ;
3. НК-ААФС - некритериальный акушерский АФС.

Некритериальный акушерский АФС выделяют в случае выявления единичного положительного результата тестирования или наличия АФЛ в низких титрах (критерии не соответствуют сиднейским). Вместе с тем, у таких женщин часто выявляются аутоантитела против других фосфолипидов, таких как фосфатидная кислота, ФС, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерин, фосфатидилэтаноламин или фосфатидилхолин; против кофакторов

таких, как протромбин, А5 или виментин; IgA аКЛ или IgA $\alpha\beta 2$ -ГП1. Все они относятся к некритериальным АФЛ.

С целью недопущения гипердиагностики АФС и исключения случайных находок, на наличие АФЛ должны быть протестированы пациенты с высокой вероятностью наличия данного заболевания. Подобные группы пациентов удалось выделить Devreese K.M.J. et al. (2021) (табл. 2).

Таблица 2

Отбор пациентов с подозрением на АФС для тестирования на АФЛ [19]

На наличие ВА, аКЛ и $\alpha\beta 2$ -ГП1 должны быть протестированы	<ol style="list-style-type: none"> 1. лица с: <ul style="list-style-type: none"> - ВТЭ в нетипичных для данной патологии локализациях; - микрососудистым тромбозом; - рецидивирующей ВТЭ, вызванной проведением антикоагулянтной терапии с профилактической целью, несоблюдением пациентом режима лечения или злокачественной опухолью; - СКВ; 2. молодые пациенты (<50 лет) с: <ul style="list-style-type: none"> - ничем неспровоцированной ВТЭ; - ишемическим инсультом, транзиторной ишемической атакой или другими признаками ишемии головного мозга; - артериальным тромбозом иных локализаций; 3. пациентки с осложнением беременности: потеря плода после 10 недель, рецидивирующие выкидыши на ранних сроках (I триместр), недоношенность (<34 недель гестации), тяжелая (пре)эклампсия, HELLP-синдром (синдром-гемолиз (Hemolysis), повышение активности ферментов печени (Elevated Liver enzymes) и тромбоцитопения (Low Platelet count), плацентарная недостаточность (задержка роста плода), мертворождение.
--	---

<p>Тестирование на ВА, аКЛ и аβ2-ГП1 может быть рекомендовано</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. молодым пациентам (<50 лет): <ul style="list-style-type: none"> • с некритериальными клиническими проявлениями (в соответствии с сиднейскими рекомендациями, 2006) такими, как: иммунная тромбоцитопения, особенно при наличии артралгий или артрита; сыпь; тромбоэмболия с положительными серологическими маркерами аутоиммунного заболевания; сетчатое ливедо, особенно при наличии симптомов/лабораторных маркеров других системных аутоиммунных заболеваний или легкой тромбоцитопении; когнитивная дисфункция; пороки клапанов сердца с наличием признаков других системных аутоиммунных заболеваний; АФЛ-ассоциированная нефропатия; • после ВТЭ, когда провоцирующий фактор окружающей среды непропорционально слаб. 2. пациентам с недифференцированными заболеваниями соединительной ткани (преимущественно СКВ-подобными) для выявления бессимптомных носителей и их описания с целью предотвращения сосудистых осложнений; 3. пациентам с необъяснимым удлинением активированного частичного тромбопластинового времени, выявленным случайно.
--	---

Литература

1. Антифосфолипидный синдром - иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии. Под ред. Макацария А.Д. 2-е изд. М.: Триада-Х, 2013. 485 С.
2. Tektonidou M.G., Andreoli L., Limper M., Amoura Z., Cervera R., Costedoat-Chalumeau N. et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann. Rheum. Dis.* 2019; 78(10): 1296-1304.
3. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb. Haemost.* 2006; 4(2): 295-306.
4. Решетняк ТМ. Антифосфолипидный синдром: диагностика и клинические проявления (лекция). Научно-практическая ревматология. 2014; 52(1): 56-71.
5. Cohen H., Cuadrado M.J., Erkan D., Duarte-Garcia A., Isenberg D.A., Knight J.S. et al. 16th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Treatment Trends. *Lupus.* 2020; 29(12): 1571-93.
6. Oliveira D.C., Correia A., Oliveira C. The Issue of the Antiphospholipid Antibody Syndrome. *Clin. Med. Res.* 2020; 12(5): 286-292.
7. Козловская Н.Л., Коротчаева Ю.В. Национальные рекомендации по диагностике и лечению нефропатии, ассоциированной с антифосфолипидным синдромом. 2015. 19 С.
8. Bustamante J.G., Goyal A, Singhal M. Antiphospholipid Syndrome. 2022. Available at: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; 2022. PMID: 28613698.
9. Negrini S., Pappalardo F, Murdaca G., Indiveri F, Puppo F. The antiphospholipid syndrome: from pathophysiology to treatment. *Clin. Exp. Med.* 2017; 17(3): 257-67.
10. Moschetti L., Dal Pozzolo L., Le Guern V., Morel N., Yelnik C.M., Lambert M. et al. Gender differences in primary antiphospholipid syndrome with vascular manifestations in 433 patients from four European centres. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2022; 40 Suppl 134(5): 19-26.
11. Alijotas-Reig J., Esteve-Valverde E., Anunciacion-Llunell A., Marques-Soares J., Pardos-Gea J., Miro-Mur F. et al. Pathogenesis, Diagnosis and Management of Obstetric Antiphospholipid Syndrome: A Comprehensive Review. *Clin. Med.* 2022; 11(3): 675.
12. Rodrigues V.O., Soligo A.G.E.S., Pannain G.D. Antiphospholipid Antibody Syndrome and Infertility. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2019; 41(10): 621-7.
13. Papadimitriou E., Boutzios G., Mathioudakis A.G., Vlahos N.F., Vlachoyiannopoulos P., Mastorakos G. et al. Presence of antiphospholipid antibodies is associated with increased implantation failure following in vitro fertilization technique and embryo transfer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2022; 17(7): e0260759.
14. Jarne-Borras M., Miro-Murb F., Anunciacion-Llunell A., Alijotas-Reig J. Antiphospholipid antibodies in women with recurrent embryo implantation failure: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun. Rev.* 2022; 21(6): 103101.
15. Alijotas-Reig J., Esteve-Valverde E., Ferrer-Oliveras R., Saez-Comet L., Lefkou E., Mekinian A. et al. EUROAPS Study Group. The European Registry on Obstetric Antiphospholipid Syndrome (EUROAPS): A survey of 1000 consecutive cases. *Autoimmun. Rev.* 2019; 18(4): 406-14.
16. Liu Z., Sun S., Xu H., Zhang X., Chen C., Fu R. et al. Prognostic analysis of antibody typing and treatment for antiphospholipid syndrome-related recurrent spontaneous abortion. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2022; 156(1): 107-11.
17. Helgadottir L.B., Skjeldestad F.E., Jacobsen A.F., Sandset P.M., Jacobsen E.M. The association of antiphospholipid antibodies with intrauterine fetal death: a case-control study. *Thromb. Res.* 2012; 130(1): 32-7.
18. Silver R.M., Parker C.B., Reddy U.M., Goldenberg R., Coustan D., Dudley D.J. et al. Antiphospholipid antibodies in stillbirth. *Obstet. Gynecol.* 2013; 122(3): 641-57.
19. Devreese K.M.J., Zuily S., Meroni P.L. Role of antiphospholipid antibodies in the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Transl. Autoimmun.* 2021; 4: 100134.
20. Аржанова О.Н., Кузнецова А.В. Лечение плацентарной недостаточности у беременных с антифосфолипидным синдромом и варикозной болезнью. *Consil. medic.* 2006; 8(6): 28-30.

Михайлова Ю.В., Фролова Е.А., Обрядина А.П.

Лабораторная диагностика антифосфолипидного синдрома

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

При постановке диагноза АФС специалисты лабораторной службы и клиницисты сталкивались с трудностями в диагностике данного заболевания. С одной стороны, это связано с многообразием клинических и лабораторных проявлений АФС. С другой стороны - обусловлено техническими особенностями создания тестов и проблемой стандартизации в интерпретации результатов тестирования с использованием разного рода методов и диагностикомов разных производителей.

1. Клинические и лабораторные критерии АФС

Первые клиничко-лабораторные критерии АФС были разработаны в 1998 г. экспертами международного симпозиума в японском г. Саппоро. Они значительно ограни-

чили клинические критерии АФС, лабораторная диагностика была основана на выявлении антител к кардиолипину (аКЛ) классов G, M и обнаружении волчаночного антикоагулянта (ВА) [1]. В австралийском г. Сидней (2006) был произведен последний пересмотр критериев этого заболевания. В результате чего была изменена трактовка клинических проявлений АФС, а в лабораторные критерии добавлены антитела к $\beta 2$ -гликопротеину 1 ($\alpha\beta 2$ -ГП1) [2]. В основе современной диагностики АФС до сих пор лежат австралийские критерии, принятые в 2006 г. Обобщенные данные по диагностике и лечению АФС у взрослых лиц были представлены в 2019 г. в рекомендациях Европейской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism, EULAR) [3].

Таблица 1

Клинические и лабораторные критерии АФС [1, 2, 3]

Клинические критерии	
Сосудистый тромбоз	один или более клинических эпизодов артериального, венозного или тромбоза мелких сосудов в любой ткани или органе
Патология беременности	а) одна и более необъяснимая гибель плода ≥ 10 -ой недели гестации, или б) одни и более преждевременные роды < 34 -х недель гестации из-за эклампсии, тяжелой преэклампсии или признаков плацентарной недостаточности, или в) три и более необъяснимых последовательных аборт < 10 -ой недели беременности
Лабораторные критерии	
Антитела к кардиолипину (аКЛ)	выявление аКЛ классов IgG и/или IgM в сыворотке или плазме в среднем или высоком титре (т.е. > 40 единиц фосфолипида IgG (GPL) или единиц фосфолипида IgM (MPL), или более 99-го перцентиле здоровой популяции); обязательное повторное обнаружение не менее, чем через 12 недель с помощью стандартизованного ИФА
Антитела к $\beta 2$ -гликопротеину 1 ($\alpha\beta 2$ -ГП1)	выявление $\alpha\beta 2$ -ГП1 классов IgG и/или IgM в сыворотке или плазме в среднем или высоком титре (более 99-го перцентиле здоровой популяции); обязательное повторное обнаружение не менее, чем через 12 недель измеренные с помощью стандартизованного ИФА согласно рекомендуемым процедурам
Волчаночный антикоагулянт (ВА)	выявление ВА два или более раз, с промежутком между исследованиями не менее 12 недель, с помощью комплекса коагулологических тестов в соответствии с требованиями Международного общества изучения тромбозов и гемостаза (The international society on thrombosis and haemostasis, ISTH)

Примечание:

Диагноз АФС ставится при наличии как минимум одного клинического и одного лабораторного критерия, подтвержденных дважды в течении 12 недель. Подтверждение положительного результата спустя 12 недель было добавлено к классификационным критериям, для избегания гипердиагностики и исключения транзиторных антифосфолипидных антител [1].

Диагноз исключается, если положительные лабораторные тесты и клинические проявления наблюдаются раздельно в течение 12 недель или на протяжении отрезка времени более 5 лет [2, 4].

Следует отметить, что некоторые клинические проявления не вошли в классификационные критерии АФС: заболевания сердца, сетчатое ливедо, тромбоцитопения, нефропатия, неврологические нарушения [1]. Следует отметить, что существует высокая распространенность некритерияльных клинических проявлений у детей с диагнозом АФС, что подчеркивает необходимость учета этих характеристик при разработке педиатрических классификационных критериев и при рассмотрении этого относительно редкого диагноза в педиатрической практике [5].

Также имеются лабораторные параметры, не вошедшие в классификационные критерии АФС: аКЛ IgA, $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgA, антитела к фосфатидилсерину, антитела к фосфатидилэтаноламину, антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин (аФС/ПТ), антитела к аннексину 5 (аА5) и т.д. [1, 6].

Профили критериальных аутоантител при АФС

В соответствии с действующими нормативными документами рекомендуется классифицировать пациентов с подозрением на АФС на категории по профилю выявленных маркеров: аКЛ, $\alpha\beta 2$ -ГП1, ВА, в соответствии с классом обнаруженных аутоантител. Для объективной оценки риска развития аутоиммунного заболевания предпочтительным является выполнение тестирования на все три вида лабораторных маркеров на одном и том же клиническом образце, а результаты теста на ВА всегда должны быть сопоставлены с результатами исследования на аКЛ и $\alpha\beta 2$ -ГП1.

Devreese K.M.J. et al. (2021) в обзоре дают оценку спектру антифосфолипидных антител (АФЛ), обращая внимания на то, что именно профиль аутоантител, а не результаты отдельных тестов определяют риск развития тромбоза или осложнений при беременности. В результате проведения динамического исследования на протяжении 13 лет было показано, что комбинированная положительная реакция на антитела к ВА, аКЛ и $\alpha\beta 2$ -ГП1 (т. е. тройная положительная реакция) коррелирует с наиболее высоким риском развития как первого инцидента тромбоза, так и его рецидива. Двойная или тройная положительная реакция на АФЛ является фактором риска будущих тромботических осложнений, особенно у лиц с сопутствующими аутоиммунными заболеваниями, тогда как одиночная положительная реакция, по-видимому, не связана с повышенным риском развития тромбоза. Пациенты, трижды положительные на АФЛ, обычно имеют стойкий профиль антител при последующем тестировании через 12 недель. Тем не менее, у лиц, позитивных только на один из маркеров АФС может быть также устойчивая положительная реакция - 93,3% случаев, по сравнению с пациентами с двойными и тройными положительными результатами (96,8 и 97,3% соответственно) [6].

Несмотря на то, что ВА является общепризнанным фактором риска развития тромбоза при АФС, имеются противоречивые данные о прогностической ценности изолированного выявления данного маркера при отсутствии антител к КЛ и $\beta 2$ -ГП1 (Reynaud Q. et al., 2014; Mustonen P. et al., 2014; Pengo V. et al., 2015). Вместе с тем, в ряде исследований показано прогностическое значение изолированного выявления ВА как фактора неблагоприятного ис-

хода беременности (Mattia E. et al., 2018), а также как предиктора тромбоза крупных сосудов (Yin D. et al., 2021). Изолированная положительная реакция на ВА означает, что у этих пациентов отсутствует связывание АФЛ через $\beta 2$ -ГП1 или протромбин в качестве кофактора и, следовательно, необходимы дальнейшие исследования для идентификации антигена-мишени для антител, ответственных за изолированную положительную реакцию на ВА.

Изолированное обнаружение аКЛ свидетельствует о циркуляции в организме пациента аутоантител, не связанных с кофакторами, и имеет ограниченное клиническое значение. Чаще всего причинами появления данных аутоантител являются наличие инфекционного агента или прием лекарственных средств. Аналогично вышесказанному, выявление изолированных $\alpha\beta 2$ -ГП1 зачастую не подтверждает связь с тромбообразованием [6, 7].

Некритериальные антифосфолипидные антитела

Антитела к другим фосфолипидам и кофакторным белкам не имеют достаточного уровня доказательности в диагностике АФС. В случаях, когда имеются клинические подозрения на АФС, а результаты тестирования на АФЛ не соответствуют ожидаемым, некритериальные маркеры могут быть использованы для уточнения дифференциального диагноза у пациентов с неполным профилем аутоантител (двойные или единичные положительные результаты) [6]. В ряде случаев обнаружение этих антител рассматривается как "пре-АФС"/"вероятный АФС" и предшествует развитию тромботических осложнений [8]

Антикардиолипидные IgA и анти- $\beta 2$ -гликопротеиновые антитела IgA

На настоящий момент аКЛ и $\alpha\beta 2$ -ГП1 изотипа IgA не включены в текущие критерии АФС и их диагностическое значение не установлено (Chayoua W. et al., 2020). Изолированное их выявление IgA встречается редко, наиболее часто данные антитела обнаруживаются в ассоциации с IgG и/или IgM. На сегодня нет убедительных доказательств, позволяющих рекомендовать тестирование на IgA аКЛ и/или IgA $\alpha\beta 2$ -ГП1 для повышения точности диагностики АФС [6]. Вместе с тем, в ряде работ показана связь между клиническими симптомами АФС и наличием IgA аКЛ/ $\alpha\beta 2$ -ГП1, в том числе при системной красной волчанке (СКВ) (Elkhalifa M. et al., 2021).

Коллектив авторов (Zhai X. et al., 2021) в своей работе (Peking University Third Hospital, Пекин, Китай) оценили изолированное выявление аКЛ IgA и $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgA как потенциального фактора риска развития осложнений беременности у пациенток с АФС. В исследование были включены 381 пациентка с АФС и 93 здоровые беременные женщины. С использованием коммерческих наборов реагентов пациенты были обследованы на IgA/IgG/IgM $\alpha\beta 2$ -ГП1 и IgA/IgG/IgM аКЛ. Общая частота обнаружения аКЛ IgA составила 2,9%, $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgA - 3,4%. Изолированное обнаружение аКЛ IgA выявлено у 1,3% обследованных лиц (5/381), а $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgA у 0,8% (3/381). На основе полученных данных Zhai X. et al. сделали заключение о том, что диагностическое значение аКЛ IgA и $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgA были чрезвычайно низкими для каждого изолированно выявлен-

ного изотипа данных АФЛ. Вместе с тем, у пациенток с уже установленным диагнозом АФС выявление аКЛ IgA можно использовать в качестве маркера высокого риска потери плода [9].

Антитела к домену 1 (аД1) β 2 гликопротеина 1

Антитела к Д1 представляют собой подгруппу антител к β 2-ГП1, направленных против одного из пяти доменов, входящих в состав данного протеина. Известно, что антитела, распознающие специфический эпитоп глицин40-аргинин43 (G40-R43) в Д1, предположительно имеют ассоциацию с развитием тромбоза.

Существуют различные методы выявления аД1, которые отличаются по своей специфичности [6]. Вместе с тем, в большинстве исследований, проведенных как с помощью коммерческих тестов на основе хемилюминесценции (направлены на выявление всей популяции антител против Д1), так и с использованием "in-house" ИФА-тестов (для выявления более специфической субпопуляции аД1 (против G40-R43), не показали значимой корреляции между выявлением аД1 и рисками развития тромбоза или патологии беременности. Последний вариант теста был создан Yin D. et al. (2018) из Института сердечно-сосудистых исследований Маастрихта (Cardiovascular Research Institute Maastricht, Маастрихт, Нидерланды), на основе которого авторы оценивали дополнительную ценность аД1 путем добавления данных аутоантител или полной замены а β 2-ГП1 в изучаемой панели АФЛ. Исследователи пришли к выводу о противоречивых результатах в отношении корреляции аД1 с клиническими симптомами и их дополнительной ценности в качестве критерия диагностики АФС [10]. Противоположное заключение сделали Zuily S. et al. (2020). Авторы провели проспективное многоцентровое когортное исследование (43,1 \pm 20,7 месяца), в которое были включены пациенты с АФЛ, с СКВ ($n=137$). В результате они установили, что ИФА-тесты на аД1 являются значимыми предикторами тромбоза с годами у лиц с наличием АФЛ / диагнозом АФС и могут быть полезны для стратификации риска [11].

В настоящее время считается, что дополнительное обнаружение аД1 вместе с тройной положительной реакцией на ВА, аКЛ и а β 2-ГП1 свидетельствует о более высоком риске возникновения тромбоза на поздних сроках беременности, в тоже время выявление аутоантител к другим доменам β 2-ГП1 не являются предиктором тромботических осложнений или патологии беременных. Также аД1 могут быть использованы для подтверждения специфичности антител к β 2-ГП1, в частности, у пациентов с неполным профилем аутоантител [5].

Анти-фосфатидилсерин/протромбиновые антитела

Обзор роли антител к ФС/ПТ у пациентов с тромботическим АФС свидетельствует об их значимости в оценке риска тромбоза в дополнение к основным критериям АФЛ. Выявление аФС/ПТ может быть полезным для установления АФС, серонегативного по основным маркерам, у пациентов, отвечающим клиническим критериям заболевания (Sciascia S. et al., 2014).

В работе Zohoury N. et al. (2022) описаны профили не-

критериальных антител у пациентов, серонегативных по основным маркерам АФС, и дана оценка их клинической значимости в отдельности и в комбинации. С целью выявления некртериальных АФЛ, включая аФС/ПТ, было обследовано 68 пациентов с клиническими проявлениями АФС и отсутствием критериальных маркеров. Установлено, что изолированные аФС/ПТ служат наиболее эффективным параметром из всех проанализированных в работе некртериальных маркеров, данные антитела были выявлены у 11,8% обследованных лиц [8]. Аналогичные и даже более убедительные данные были получены в двух ретроспективных исследованиях пациентов с серонегативным АФС, в которых показано, что около 50% таких лиц являются положительными на аФС/ПТ (Ganapati A. et al., 2019; Zigon P. et al., 2019). Некоторые исследователи полагают, что клиническая значимость и чувствительность анализов на аФС/ПТ сравнимы с тестами на аКЛ [12].

Вместе с тем, имеются сведения о корреляции аФС/ПТ с наличием ВА, что позволяет некоторым авторам рекомендовать выявление данного некртериального маркера в качестве замены тестов на ВА у пациентов, получавших антикоагулянты. Профиль АФЛ с двойной положительной реакцией на аКЛ и а β 2-ГП1 и позитивным результатом на аФС/ПТ может указывать на ложноотрицательный ВА. А отрицательный тест на аФС/ПТ в таких случаях указывает на более низкий риск развития тромботических осложнений [8].

Антитела к аннексину 5

Одним из обсуждаемых некртериальных маркеров АФС являются антитела к А5 (аА5). Аннексин 5 - это гликопротеин, который связывается с отрицательными фосфолипидами, такими как фосфотидилсерин. Предполагается, что он образует защитный антикоагулянтный слой на эндотелиальных клетках сосудов и комплекс а β 2-ГП1 - β 2-ГП1 могут нарушать этот слой и, следовательно, приводить к появлению тромба. В связи с такой выраженной гетерогенностью остается спорным вопрос о связи антител против А5 с клиническими проявлениями. Так, в работе Singh N.K. et al. (2013) аА5 обнаружены в 62% случаев у пациентов с диагнозом АФС и только у 7% здоровых людей. В противоположность этому в исследовании Laa B. et al. (2006) не обнаружено связи между аА5 и наличием тромбоза в анамнезе у 198 пациентов с первичным АФС, СКВ или волчаночноподобным заболеванием. Вместе с тем, показана значимость выявления аА5 в качестве прогностического критерия для потери плода у женщин с необъяснимой первичной рецидивирующей ранней потерей плода, пациенток с и без предшествующей акушерской патологией. В 2016 Scholz P. et al. был описан случай выявления аутоантител к А5 в высокой концентрации у пациентки с повторяющимися выкидышами, фульминантным инсультом и серонегативным АФС.

В качестве механизма развития АФС была предложена резистентность к А5. Анализ на резистентность к А5 позволяет выявлять пациентов с антителами, опосредованно влияющими на антикоагулянтные свойства А5 на поверхности эндотелия. Это подтверждается резистентностью к А5 в условиях *in vitro* (Wolgast LR. et al., 2016). Этот тест был проверен на 750 пациентах с тромбозами и/или осложнениями беременности в сравнении с контрольной группой ($n=65$).

Было обнаружено снижение антикоагулянтного коэффициента у пациентов с аА5 с тромбозом и/или осложнениям беременности в анамнезе, по сравнению с обследованными лицами с отрицательными результатами на аА5 и контролем. Полученные данные позволили авторам предположить, что снижение резистентности к А5 сможет выявить пациентов с предрасположенностью к тромбозам или осложнениям беременности [13].

В настоящее время работа по изучению значимости некритериальных лабораторных показателей АФС продолжается. Пациенты с клиническими признаками, но с отрицательным результатом на маркеры по принятым критериям, должны пройти дополнительное тестирование на некритериальные маркеры для выявления серонегативного АФС. По данным литературы около трети таких лиц имеют положительную реактивность на один или более некритериальных маркеров [8]. В настоящее время предпринимается международная междисциплинарная инициатива по разработке новых всеобъемлющих критериев классификации АФС с включением новых серологических маркеров для выявления и стратификации пациентов с антифосфолипидным синдромом с целью более эффективного лечения и ведения таких лиц [8, 14].

2. Тесты для диагностики маркеров АФС: технические особенности, проблемы стандартизации и интерпретации результатов

На сегодня определение ВА основано на коагулологических тестах, в то время как аКЛ и а β 2-ГП1 измеряют с помощью твердофазных иммунологических анализов. Следует отметить, что одним из значимых преимуществ измерения АФЛ с помощью твердофазных анализов является неподверженность влиянию антикоагулянтной терапии или белков острой фазы в сравнении с коагулологическими тестами на ВА. С момента введения Сиднейских лабораторных критериев АФС стали доступны разные методы обнаружения АФЛ: хемилюминесцентный, фермент-связанный флуоресцентный, мультиплексный иммуноанализы и т.д. Вместе с тем, традиционно обнаружение аКЛ и а β 2-ГП1 проводят с помощью твердофазного ИФА [14, 15]. Разнообразие существующих методологических подходов к диагностике серологических маркеров ведет к варибельности результатов определения аутоантител и их интерпретации, что, в свою очередь, может привести к ошибкам в постановке диагноза. К высокой варибельности между различными твердофазными анализами приводит отсутствие универсальных калибраторов или стандартов. Также возможно получение ложноотрицательных результатов на критериальные маркеры вследствие недостаточной чувствительности методов их определения.

Исходя из вышесказанного первостепенное значение имеет решение вопросов верификации используемых лабораторных методов и стандартизации в интерпретации получаемых результатов.

Проблема унификации тестирования аутоантител рассмотрена рабочей группой по стандартизации Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (International Federation of Clinical Chemistry and

Laboratory Medicine, IFCC) в обзоре Monogioudi E. et al. (2018). Авторами описаны факторы, способствующие варибельности лабораторных тестов:

1. Растущее число методов диагностики *in vitro* с широким разнообразием форматов, реагентов (варибельность калибраторов, ферментных субстратов, антигенов и антител) и систем обнаружения сигнала могут привести к результатам, отличающимся даже для измерения одного и того же анализа.

2. Многие методы, особенно ручные ИФА, имеют высокий коэффициент варибельности/вариации (CV) для воспроизводимости и сходимости.

3. Шкалы измерения, используемые в разных методах для диагностики одного и того же анализа, могут отличаться в несколько раз. Кроме того, концентрации антител часто выражаются в произвольных единицах, что увеличивает расходимость результатов. Это, в свою очередь, ведет к отличиям в классификации пациентов (Hutu D.P. et al., 2016). В некоторых случаях разные методы диагностики используют одни и те же единицы измерения, но интерпретация результатов отличается у разных производителей.

4. Имеются значительные различия в чувствительности и специфичности тестов (между сериями одного производителя, диагностикумами разных компаний).

5. Имеются трудности в калибровке измерений аутоантител, в частности, перевод от сигнала метода (например, оптической плотности - ОП) в единицы метода, как правило, с помощью калибровочной кривой. Калибровочная кривая обычно не является линейной, а имеет сигмоидную форму, например, для ИФА. При этом, количество используемых калибровочных точек может быть недостаточное, чтобы охватить весь диапазон концентраций или имеет большой разброс значений. Любое отклонение в любом стандарте может сильно исказить стандартную кривую, чтобы изменить интерпретацию пограничных результатов. Уплотненная кривая, наблюдаемая при низких и высоких концентрациях, может дать высокую аналитическую неточность как для внутри-, так и межсерийного воспроизведения. Подобные трудности калибровки результатов были отмечены в работе Hutu D.P. et al. (2016) при анализе аутоантител, в которой CV для результатов, представленных в единицах метода, был намного выше, чем для необработанных значений ОП. Оптимизация метода калибровки является необходимой для получения наиболее точных значений концентрации антител при клинически критических значениях.

6. Антитела, полученные даже от одного пациента, будут отличаться аффинностью и avidностью. Реактивность аутоантител может меняться у пациента с момента постановки диагноза, в процессе лечения и в последующий период. Вместе с тем, методы, описывающие измерение одного и того же анализа, по сути выявляют только определенные небольшие части трехмерной молекулы антигена. Оба эти фактора способствуют низкой корреляции между разными методами: образец от одного и того же пациента будет показывать более низкие/высокие значения в одном методе относительно другого теста [16].

Учитывая представленные выше основные причины, обуславливающие различия между тестами на аутоантитела разных производителей, одним из решений данного вопроса является разработка и внедрение сертифициро-

ванных эталонных материалов (СЭМ). Использование СЭМ необходимо для валидации тестов при их первом применении (внутренний контроль качества) и для постоянного мониторинга качества проведения тестирования (процедуры проведения внешней оценки качества). В ряде исследований по проведению внешней оценки качества была продемонстрирована как внутри-, так и межметодная вариация даже при использовании одних и тех же единиц измерения (Meroni P.L. et al., 2014). Вместе с тем, как отмечают Devreese K.M.J. et al. (2021) в своей статье о роли АФЛ в диагностике АФС, существует ряд сложностей во введении международного стандарта. Для большинства анализов на аутоантитела в качестве эталонных материалов используются высокотитражные сыворотки пациентов. Однако биологический материал, положительный на аутоантитела, ограничен в получении и может варьироваться от серии к серии. Альтернативой являются моноклональные антитела, обладающие неограниченным производством и воспроизводимостью в течение времени, но, возможно, не являются репрезентативными для реактивности поликлональных АФЛ пациента, а также коммерчески недоступными. Моноклональные антитела человека, полученные от пациентов с АФС, могут стать подходящей альтернативой [17].

В настоящее время проводятся многочисленные исследования по разработке эталонных материалов для стандартизации тестирования на АФЛ. Для определения АФЛ были разработаны:

- E.N. Harris стандарт (Louisville APL Diagnostics, Луисвилл, США) - первая попытка глобальной стандартизации тест-систем для диагностики АФС на основе первых радиоиммунных методов (Ткаченко О.Ю. с соавт., 2017);
- стандарт Sapporo IgG (HCAL) - международный стандарт для контроля качества ИФА-тестов к аКЛ IgG и а β 2-ГП1 IgG (Werfen, Барселона, Испания) (<https://www.werfen.com/pt/pt-pt/igg-sapporo-standard-hcal>);
- стандарт Sapporo IgM (EY2C9) - международный стандарт для контроля качества ИФА-тестов к аКЛ IgM и а β 2-ГП1 IgM (Werfen, Барселона, Испания) (<https://www.werfen.com/pt/pt-pt/igm-sapporo-standard-ey2c9>);
- моноклональные антитела к КЛ (Koike T., 1992).

Вместе с тем, доступность этих стандартов ограничена. На сегодня не существует общепринятого "золотого" стандарта или международного СЭМ для измерения АФЛ, поэтому проблема сопоставимости результатов между тестами различных производителей на сегодня не теряет своей актуальности.

Антитела к кардиолипину и к β 2-гликопротеину1

В дальнейшем будут рассмотрены технические особенности создания диагностикомов на маркеры АФС и интер-

претация результатов тестирования для оценки риска развития тромбоза.

В настоящее время для выявления аКЛ и а β 2-ГП1 наиболее широкое применение получил метод твердофазного ИФА, именно на этом методе основаны текущие лабораторные критерии АФС. В основе иммунологического анализа лежит взаимодействие антигена (КЛ/ β 2-ГП1), нанесенного на твердую фазу, с антителами из плазмы или сыворотки крови пациента (в случае их присутствия). Реагенты содержат антивидовые антитела к IgG или IgM человека, с ферментной меткой, которые могут связываться с Fc-частью антител пациента. При взаимодействии субстрата с конъюгатом будет происходить реакция (цветовая, хемилюминесцентная или флуоресцентная), которую измеряют детектором (рис. 1). Сравнение сигнала с калибровочной кривой дает количественную оценку титра антител [6].

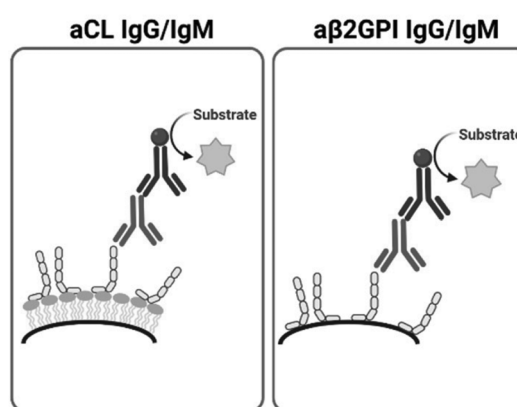


Рис. 1. Схема твердофазного метода для выявления аКЛ IgG/IgM и а β 2-ГП1 IgG/IgM [14]

Рекомендуется обращать внимание на наличие кофактора β 2-ГП1 при выборе тест-системы для определения аКЛ [18]. Поскольку β 2-ГП1 повышает специфичность для клинически значимых аКЛ по сравнению с независимыми от кофактора данными аутоантителами, возникающими преимущественно при инфекционных заболеваниях. В анализах на а β 2-ГП1 антиген β 2-ГП1 непосредственно находится на твердой фазе [14]. Отмечено, что при методологически правильных определениях аКЛ (β 2-ГП1-зависимом) наблюдается высокая корреляция между аКЛ и а β 2-ГП1 (Devreese K.M.J. et al., 2018; Chayoua W. et al., 2019). В этом контексте однократный положительный результат на аКЛ должен быть повторно проверен другим типом анализа. В случае, если а β 2-ГП1 отрицательны, то аКЛ распознают другие связывающие белки, отличные от β 2-ГП1, клиническая значимость которых неизвестна. При наличии в исследуемом образце аутоантител, направленных только против 4-го домена белка, анализ будет положительный а β 2-ГП1 при отрицательном результате на аКЛ. Антитела к 4-му домену β 2-ГП1 считаются непатогенными по сравнению с аД1, которые в большей степени коррелируют с тромбозами и акушерскими осложнениями [6].

Для решения ряда методологических проблем на основе рекомендаций ISTH в 2014 г. были созданы положения по обнаружению АФЛ с помощью твердофазных анализов (табл. 2) [18].

Рекомендации по оптимизации лабораторного обнаружения АФЛ с помощью твердофазных анализов [18]

Раздел	Рекомендации
Отбор пациентов	<ul style="list-style-type: none"> повсеместное выявление АФЛ не рекомендуется во избежание случайных результатов; тестирование должно быть направлено на пациентов более молодого возраста (<50 лет) с венозной/артериальной тромбоэмболией неясной этиологии, тромбозом необычной локализации или тромботическими /акушерскими осложнениями, связанными с аутоиммунным заболеванием.
Взятие крови	<ul style="list-style-type: none"> сыворотка или цитратная плазма крови; если используется тип образца, отличный от указанного производителем, должна быть подтверждена спецификация анализа; образцы должны храниться при температуре 2-8 °С (для более длительного хранения - при температуре -20 °С и ниже), тестирование образцов должно быть проведено в течение 2-3 дней, следует избегать многократного замораживания-оттаивания.
Подбор тестов	<ul style="list-style-type: none"> нужно принимать во внимание, что аКЛ должны быть β2-ГП1-зависимыми; в качестве источника β2-ГП1 следует использовать человеческий β2-ГП1.
Технические характеристики тест-систем	<ul style="list-style-type: none"> межпостановочная воспроизводимость: <20% для ИФА и <10% для автоматизированных систем; внутренний контроль качества должен быть в каждом тесте в виде отрицательного и положительного контрольного материала (коммерческий материал или материал пациента); в каждый цикл должен быть включен по крайней мере один отрицательный и положительный контрольный материал (коммерческий материал или материал пациента), не входящий в состав набора; результат анализа не подлежит учету, если хотя бы один контрольный образец выходит за пределы допустимого диапазона значений; настоятельно рекомендуется участие во внешнем контроле качества; должна быть единая шкала оценки значений для отрицательного контроля и исследуемых образцов пациентов; образцы со значениями выше аналитического диапазона измерения теста должны быть разбавлены и протестированы повторно или указаны как "значение выше верхнего диапазона измерений"; значения ниже пределов обнаружения следует сообщать как "значение ниже нижнего предела обнаружения"; при интерпретации результатов при получении подпорогового значения следует учитывать неточность теста; клиническая эффективность результатов тестов должна быть оценена в сравнении с данными анамнеза пациента на наличие тромботических/акушерских осложнений.
Интерференты	<ul style="list-style-type: none"> ревматоидный фактор может давать ложноположительный результат на IgM аКЛ и αβ2-ГП1; необходимо избегать постановки желтушных, гемолитических и липемичных проб; гетерофильные антитела, человеческие антитела против антигенов животного происхождения и высокие уровни (моноклональных) иммуноглобулинов могут давать ложноположительные результаты.
Единичное тестирование и постановка в дублях	<ul style="list-style-type: none"> в ручном варианте ИФА постановку калибраторов, контролей и образцов пациентов следует проводить в дублях; для автоматизированной постановки (при погрешности <10%) тестирование образцов пациентов и контролей может проводиться в одном повторе и постановка в дублях для калибраторов.
Стандарты и калибраторы	<ul style="list-style-type: none"> следует определять прослеживаемость калибровочных проб по отношению к первичному стандарту; вторичные калибраторы можно использовать в повседневной практике; калибровочная кривая должна иметь не менее шести точек, покрывающих весь диапазон значений.
Оценка результата	<ul style="list-style-type: none"> нет унифицированных международных единиц; результаты выражаются в соответствии с калибровочной кривой; значения за нижним и верхним пределами обнаружения интерпретируются как "значение ниже/выше предела обнаружения".
Пороговые значения	<ul style="list-style-type: none"> следует использовать пороговые значения, определенные для данного сочетания реагентов при определенном методе исследования; для расчёта 99-го перцентиля необходимо провести тестирование не менее чем на 120 образцах плазмы или сыворотки либо; либо не менее 20 здоровых доноров местной популяции, пороговые значения производителя могут быть изменены; пороговые значения производителя могут быть перенесены, если при используемом статистическом методе результаты, полученные для донорской когорты, сопоставимы с общей популяцией; при наличии возможности пороговые значения должны быть проверены на сопоставимость результатов лабораторной диагностики с клиническими проявлениями тромбоза или акушерской патологии у местного населения.
Интерпретация результатов и отчетность	<ul style="list-style-type: none"> результаты АФЛ следует интерпретировать с учетом клинического статуса обследованных лиц; указывается, являются ли результаты положительными или отрицательными в зависимости от метода и порогового значения; учитываются рабочие характеристики тест-систем; как клинически значимые рассматриваются только постоянно положительные результаты, подтвержденные повторным тестированием с интервалом в 12 недель; для повышения диагностической ценности все три анализа (ВА, аКЛ и αβ2-ГП1) выполняются на одном и том же образце крови; интерпретацию по всем трем анализам следует проводить в комплексе; отчет об аналитических результатах должен сопровождаться комментариями по интерпретации результатов анализа.

Существующие различия между тест-системами, особенно между ИФА и другими методами лабораторной диагностики, приводит не только к вариабельности положительных/отрицательных результатов тестов, но и к отличиям в интерпретации количества выявляемых аутоантител. Данный факт затрудняет классификацию по содержанию определяемых АФЛ: низкий/средний/высокий титр, от которой зависит оценка риска тромботических осложнений. Программы внешнего контроля качества показали, что классификация результатов АФЛ по их концентрации различается между используемыми тестами. Вместе с тем, врачи клиничко-диагностических лабораторий приписывают разную классификацию риска развития тромбоза одному и тому же числовому результату теста. С другой стороны, полуколичественная/количественная оценка содержания аутоантител полезна для клинициста и может увеличить точность интерпретации выявления IgG аКЛ и аβ2-ГП1 [14]. Согласно сиднейским критериям значимыми считаются средние или высокие значения аутоантител. Титр от среднего до высокого определяется в диапазоне от 40 до 80 GPL/MPL или >99-го перцентиля на основе контрольной популяции [18]. Выбор 40 GPL/MPL в качестве

порогового значения аКЛ был основан на исследованиях, демонстрирующих, что титры аКЛ IgG >40 GPL лучше коррелируют с клиническими проявлениями, связанными с АФС, по сравнению с более низкими положительными концентрациями [2]. Вместе с тем, между 40 GPL/MPL и 99-м перцентилем для аКЛ может быть значительная разница (Vor M.V. et al., 2018; Devreese K.M.J. et al., 2018). Высокая межаналитическая изменчивость делает невозможным определение одного общего числового порога для классификации титров АФЛ в твердой фазе как "от среднего до высокого", также ISTH не рекомендует использовать 40 GPL/MPL в качестве порогового значения. Предлагается рассчитывать положительное пороговое значение на основе непараметрического 99-го перцентиля на выборке не менее 120 образцов, а также не рекомендуется учитывать выпадающие значения во избежание гипердиагностики АФС [18]. Допустимой альтернативой является переход на пороговые значения производителя при условии их расчета на достаточно большой референтной популяции и с применением адекватной статистической методики. Каждый результат на аКЛ и аβ2-ГП1 выше порогового значения должен быть интерпретирован как положительный [14].

Требования к разработке тест-систем на определение аКЛ и аβ2-ГП1 были описаны в международном руководстве, принятом на 13-ом Международном конгрессе по АФЛ (2012), а также в руководстве по тестированию на АФЛ с помощью твердофазных анализов (SSC ISTH, 2014). В отсутствие международного признанного стандарта на определение аКЛ и аβ2-ГП1 соответствие тестов регуляциям в области диагностики АФЛ приобретает весомую значимость.

На данный момент, из зарегистрированных тест-систем на территории России только тест-системы производства компании ООО "НПО "Диагностические системы" полностью соответствует международным требованиям на определение суммарных антител (IgG, IgM, IgA) аКЛ и аβ2-ГП1.

Ниже в таблице представлены основные рекомендации для регулирования разработки тест-систем на определение аКЛ и аβ2-ГП1 и соответствие им тест-систем некоторых производителей.

Таблица

Сравнение скрининговых тест-систем на суммарные антитела (GMA) к КЛ и β2-ГП1 разных производителей на соответствие международным требованиям

Раздел	Международные рекомендации	Диагностические системы, Россия	Orgentec Diagnostika, Германия	Euroimmun Ag, Германия
Название тест-системы		ДС-ИФА-КАРДИОЛИПИН-GMA / ДС-ИФА-β2 ГЛИКОПРОТЕИН 1 -GMA	Anti-Cardiolipin Screen/ Anti-beta-2-Glycoprotein I Screen	Anti-Cardiolipin ELISA IgAGM/ Anti-β2-Glycoprotein I ELISA IgAGM
Требование к образцу	сыворотка или цитрированная плазма крови	соответствует	соответствует	соответствует
Антиген	аКЛ: следует использовать кардиолипин (бычий или человеческий) + β2-ГП1	соответствует	соответствует	соответствует
	аβ2-ГП1: следует использовать β2-ГП1 человеческого происхождения на отрицательно заряженном планшете	соответствует	соответствует	соответствует
Стандарты ¹ и калибраторы	вторичные калибраторы при возможности следует соотносить с принятыми эталонами	E.N. Harris стандарт, Louisville APL Diagnostics, США; IgG (HCAL)/IgM (EY2C9) Sapporo стандартов, Werfen, Австралия	E.N. Harris стандарт, Louisville APL Diagnostics, США; IRP 97/656 (IgG), (HCAL) (IgG)/ (EY2C9) IgM Sapporo стандартов, Werfen, Австралия	E.N. Harris стандарт, Louisville APL Diagnostics, США
	калибровочная кривая должна иметь не менее 6 точек, покрывающих весь диапазон значений	6	4	3
Технические характеристики тест-систем	Точность, CV ² <10%	≤8%	7,3/3,8%	7,7/6,8%
Контроли ³	внутренний контроль качества должен быть в каждом тесте в виде отрицательного и положительного контролей	K+, K-	нет	K+, K-

Примечание: 1. на данный момент не существует международного стандарта для аβ2-ГП1; 2. CV - коэффициент вариации; 3. K+ - положительный контроль, K- отрицательный контроль.

Таким образом, на сегодня рекомендуется проводить последовательное тестирование пациентов в одной и той же лаборатории с использованием тестов одного производителя для сопоставимости результатов [14]. В тоже время, когда результаты тестов на АФЛ отрицательны у пациентов с высоким клиническим подозрением на АФС возможно проведение повторного тестирования на аКЛ и а β 2-ГП1 в другой лаборатории с использованием диагностикомов другого производителя или метода анализа (Devreese K.M.J., 2020). Гармонизация полуколичественных диапазонов может быть достигнута путем сопряженного анализа стандартного материала или хорошо охарактеризованных популяций пациентов как с помощью новой методики, так и стандартизированного ИФА с прослеживаемостью к исходным стандартам.

В отношении выбора изотипа аутоантител для диагностики АФС более тесная связь с тромбозом и акушерской патологией показана для IgG (аКЛ и а β 2-ГП1) по сравнению с IgM независимо от используемого твердофазного анализа (Kelchtermans H. et al., 2016; Chayoua W. et al., 2020). Согласно данным многофакторного регрессивного анализа АФЛ установлено, что независимый положительный результат IgM был связан в основном с акушерской патологией, а не с тромботическим АФС. Однако наличие IgM совместно с ВА и IgG АФЛ увеличивает отношение шансов тромбоза (Chayoua W. et al., 2020). Полученные данные свидетельствуют о необходимости тестирования, в первую очередь, на IgM аКЛ и а β 2-ГП1 относительно IgG при оценке на акушерский АФС, при этом их можно использовать в качестве дополнительного теста у пациенток с тромботическим АФС. В ряде работ указано, что присутствие аКЛ и а β 2-ГП1 одного и того же изотипа повышает клиническую вероятность АФС [14]. В целом отмечается, что чувствительность наборов на IgG выше, чем тестов IgM к АФЛ [19].

Анти-фосфатидилсерин/протромбиновые антитела

Так же, как для антител к аКЛ и а β 2ГП1 стандартизированный ИФА для аФС/ПТ недоступен, а эталонные сыворотки отсутствуют. В настоящее время имеется ограниченное количество коммерческих ИФА. Пациенты и бессимптомные носители с тройной положительной реакцией демонстрируют устойчивую положительную реакцию на аФС/ПТ, что делает эти антитела эффективными при оценке риска развития тромбоза (Нохна А. et al., 2017). У пациентов с тройным положительным статусом титры аФС/ПТ выше, чем у пациентов с двойным или одинарным положительным результатом (Нохна А. et al., 2017; Tonello M. et al., 2019). Когда профиль АФЛ показывает двойную положительную реакцию, положительный аФС/ПТ может указывать на ложноотрицательный результат на ВА у пациентов с антикоагулянтной терапией (Pengo V., 2020).

Волчаночный антикоагулянт

Что касается выявления ВА, то его гетерогенная природа определяет отсутствие "золотого стандарта" диагностического теста, что, в свою очередь, приводит к необходимости применения различных методов определения ВА. За последние годы был достигнут значительный прогресс в стандартизации данных тестов, поскольку были опубликованы

рекомендации ISTH по тестированию ВА (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, 2020) [20].

Согласно данному документу для обнаружения ВА рекомендуется параллельное исследование пациентов с подозрением на АФС двумя тестами: тест с разведением яда гадюки Рассела (dRVVT) и активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ) [6, 20]. Анализ dRVVT основан на прямой активации фактора X ферментом, присутствующим в яде гадюки Рассела. АФЛ в плазме пациента при этом будет реагировать с фосфолипидными компонентами реагента через кофакторы и удлинять dRVVT за счет снижения активности комплекса активатора протромбина. Анализ АЧТВ основан на активации контактного (внутреннего) пути. Аналогично анализу dRVVT, АФЛ ингибируют фосфолипид-зависимые этапы пути коагуляции АЧТВ [6]. dRVVT более специфичен для ВА, в то время как АЧТВ более чувствителен. Оба анализа дополняют друг друга, так как АФЛ не всегда реагируют в обоих тестах [14]. Большое значение имеет выбор адекватных реагентов для тестирования на ВА, учитывая существование тест-систем с различной чувствительностью, особенно для АЧТВ. Ключевыми моментами при подборе диагностикума для АЧТВ являются выбор активирующего агента, а также состава и концентрации фосфолипидов. В настоящее время предпочтение отдается каолину в качестве активатора. В тоже время, эллаговая кислота может рассматриваться как альтернатива реагентам АЧТВ с сопоставимой чувствительностью к ВА. Также для тестирования на ВА возможно использовать время свертывания каолина. Метод dRVVT демонстрируют меньшую вариабельность по сравнению с тестами на АЧТВ. Вместе с тем, было показано, что реагенты dRVVT могут отличаться по чувствительности к ВА и восприимчивости к антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К [6]. Процедура определения ВА включает в себя 3 этапа: скрининг, смешивание и подтверждение. ВА считается положительным, если три этапа хотя бы в одном тесте имеют нормализованное отношение выше локально установленного порогового значения, процент выявления при использовании двух методов исследования ВА достигает 80-85% [6, 14, 20].

Исследование методологии тестирования на ВА, инициированное ISTH, показало хорошую межлабораторную сходимость в отношении пробоподготовки, выбора тестов, повторного тестирования. Открытыми остаются вопросы, касающиеся влияния антикоагулянтов, пороговых значений тестов, расчета и интерпретации результатов. Следует принимать во внимание, что значительное влияние на определение ВА оказывает проводимая антикоагулянтная терапия, несмотря на эти рекомендации в повседневной практике подобные случаи искажения результатов анализа встречаются часто. Доказано, что ложным результатам на ВА приводят гепарины, антагонисты витамина К и прямые пероральные антикоагулянты, также С-реактивный белок служит интерферентом в фосфолипидзависимых анализах свертывания [6].

Обобщенные сведения по тестированию на ВА, представленные в работе Devreese K.M.J. et al. (2020), отображены в табл. 3 [20].

Процедура тестирования на ВА

Раздел	Рекомендации
Взятие крови/ преаналитические факторы	<ul style="list-style-type: none"> • является обязательным включение информации об антикоагулянтной терапии в направлении на исследование; • следует учитывать, что повышенный уровень С-реактивного белка может давать ложноположительные результаты теста на ВА.
Выбор теста/ процедуры тестирования	<ul style="list-style-type: none"> • определение с применением двух тестов, основанных на разных принципах; • чаще всего в качестве скринингового теста используют dRVVT; • в качестве подтверждающего теста рекомендуется использовать АЧТВ (с подходящим составом и низкой концентрацией фосфолипидов и предпочтительно с кремнием в качестве активатора); • результат тестирования на ВА считается положительным, если одна из двух тест-систем дает положительный результат на трех этапах (скрининг-смешивание-подтверждение); • скрининговые тесты могут проводиться с dRVVT и АЧТВ, результат считается положительным, если нормализованное время свертывания превышает локально установленное пороговое значение; • тест на смешивание в пропорции 1:1: плазмы пациента и пулированной нормальной плазмы следует использовать без предварительной инкубации; • тест на смешивание со скрининговым реагентом проводится, если при использовании скринингового(ых) теста(ов) на неразбавленной пробе удлиняется время свертывания; • результаты теста на смешивание позволяют предположить наличие ВА, когда нормализованное время свертывания превышает локальное пороговое значение; • подтверждающий(ие) тест(ы) должны быть выполнен(ы) путем увеличения концентрации фосфолипидов, используемых в скрининговом(ых) тесте(ах). Для увеличения концентрации фосфолипидов следует использовать двухслойную или гексагональную (II) фазу фосфолипидов; • подтверждающий тест должен быть выполнен, если скрининговое исследование предполагает наличие ВА, независимо от результата теста на смешивание с реагентом для скрининга; • подтверждающий тест проводится на смеси 1:1 плазмы пациента и пулированной нормальной плазмы, если подтверждающее время свертывания крови увеличивается.
Интерпретация результатов	<ul style="list-style-type: none"> • для парного теста рассчитывается отношение ВА (скрининг/подтверждение), выраженное как нормализованный коэффициент; • или процентная оценка (скрининг/подтверждение/скрининг x 100%); • результаты свидетельствуют о наличии ВА, если соотношение ВА (скрининг/подтверждение или скрининг-смешивание/подтверждение- смешивание) или процентная оценка выше 99-го перцентиля; • некоторые комплексные тесты предназначены для измерения разницы во времени свертывания крови на смеси плазмы; • результаты должны быть выражены как соотношение количества плазмы пациента к пулированной нормальной плазме, проводимое параллельно тестированию исследуемой плазмы во всех процедурах (скрининг, смешивание и подтверждение).
Пороговые значения	<ul style="list-style-type: none"> • рекомендуются использовать локально установленные пороговые значения; • расчет 99-го перцентиля следует проводить на группе исследуемых образцов ($n \geq 120$) с учетом выбросов для всех нормализованных значений; • в качестве альтернативы возможно использование пороговых значений производителя, если они установлены в соответствии с рекомендациями и соответствующими статистическими методиками с использованием достаточно большой популяции доноров.
Постаналитические вопросы	<ul style="list-style-type: none"> • для подтверждения положительного результата обязательно проводить повторное тестирование через 12 недель.
Отчет о результатах	<ul style="list-style-type: none"> • результат по ВА выдается как положительный/отрицательный; • в случае получения сомнительного результата, анализ на ВА выдавать не следует, тестирование должно быть проведено повторно через одну или более недель; • наряду с результатами всех трех типов анализов указываются локально установленные пороговые значения; • должен быть предоставлен отчет с объяснением результатов; • результаты всегда должны быть сопоставлены с наличием аКЛ и $\alpha\beta 2$-ГП1 для оценки профиля риска; • результаты следует интерпретировать с учетом клинического анамнеза и данных о проводимом антикоагулянтном лечении (при их наличии); • необходимо установить взаимодействие между лабораторией и клиницистом.

Сравнение/сходимость методик и тестов
для определения АФЛ

До настоящего времени данные научных исследований по сравнению эффективности использования разных методик для определения АФЛ, а также значимости определения отдельных изотопов аутоантител являются противоречивыми.

Так, Persijn L. et al. (2011) показали более низкую чувствительность анализа на основе хемилюминесценции по сравнению с "in-house" ИФА-тестом, несмотря на схожую специфичность диагностикумов. В противоположность в работах Villalta D. et al. (2009), Forastiero R. et al. (2014) и Mattia E. et al. (2015) установлена высокая чувствительность и специфичность тестов на АФЛ. В целом отмечается, что чувствительность наборов для определения IgG выше, чем тестов на IgM (Persijn L. et al., 2011, Decavele A.S. et al., 2011).

Мультисистемная сравнительная оценка коммерческих диагностикумов для определения IgG и IgM к $\beta 2$ -ГП1 четырех производителей проведена в работе Willis R. et al. (2016). Авторы изучали качественные и количественные характеристики тестов, сопоставимость результатов между наборами реагентов и соответствие клиническим проявлениям АФС.

В исследование были включены образцы сыворотки крови от 269 пациентов (31 человек имели диагноз АФС; 83 - с СКВ и АФС; 129 - только с СКВ; у 26 - в анамнезе имелись указания на клинические проявления патологии беременности при отсутствии указания на наличие АФС) и 162 женщин с благоприятным завершением беременности. Для определения аутоантител использовались три диагностикума на основе ИФА (Bio-Rad Laboratories, США; Corgenix, США; INOVA Diagnostics, США) и один флуорометрический автоматический тест (Thermo Fisher Scientific

(TFS), Швеция) для прибора ImmunoCap 100 (TFS, Швеция). Результаты выражались в произвольных единицах, установленных конкретными производителями наборов и в референсных единицах калибратора на основе порогового значения 99-го перцентиля. Следует отметить, что тесты Bio-Rad и Corgenix имели идентичные характеристики в отношении единиц измерения, метода (ИФА), калибровочного материала человеческого происхождения и количества калибровочных точек ($n=3$), а также пороговых значений. Анализы INOVA имели уникальную единицу измерения для каждого изотипа и метод ИФА (как и тесты Bio-Rad и Corgenix), но использовали моноклональный калибратор с пятью точками калибровки и незначительно отличались в заявленных референсных диапазонах. Тест-система TFS, основанная на флуориметрическом методе, имела другие единицы измерения, но также использовала человеческий калибратор, основанный на шести точках калибровки [19]. Во все постановки были включены поликлональные калибраторы для изотипов IgG и IgM к $\beta 2$ -ГП1, валидированные в Институте стандартных образцов и измерений (The Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM), Бельгия) [21].

В результате проведенного исследования из 269 исследованных образцов полное совпадение между всеми че-

тырьмя наборами на IgG было получено в 238 (88,4%) образцах, из которых 201 был отрицательным, а 37 - положительными. Количество образцов, определенных как положительные на IgG только в одном, двух или трех диагностикумах, составило 6 (2,2%), 18 (6,7%) и 7 (2,6%) соответственно. Аналогичным образом, полное совпадение между всеми четырьмя наборами на IgM было получено в 249 (92,6%) образцах, из которых 216 были отрицательными, а 33 - положительными. Вместе с тем, 7 (2,6%), 5 (1,9%) и 8 (3,0%) образцов оказались положительными в одном, двух или трех тестах, соответственно. Чувствительность наборов варьировалась от 15,8 до 27,2% (IgG) и от 12,3% до 15,8% (IgM), а специфичность - от 79,4% до 86,5% (IgG) и от 80,6% до 84,5% (IgM). Аналитические характеристики рассмотренных тестов представлены в табл. 4. В целом, по сравнению с рекомендованными производителями пороговыми значениями, использование 99-го перцентиля референсных диапазонов для диагностикумов Corgenix и Bio-Rad IgM, а также для теста TFS IgG позволило повысить диагностическую специфичность этих наборов. Межтестовая сходимость была от средней до высокой (κ -коэффициент Коэна для сравнения двух любых разных тестов составил 0,69–0,98).

Таблица 4

Диагностическая эффективность специфических тестов на антитела к $\beta 2$ -ГП1 в дифференциации пациентов с и без диагноза АФС

Производитель теста	Изотип $\alpha\beta 2$ -ГП1	Чувствительность, % (95% ДИ)	Специфичность, % (95% ДИ)	PPV, % (95% ДИ)	NPV, % (95% ДИ)	Площадь под кривой (95% ДИ)
Bio-Rad	IgG	27,2 (19,9-36,1)	80,6 (73,6-86,1)	50,8 (38,3-63,4)	60,1 (53,4-66,8)	0,609 (0,540-0,678)
	IgM	14,0 (8,8-21,7)	82,6 (75,8-87,8)	37,2 (22,8-51,7)	56,6 (50,2-63,1)	0,531 (0,461-0,601)
	IgG/M	35,1 (27,0-44,2)	74,2 (66,7-80,4)	50,0 (39,0-61,0)	60,8 (53,9-67,8)	НД
Corgenix	IgG	27,2 (19,9-36,1)	79,4 (72,2-85,0)	49,2 (36,9-61,8)	59,7 (53,0-66,4)	0,574 (0,504-0,643)
	IgM	15,8 (10,2-23,7)	80,6 (73,6-86,1)	37,5 (23,8-51,2)	56,6 (50,0-63,1)	0,521 (0,451-0,591)
	IgG/M	35,1 (27,0-44,2)	72,3 (64,7-78,7)	48,2 (37,4-58,9)	60,2 (53,2-67,2)	НД
INOVA	IgG	15,8 (10,2-23,7)	86,5 (80,1-91,0)	46,2 (30,5-61,8)	58,3 (51,9-64,6)	0,526 (0,456-0,596)
	IgM	12,3 (7,4-19,7)	84,5 (77,9-89,4)	36,8 (21,5-52,2)	56,7 (50,3-63,1)	0,529 (0,459-0,599)
	IgG/M	25,4 (18,3-34,2)	77,4 (70,2-83,3)	45,3 (33,1-57,5)	58,5 (51,8-65,3)	НД
TFS	IgG	17,5 (11,6-25,7)	81,9 (75,1-87,2)	41,7 (27,7-55,6)	57,5 (50,9-64,0)	0,554 (0,484-0,624)
	IgM	14,0 (8,8-21,7)	81,9 (75,1-87,2)	36,4 (22,1-50,6)	56,4 (50,0-62,9)	0,510 (0,440-0,580)
	IgG/M	27,2 (19,9-36,1)	71,6 (64,0-78,1)	41,3 (30,2-52,5)	57,2 (50,3-64,2)	НД

Примечание:

1. PPV - (positive predictive value) положительное прогностическое значение;
2. NPV - (negative predictive value) отрицательное прогностическое значение;
3. ДИ - доверительный интервал;
4. НД - нет данных.

В дальнейшем было изучено предиктивное значение определения отдельных изотипов $\alpha\beta 2$ -ГП1 для оценки риска возникновения тромботических изменений и развития патологии беременности. Для всех четырех используемых тестов показана взаимосвязь между наличием $\alpha\beta 2$ -ГП1 IgG с относительно высоким риском выкидыша или токсикоза у беременных. Для изотипа IgM только два

набора были связаны с относительным риском любой патологии, связанной с беременностью.

Авторами были сделаны следующие выводы: установлена сопоставимая эффективность тестов на IgG в диагностике АФС и аналогичная эффективность диагностикумов на IgM к $\beta 2$ ГП1. Несмотря на то, что качественное совпадение между иммуноанализами для обоих изотипов

аутоантител оказалось достаточно высоким, корреляция с клиническими проявлениями АФС зависела от используемого набора реагентов [19].

В подобном исследовании Montaruli V. et al. (2016) были оценены аналитические характеристики и клиническое значение тестов на IgG/IgM к аКЛ и а β 2-ГП1, а также предельные референсные диапазоны (99-ые процентиля) в сравнении с пороговыми значениями, установленными производителями коммерческих тестов. На наличие АФЛ были обследованы 30 условно здоровых человек, 77 пациентов с диагнозом АФС, 51 - с другими аутоиммунными заболеваниями, 8 - с предшествующими тромботическими осложнениями, 6 - с другими неинфекционными и 18 - с инфекционными заболеваниями. Сформированные когорты были обследованы с использованием ручных ИФА-тестов (Inova Diagnostics, США), иммунохемилюминесцентных автоматических диагностикумов (Inova Diagnostics, США; Menarini Diagnostics, Италия) и флуориметрического автоматического теста (Thermo Fisher Scientific (TFS), Германия). Были рассчитаны пороговые значения, соответствующие 99-му процентилю. Результаты анализов на аКЛ выражались в GPL/MLP, а на а β 2-ГП1 - в произвольных единицах (Ед/мл).

При 99-ом процентиле чувствительность и специфичность варьировали между 55,3–57,1% и 70,8–77,9% для аКЛ IgG; 11,7–46,3% и 62,2–84,1% для аКЛ IgM; 55,8–87,0% и 42,5–74,1% для а β 2-ГП1 IgG; и 27,3–36,4% и 64,6–75,2% для а β 2-ГП1 IgM. При использовании пороговых значений производителя, чувствительность и специфичность варьировали между 51,9–55,8% и 75,5–78,8% для аКЛ IgG; 23,4–54,5% и 55,8–79,5% для аКЛ IgM; 44,2–59,7% и 67,3–83,2% для а β 2-ГП1 IgG; и 18,2–31,2% и 70,8–77,7% для а β 2-ГП1 IgM. Показано, что наиболее низкую клиническую чувствительность имели все изотипы аКЛ и а β 2-ГП1 IgM. Расчет отношения шансов (тест Фишера) указывал на отсутствие связи между позитивностью теста и проявлением клинических симптомов для аКЛ IgM и а β 2-ГП1 IgM при использовании всех анализируемых методов.

Полученные авторами результаты продемонстрировали высокую сопоставимость используемых тестов для определения аКЛ IgG и значительную вариабельность для а β 2-ГП1 IgG, а также низкую сходимость для IgM к аКЛ и а β 2-ГП1 независимо от методики иммуноанализа. Использование собственных расчетных пороговых значений позволили увеличить сходимость между тестами только для а β 2-ГП1 IgG, за исключением иммунохемилюминесцентного теста Inova Diagnostics, для которого были получены одинаковые показатели при использовании как расчетных, так и установленных производителем референсных значений. Вместе с тем, авторы настоятельно рекомендуют валидировать/проверять пороговые значения, установленные производителем.

В более поздних исследованиях продемонстрирована возможность эффективного использования метода иммуноблоттинга (ИБ) в сочетании с классическими методами серологической диагностики АФС. Так, Ткаченко О.Ю. с соавт. (2017) с использованием коллекции биоматериала (47 пациентов с некардиоэмболическими ишемическими инсультами, 20 - с рецидивирующими тромбозами глубоких вен нижних конечностей и 50 - с акушерской

патологией, а также 30 здоровых доноров) изучили эффективность определения АФЛ с помощью ИБ (Medipan, Германия) на основе поливинилиденфторидной (ПВДФ) мембраны. Преимущество этого метода по сравнению с ИФА - использование для сорбции антигенов гидрофобной твердой фазы. Пористая структура ПВДФ мембраны ориентирует гидрофильные участки фосфолипидов и обеспечивает тем самым более плотное их распределение, имитируя билипидный слой мембран живого организма. Для уточнения и сравнения ценности разных методов результаты детекции аутоантител новым методом были сопоставлены с данными, полученными на коммерческих ИФА-тестах разных производителей (Euroimmun, Германия; Orgentec Diagnostica, Германия). Определение активности ВА было проведено с помощью АЧТВ в оригинальной авторской модификации.

На основании измерений АФЛ разными ИФА тест-системами частота обнаружения а β 2-ГП1 составила 31% для Euroimmun, 78% - для Orgentec Diagnostica; аналогично для аКЛ IgG - 2 и 30%, аКЛ IgM - 31 и 54% соответственно. Методом ИБ в биообразцах с наиболее высокими титрами антитела к β 2-ГП1 были обнаружены у всех пациентов, аКЛ IgG - только у 70%, аКЛ IgM - только у 30% пациентов. Сходимость результатов проанализированных тестов представлены на рисунке 2.

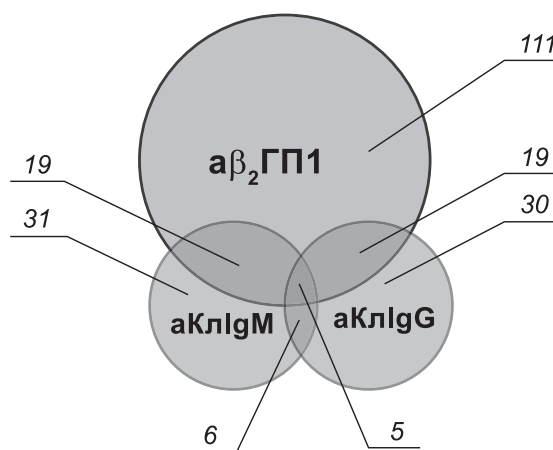


Рис. 2. Сходимость сероположительных результатов тестов для выявления АФЛ

Примечание: преобладают а β 2-ГП1, при этом три положительных маркера АФС обнаружены только в 5 образцах; цифрами обозначено количество серопозитивных образцов при сопоставлении сочетанного выявления АФЛ.

Авторами было показано, что сходимость между тремя коммерческими наборами реактивов варьирует от 20 до 88%. В условиях отсутствия алгоритмов стандартизации различных ИФА-тест-систем новый метод ИБ может быть использован в сочетании с классическими методами серологической диагностики для подтверждения диагноза АФС, особенно в сомнительных образцах [12].

В дальнейшем этими же авторами была продемонстрирована более высокая эффективность детекции АФЛ при средних и высоких титрах с помощью ИБ по сравнению с методом ИФА. Так, например, достоверные различия между двумя методами были показаны для определения

аКЛ IgG ($p=0,03$). Отмечено, что использование метода ИБ позволило расширить спектр выявляемых АФЛ, включая такие некритериальные маркеры, как антитела к ФС/ПТ, фосфатидилглицеролу, фосфатидилинозитолу, фосфатидиловой кислоте, фосфатидилэтаноламину, фосфатидилхолину и А5 [22]. Важность оценки спектра АФЛ для определения риска клинических проявлений подчеркивается исследованиями Pengo V. et al. (2005, 2011). При проспективном анализе когорты больных АФС было установлено, что одновременное выявление нескольких разновидностей АФЛ позволяет наиболее точно установить риск развития тромбозомболических событий и патологии беременности (Pengo V. et al., 2011).

Ткаченко О.Ю. с соавт. (2018) было сделано заключение об увеличении аналитической чувствительности теста и расширении диапазона измеряемых показателей в результате оптимизации характеристик твердой фазы в ИБ [22].

Несмотря на многочисленные усилия по стандартизации тестов и оптимизации алгоритмов/методов диагностики АФС, сохраняются методологические проблемы со значительными межаналитическими и межлабораторными различиями в результатах и интерпретации анализов на АФЛ.

Литература

1. Антифосфолипидный синдром - иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии. Под ред. Макацария А.Д. 2-е изд. М.: Триада-Х, 2013. 485 С.
2. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb. Haemost.* 2006; 4(2): 295-306.
3. Tektonidou M.G., Andreoli L., Limper M., Amoura Z., Cervera R., Costedoat-Chalumeau N. et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann. Rheum. Dis.* 2019; 78(10):1296-304.
4. Решетняк Т.М. Федеральные клинические рекомендации по лечению антифосфолипидного синдрома. 2013. 24 С.
5. Madison J.A., Gockman K., Hoy C., Tambralli A., Zuo Y., Knight J.S. Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical features and therapeutic interventions in a single center retrospective case series. *Pediatr. Rheumatol. Online J.* 2022; 20(1): 17.
6. Devreese K.M.J., Zuily S., Meroni P.L. Role of antiphospholipid antibodies in the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Transl. Autoimmun.* 2021; 4:100134.
7. Pengo V., Bison E., Denas G., Jose S.P., Zoppellaro G., Banzato A. Laboratory Diagnostics of Antiphospholipid Syndrome. *Semin. Thromb. Hemost.* 2018; 44(5):439-44.
8. Zohoury N., Bertolaccini M.L., Rodriguez-Garcia J.L., Shums Z., Ateka-Barrutia O., Sorice M. et al. Closing the Serological Gap in the Antiphospholipid Syndrome: The Value of "Non-criteria" Antiphospholipid Antibodies. *Rheumatol.* 2017; 44(11): 1597-602.
9. Zhai X., Yang S., Cui L. Anticardiolipin IgA as a Potential Risk Factor for Pregnancy Morbidity in Patients with Antiphospholipid Syndrome. *Lab. Med.* 2022; 53(5): 495-9.
10. Yin D., de Laat B., Devreese K.M.J., Kelchtermans H. The clinical value of assays detecting antibodies against domain I of $\beta 2$ -glycoprotein I in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun. Rev.* 2018; 17(12): 1210-8.
11. Zuily S., De Laat B., Guillemin F., Kelchtermans H., Magy-Bertrand N., Desmurs-Clavel H. et al. Anti-Domain I $\beta 2$ -Glycoprotein I Antibodies and Activated Protein C Resistance Predict Thrombosis in Antiphospholipid Syndrome: TAC(I)T Study. *Appl. Lab. Med.* 2020; 5(6): 1242-52.
12. Ткаченко О.Ю., Лапин С.В., Лазарева Н.М., Шмонин А.А., Соловьева Л.Н., Бондарева Е.А. с соавт. Сравнительный анализ иммунологических методов детекции антифосфолипидных антител. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(1): 40-4.
13. Wolgast L.R., Arslan A.A., Wu X.X., Beyda J.N., Pengo V., Rand J.H. Reduction of annexin A5 anticoagulant ratio identifies antiphospholipid antibody-positive patients with adverse clinical outcomes. *Thromb. Haemost.* 2017; 15(7): 1412-21.
14. Vandeveldel A., Devreese K.M.J. Laboratory Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome: Insights and Hindrances. *Clin. Med.* 2022; 11(8): 2164.
15. Montaruli B., De Luna E., Erroi L., Marchese C., Mengozzi G., Napoli P. et al. Analytical and clinical comparison of different immunoassay systems for the detection of antiphospholipid antibodies. *Int. J. Lab. Hematol.* 2016; 38(2): 172-82.
16. Meroni P.L., Biggioggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10(1): 35-43/
17. Devreese K.M.J. Solid Phase Assays for Antiphospholipid Antibodies. *Semin. Thromb. Hemost.* 2022; 48(6): 661-71.
18. Devreese K.M.J., Pierangeli S.S., De Laat B., Tripodi A., Atsumi T., Ortel T.L. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid/Dependent Antibodies. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. *Thromb. Haemost.* 2014; 12(5): 792-5.
19. Willis R., Pierangeli S.S., Jaskowski T.D., Malmberg E., Guerra M., Salmon J.E. et al. Performance Characteristics of Commercial Immunoassays for the Detection of IgG and IgM Antibodies to $\beta 2$ Glycoprotein I and an Initial Assessment of Newly Developed Reference Materials for Assay Calibration. *Am. J. Clin. Pathol.* 2016; 145(6): 796-805.
20. Devreese K.M.J., De Groot P.G., De Laat B., Erkan D., Favaloro E.J., Mackie I. 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. *Thromb. Haemost.* 2020; 18(11): 2828-39.
21. Willis R., Grossi C., Orietta Borghi M., Martos-Sevilla G., Zegers I., Sheldon J. et al. International standards for IgG and IgM anti- $\beta 2$ glycoprotein antibody measurement. *Lupus.* 2014; 23(12): 1317-9.
22. Ткаченко О.Ю., Лапин С.В., Шмонин А.А., Соловьева Л.Н., Бондарева Е.А., Сельков С.А. с соавт. Анализ спектра антифосфолипидных антител у пациентов с тромбозами и привычным невынашиванием беременности. Медицинская иммунология. 2018; 20(5): 753-62.
23. Meroni P.L., Biggioggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10(1): 35-43.

Кувшинов М.В., Михайлова Ю.В.

Антифосфолипидный синдром, обусловленный наличием инфекционных агентов

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Антифосфолипидный синдром (АФС) относится к аутоиммунным заболеваниям, а, как известно, на развитие любого аутоиммунного состояния влияют внешние факторы и генетическая предрасположенность. Инфекции являются одним из триггеров, вызывающих аутоиммунную активацию системы иммунитета. Роль вирусных заболеваний признается лидирующей из-за высокого уровня инфицированности населения [1].

Наиболее полный систематический обзор случаев связи предшествующей инфекции с последующим развитием АФС или циркуляцией антител к фосфолипидам (АФЛ) был сделан группой авторов из Техаса, США (Abdel-Wahab N. et al., 2016). Анализ включал 293 случая с более, чем 50 различными инфекциями, связанными с последующей выработкой АФЛ. Были выделены три различные группы пациентов: в первую группу вошли пациенты, соответствующие критериям АФС (24,6%); во вторую - с транзи-

торными АФЛ и тромбоэмболическими осложнениями (ТЭО) (43,7%); в третью - с транзиторными АФЛ без ТЭО (31,7%). Наиболее распространенной была предшествующая инфекция вирусной этиологии (55,6%). В случаях, когда развивались ТЭО, наиболее часто сообщалось о вирусах иммунодефицита человека (ВИЧ) и гепатита С (ВГС). В случаях, когда вырабатывались антитела без ТЭО, чаще всего выявлялся парвовирус В19. Наиболее распространенными клиническими проявлениями были гематологические осложнения и периферический тромбоз. Чаще регистрировались антикардиолипиновые антитела (аКЛ), в основном представленные изотипами IgG и IgM. У некоторых пациентов в 1-ой и 2-ой группах АФЛ сохранялись более 6 месяцев. Исход был различным: в некоторых случаях сообщалось о стойких признаках АФС, а в других достигалось полное разрешение клинических явлений.

Таблица 1

Типы инфекций, зарегистрированных в трех группах пациентов [2]

Инфекционный агент	N (%)			
	Всего (n=293)	Группа 1 Критерии АФС (n=72)	Группа 2 Неполные критерии АФС (n=128)	Группа 3 Отсутствие клинических явлений (n=93)
Вирусные	163 (55,6)	38 (52,8)	78 (60,9)	47 (50,5)
ВИЧ	47 (16,0)	13 (18,1)	26 (20,3)	8 (8,6)
ВИЧ + ВГС	3 (1,0)	1 (1,4)	1 (0,8)	1 (1,1)
ВГС	29 (9,9)	11 (15,3)	14 (10,9)	4 (4,3)
Вирус гепатита А (ВГА)	3 (1,0)	0	2 (1,6)	1 (1,1)
Вирус гепатита В (ВГВ)	2 (0,7)	0	2 (1,6)	0
Парвовирус В19	19 (6,5)	2 (2,8)	2 (1,6)	15 (16,1)
Цитомегаловирус	17 (5,8)	4 (5,6)	9 (7,0)	4 (4,3)
Вирус ветряной оспы	15 (5,1)	3 (4,2)	12 (9,4)	0
Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ)	9 (3,1)	1 (1,4)	6 (4,7)	2 (2,2)
Вирус простого герпеса (ВПГ)	2 (0,7)	1 (1,4)	0	1 (1,1)
Цитомегаловирус + ВЭБ	2 (0,7)	0	0	2 (2,2)
Вирус герпеса человека 6 типа	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Аденовирус	6 (2,0)	0	0	6 (6,5)
Вирус Денге	2 (0,7)	0	2 (1,6)	0
Вирус гриппа	3 (1,0)	2 (2,8)	1 (0,8)	0
Вирус краснуха	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Вирус кори	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Вирус японского энцефалита	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Бактериальные	108 (36,9)	22 (30,6)	48 (37,5)	38 (40,9)
Возбудитель Ку-лихорадки	21 (7,2)	0	5 (3,9)	16 (17,2)
Возбудитель Ку-лихорадки + Риккетсия Провачека (тифи)	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Возбудитель Ку-лихорадки + Хеликобактер пилори	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0

Инфекционный агент	N (%)			
	Всего (n=293)	Группа 1 Критерии АФС (n=72)	Группа 2 Неполные критерии АФС (n=128)	Группа 3 Отсутствие клинических явлений (n=93)
Возбудители Ку-лихорадки + Микоплазменной пневмонии	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Возбудитель микоплазменной пневмонии	14 (4,8)	1 (1,4)	11 (8,6)	2 (2,2)
Стрептококки	9 (3,1)	5 (6,9)	2 (1,6)	2 (2,2)
Стафилококки	5 (1,7)	3 (4,2)	2 (1,6)	0
Микобактерии туберкулеза	8 (2,7)	1 (1,4)	5 (3,9)	2 (2,2)
Микобактерии туберкулеза + стафилококки	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Микобактерии лепры	6 (2,0)	3 (4,2)	2 (1,6)	1 (1,1)
Кишечная палочка	4 (1,4)	1 (1,4)	2 (1,6)	1 (1,1)
Кишечная палочка + Бактероиды фрагилис	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Кишечная палочка + Бактероиды оватус + Фузобактерии некрофорум	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Сальмонелла	3 (1,0)	1 (1,4)	2 (1,6)	0
Клебсиелла	2 (0,7)	0	1 (0,8)	1 (1,1)
Бартонелла хенсела	2 (0,7)	0	1 (0,8)	1 (1,1)
Риккетсия африканская	2 (0,7)	0	0	2 (2,2)
Синегнойная палочка	2 (0,7)	1 (1,4)	1 (0,8)	0
Микоплазма пенетранс	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Протей мирабилис	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Хеликобактер пилори	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Хламидии	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Листерия моноцитогенная	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Менингококк	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Бактероиды фрагилис	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Фузобактерии некрофорум	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Кампилобактерии еюни	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Эубактерии лимозум	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Спирохетные	13 (4,4)	3 (4,2)	6 (4,7)	4 (4,3)
Бореллия бургдорфери	6 (2,0)	1 (1,4)	3 (2,3)	2 (2,2)
Бледная трепонема	5 (1,7)	2 (2,8)	1 (0,8)	2 (2,2)
Лептоспиры	2 (0,7)	0	2 (1,6)	0
Паразитические	12 (4,1)	3 (4,2)	4 (3,1)	5 (5,4)
Малярийный плазмодиум	5 (1,7)	0	2 (1,6)	3 (3,2)
Фасциола печеночная	2 (0,7)	0	2 (1,6)	0
Токсоплазма гонди	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Дизентерийная амёба	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Возбудитель энтеробиоза	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Чесоточный клещ Sarcoptes	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Трипаносома бруцеи	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Грибковые	5 (1,7)	1 (1,4)	2 (1,6)	2 (2,2)
Грибы рода Кандида	2 (0,7)	0	1 (0,8)	1 (1,1)
Грибы рода Аспергилл	1 (0,3)	1 (1,4)	0	0
Кохлиоболус сплицифер	1 (0,3)	0	0	1 (1,1)
Криптококк	1 (0,3)	0	1 (0,8)	0
Неидентифицированный агент	22 (7,5)	10 (3,9)	5 (3,9)	7 (7,5)

Примечание:

1. У 15 пациентов (2 человека в группе 1, 8 - в группе 2 и 5 - в группе 3) диагностирован более, чем один тип инфекции (вирусной, бактериальной, паразитарной, грибковой).

2. Чаще всего провоцирующим фактором для АФС или повышенного уровня АФЛ была только инфекция без каких-либо других сопутствующих заболеваний (83,6%). В остальных случаях сообщалось о других коморбидных состояниях в анамнезе, чаще всего аутоиммунных или воспалительных (7,5%). Случаи с системной красной волчанкой (СКВ) и предшествующим диагнозом рака были исключены.

Даже несмотря на постоянное присутствие АФЛ, тромбоз наблюдается не всегда. Ряд исследователей предполагают, что прокоагулянтное состояние, индуцированное АФЛ ("первый удар"), приводит к тромботическим событиям только при наличии провоцирующего фактора ("второй удар"), такого как воспалительные реакции, включая инфекции, злокачественные новообразования и другие прокоагулянтные состояния у лиц с генетической предрасположенностью [3].

Механизм развития аутоиммунных заболеваний при воздействии инфекционного фактора очень сложен и включает в себя несколько этапов:

Прямое поражение патогенами лимфоцитов или антигенпрезентирующих клеток:

1. провоцирование активности в норме скрытых аутоантигенов;
2. активация иммунитета против аутоантигенов, которые в норме являются непатогенными, например, главный комплекс гистосовместимости, протеина теплового шока и т. д.

Помимо данного механизма выделяют **непрямое** влияние инфекции в развитии аутоиммунного состояния:

1. чрезмерная стимуляция аутоантител с образованием иммунных комплексов приводит к нарушению элиминации аутоантигенов и препятствует нормальной выработке регуляторных Т-клеток;
2. нарушается антиидиопатический иммунитет к клеткам хозяина;
3. состояние молекулярной мимикрии, при которой антитела направленные против поверхностных вирусных гликопротеинов, становятся аутоантителами к поверхностным белкам хозяина. Перекрестные иммунные ответы могут возникать и на клеточно-обусловленном (Т-клеточном) уровне [1].

Сифилис

Установлено, что АФС является одной из распространенных причин ложноположительные результатов/реакций (ЛПР) нетрепонемного теста (НТТ). Впервые обнаружили (и описали) биологически ЛПР серологического теста на сифилис, ассоциированные с обнаружением АФЛ, японские ученые (Koike T. et al., 1984) при проведении исследований с использованием ИФА тест-системы для определения аКЛ у пациентов с диагнозом СКВ.

Как известно, аКЛ имеют две формы взаимодействия: β 2-гликопротеин 1 (β 2-ГП1)-независимую, то есть прямое взаимодействие и β 2-ГП1-зависимую форму, возникающую при аутоиммунном процессе, где β 2-ГП1 выступает в качестве кофактора [4]. АФЛ, продуцируемые при сифилисе, отличаются от таковых при аутоиммунных заболеваниях тем, что они обычно являются кофактор (β 2-ГП1)-независимыми (Celli C.M. et al., 1999; Gharavi E.E. et al., 1999) [5]. Исследование, проведенное группой ученых из провинции Фуцзянь, Китай (Shen X. et al., 2018) освещает вопрос взаимосвязи β 2-ГП1-зависимых аКЛ и состояния свертывания крови у лиц с классическими биологически ЛПР. В исследование были включены 146 пациентов с ЛПР, 465 пациентов с сифилисом и 64 пациента с предполагаемым АФС, у которых были выявлены β 2-ГП1-зависимые аКЛ IgA/IgG/IgM и антитела к β 2-ГП1 ($\alpha\beta$ 2-ГП1)

IgA/IgG/IgM с помощью хемилюминесцентного анализа. Были измерены стандартные показатели свертываемости крови для анализа их связи с этими аутоантителами. В текущем исследовании частота выявления β 2-ГП1-зависимых аКЛ у пациентов с ЛПР составила 22,6%, что было значительно выше, чем у пациентов с сифилисом (3,9%; $p < 0,001$) и аналогично таковым данным у пациентов с предполагаемым АФС (32,8%; $p = 0,119$). У пациентов с ЛПР и пациентов с предполагаемым АФС преобладающими изотипами аутоантител были IgG. У пациентов с сифилисом чаще встречались IgM. Пациенты с ЛПР и возможным АФС имели более длительное протромбиновое время ($p < 0,001$) и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) ($p < 0,001$), и более низкие концентрации фибриногена ($p = 0,022$) и количество тромбоцитов ($p < 0,001$), чем у больных сифилисом. АЧТВ были удлинены у пациентов с ЛПР, сифилисом и предполагаемым АФС с положительными аутоантителами по сравнению с лицами с отрицательными аутоантителами ($p < 0,05$). По результатам проведенного анализа авторы пришли к выводу, что пациенты с ЛПР более склонны к нарушениям свертываемости крови, чем больные сифилисом, и эти аутоантитела могут влиять на внутренний каскад свертываемости крови у лиц с ЛПР, как и у пациентов с предполагаемым АФС [4].

На примере частных случаев рядом авторов была показана важность корректной системы дифференциальной диагностики. Так, группой исследователей из Госпиталя инфекционных заболеваний, Буэнос-Айрес, Аргентина (de Larranaga G. et al., 2006) был подробно описан клинический случай ошибочно диагностированного сифилиса из-за ЛПР в реакции иммунофлуоресценции с абсорбцией (РИФабс.), ассоциированного с присутствием в крови пациентки АФЛ. В вводной части своей работы авторы отмечают, что хорошо известен факт получения ЛПР при проведении нетрепонемных серологических тестов, например модификации реакции микропреципитации (VDRL), тогда как ЛПР при использовании РИФабс. встречаются редко. Непризнание ЛПР серологических тестов на сифилис может иметь негативные прогностические и социальные последствия.

Предваряя подробный аналитический разбор конкретного случая из практики, исследователи останавливаются на некоторых аспектах серологической диагностики сифилиса и констатируют, что серологические тесты на сифилис основаны на выявлении различных антител, которые вырабатываются в ответ на инфицирование *T. pallidum*. По типу используемых антигенов диагностические тесты подразделяют на НТТ и трепонемные тесты (ТТ). В исследуемом материале при помощи НТТ выявляют антитела к смеси КЛ и липидов, присутствующих в сыворотке крови больных сифилисом. Наиболее распространенным НТТ является VDRL-тест. В ТТ, таких как, например, РИФабс. и тест микроагглютинации на антитела к *T. pallidum* (МНА-ТР-тест), используют антигены трепонемного происхождения (Larsen S.A. et al., 1995). К сожалению, серологические тесты на наличие аКЛ, могут давать ЛПР, особенно при наличии у пациента некоторых вирусных инфекций или аутоиммунных заболеваний (в результате повреждения тканей организма пациента). Авторы подчеркивают, что в настоящее время РИФабс. или МНА-ТР характеризуются высокой чувствительностью и специфич-

ностью. Однако, несмотря на довольно высокую специфичность (98%) РИФабс., также были описаны случаи выявления ЛПП исследований при использовании РИФабс. при таких состояниях, острых и хронических заболеваниях, как: смешанное заболевание соединительной ткани, аутоиммунные заболевания, сахарный диабет, алкогольный цирроз, вирусные инфекции и беременность (Carlsson B., 1991; Alegre A., 1987; McKenna C.H., 1973; Kraus S.J., 1970; Maskey D.M., 1969). Например, при различных аутоиммунных заболеваниях специфичность РИФабс. может снизиться до 67,7% из-за большого количества ЛПП (Murphy F.T., 1999). При отсутствии клинических или эпидемиологических признаков сифилиса, ЛПП чаще регистрируются при постановке VDRL-теста, чем в РИФабс. В целом, при обнаружении ЛПП VDRL-теста может потребоваться проведение лабораторных исследований с целью дифференциальной диагностики другого заболевания, а не сифилиса. Но ЛПП при постановке РИФабс. менее ожидаемы и изучены, а, следовательно, могут ошибочно оцениваться как истинно положительные результаты. В настоящее время золотым стандартом подтверждающего теста на сифилис является иммуноблот (ИБ), однако этот метод используется только в специальных лабораториях (Murphy F.T., 1999; Marangoni A., 2000).

Анализируя данные истории болезни 58-летней пациентки авторы обратили внимание, что положительный результат VDRL-теста впервые был зарегистрирован в 1996 году, когда она сдавала кровь в качестве донора. Пациентку обследовали в инфекционном отделении. Обнаружен положительный результат теста РИФабс. Несмотря на то, что у пациентки отсутствовали какие-либо клинические симптомы сифилиса или аутоиммунные проявления, она получала пенициллин. При обследовании ее мужа результаты серологических исследований на сифилис были отрицательными. Несмотря на отрицание рискованного поведения, пациентке был поставлен диагноз "сифилис", что привело к конфликтной ситуации в семье. В течение последующих 6 лет результат VDRL-теста оставался положительным, при значениях от 2+ до 16+, результаты используемого в качестве альтернативы теста РИФабс. регистрировались и положительными, и отрицательными; пациентка продолжала получать терапию. С учетом этих расхождений в результатах диагностических тестов, наблюдавшихся на протяжении 6 лет, были проведены дополнительные исследования. Результаты исследований при помощи тестов МНА-ТР, РИФабс., тестов на ревматоидный фактор, ВИЧ-инфекцию были отрицательными, в то время как результаты тестов для определения волчаночного антикоагулянта (ВА) были положительными. Также были обнаружены аКЛ (IgG 16 GPL и IgM 130 MPL) и антимитохондриальные антитела субтипа M2 (выраженная реакция). Пациентка продолжала находиться под наблюдением врачей и, в конечном итоге, у нее был диагностирован первичный билиарный цирроз, который, как было установлено, ассоциирован с антимитохондриальными антителами субтипа M2. В большинстве публикаций о ЛПП серологических тестов на сифилис отмечена связь с наличием аутоиммунных заболеваний, но лишь в немногих работах описана ассоциация с аутоантителами, как в данном случае. Обнаружение АФЛ позволило исключить у пациентки ошибочный диагноз сифилитической ин-

фекции, который привел к значительным семейным проблемам. Наличие АФЛ (аКЛ и/или ВА) тесно связано с аутоиммунной патологией. Несмотря на то, что аКЛ часто описываются при сифилитической инфекции, ассоциация с ВА не была описана (Cervera R., 2002; Forastiero R.R., 1996). В данном случае у пациентки выявлены аКЛ, а также высокие титры ВА.

Исследователи пришли к выводу, что проведение лабораторных анализов на аутоантитела необходимо в тех случаях, когда отсутствуют данные эпидемиологического анамнеза по сифилитической инфекции, регистрируются противоречивые результаты серологических тестов или лечение становится неэффективным. Неправильно поставленный диагноз сифилитической инфекции имеет негативные клинические и социальные последствия, существенно затрудняет постановку верного диагноза [6].

В 2022 г. Liu G.L. et al. опубликовали похожий клинический случай. 56-летняя женщина обратилась в больницу города Куньмин (Китай) с головной болью и болями в шее и плече. Тесты на ВИЧ и гепатит оказались отрицательными. Предыдущая история болезни включала четыре выкидыша по неизвестным причинам. Никакой кожной сыпи или других отклонений, указывающих на сифилис, не наблюдалось. Ее супруг был здоров, и серологические тесты на сифилис показала отрицательный результат. Других партнеров не было. На основании диагноза латентного сифилиса ей была назначена рекомендованная терапия пенициллином. Однако после трех курсов лечения результат в модифицированной реакции микропреципитации с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой (TRUST) составил 1:32768, а в реакции агглютинации частиц (TPPA) остался неизменным и составил 1:20480. Анализ, проведенный методом ИБ, на антитела типа IgM к сифилису был положительным, тогда как анализы ИФА на IgG и реакция флуоресценции, и ПЦР крови были отрицательными. Дальнейшие исследования ликвора показали отрицательные результаты тестов TPPA и TRUST. В итоге у пациентки был диагностирован АФС и моноклональная иммуноглобулинемия. Данный случай показал, что для назначения правильного и эффективного лечения важную роль играет комплексная лабораторная диагностика, в том числе и при заболеваниях вирусной и бактериологической природы, которая может включать диагностику АФС [7].

ВИЧ-инфекция

Риск повышенного тромбообразования при протекании инфекционного процесса может возникать даже в отсутствие кофакторно-зависимых АФЛ, например, при ВИЧ-1 инфекции. Однако, к ложноотрицательным результатам исследований, по мнению некоторых ученых, может приводить низкая кофакторная активность с высоким порогом к выполняемым тестам и чрезмерное потребление белков при выраженной активности АФС. По другим данным отсутствие тромбогенного действия АФЛ при ВИЧ-инфекции может быть обусловлено наличием связи ВИЧ-1 с Т-клеточным апоптозом, активированными антителами IgG к фосфатидилсерину [1].

Специалисты из медицинской школы Университета Витватерсранда, Йоханнесбург, ЮАР (Scharpkaitz E. et al., 2022) опубликовали исследование профиля АФЛ у жен-

Гепатит В

щин с тромбозами в анамнезе, инфицированных ВИЧ и нет. Были проанализированы медицинские карты 215 женщин с тромбозами и/или акушерскими осложнениями в анамнезе (158 ВИЧ-неинфицированных и 57 ВИЧ-инфицированных) в период с июля 2017 г. по март 2021 г. Участники ($n=215$) без клинических критериев проявления АФС были включены в качестве сопоставимой контрольной группы. Было проведено тестирование на ВА, аКЛ и $\alpha\beta$ -ГП1 изотипов IgM и IgG. 32 (10%) ВИЧ-неинфицированных и 15 (13%) ВИЧ-инфицированных участников были положительными изначально по одному из пяти критериев АФЛ без статистически значимой разницы в анализируемых показателях. Профиль ВИЧ-инфицированных участников с тромбозом ($n=11$) включал ВА в 15%, аКЛ IgG в 3% и $\alpha\beta$ -ГП1 IgG в 1%. Напротив, у ВИЧ-инфицированных обследованных из контрольной группы аКЛ IgM обнаружены в 2% и $\alpha\beta$ -ГП1 IgM - в 5% ($n=4$). Только для ВА была доказана связь с тромбозом ($p<0,003$). При повторном тестировании в ВИЧ-инфицированной субпопуляции 2/7 пациентов с тромбозом имели положительный результат, а 3/3 контрольной группы - отрицательный результат. Исходя из полученных данных, авторы высказали предположение о том, что распространенность и экспрессия АФЛ у ВИЧ-инфицированных женщин с тромбозами в анамнезе в настоящем исследовании в эпоху антиретровирусной терапии были аналогичны таковым у ВИЧ-неинфицированных женщин. Исходный положительный результат на ВА был связан со значительно повышенным риском тромбоза при ВИЧ. Рекомендовано было провести последующие исследования для изучения дополнительных нарушений свертываемости крови при ВИЧ-инфекции [8].

Гепатит С

Количество публикаций о взаимосвязи АФЛ с хроническим ГС (ХГС) растет ежегодно. Одно из таких исследований было проведено коллективом ученых из Туниса (Melayah S. et al., 2022). В обследование было включено 96 больных ХГС, 53 из которых проходили лечение на момент проведения исследования, и 90 здоровых доноров крови. Наличие IgG, IgA и IgM против КЛ и β 2-ГП1 определяли с помощью ИФА-тестов. Было обнаружено, что частота обнаружения АФЛ была значительно выше у пациентов с ХГС, чем в контрольной группе (51 против 11,1%; $p<0,000$). аКЛ и $\alpha\beta$ -ГП1 встречались у больных ХГС значительно чаще, чем у доноров (27,1 против 5,5%; $p<0,00$; и 44,8 против 11,1%; $p<0,000$ соответственно). Изотипическое распределение показало, что чаще выявлялись аКЛ IgG и $\alpha\beta$ -ГП1 IgA. У больных ХГС частота $\alpha\beta$ -ГП1 была достоверно выше, чем аКЛ (44,8 против 27,1%; $p=0,01$). $\alpha\beta$ -ГП1 IgA встречался значительно чаще, чем IgG (38,5 против 7,3%; $p<0,000$), IgM (38,5 против 9,4%; $p<0,00$), а также аКЛ IgG (38,5 против 21,9%; $p=0,01$). Различий в частоте АФЛ между пациентами, получающими лечение, не установлено. На основании результатов этого исследования, авторы сделали вывод, что АФЛ, особенно $\alpha\beta$ -ГП1 IgA и аКЛ IgG, довольно часто встречаются у пациентов с ХГС [9].

Целью исследования авторов из Южной Кореи, Сонам (Nuh J.Y. et al., 2011) было изучение распространенности, персистенции, клинической значимости и характеристик АФЛ у пациентов, инфицированных ВГВ. В исследование были включены 143 пациента с ГВ-инфекцией и 32 здоровых человека в качестве контрольной группы. Было проведена оценка встречаемости аКЛ, $\alpha\beta$ -ГП1 и ВА. Общая распространенность АФЛ у пациентов, инфицированных ВГВ, составила 12,6% (18 из 143 человек). Среди АФЛ-позитивных лиц 15 имели низкие и средние титры аКЛ (у 10 человек выявлены IgM, у 4 - IgG, у 1 - оба изотипа). $\alpha\beta$ -ГП1 и ВА были обнаружены у 3 (2,1%) и 2 (1,4%) пациентов с ГВ-инфекцией соответственно. В контрольных образцах от пациентов с повышенными уровнями аКЛ или $\alpha\beta$ -ГП1 ($n=14$) у 71,4% было обнаружено постоянное присутствие АФЛ. У инфицированных ВГВ наиболее часто выявлялись аКЛ IgM, которые имеют слабую ассоциацию с клиническими проявлениями АФС [10].

Гепатит А

Необычным примером АФС, обусловленного действием инфекционного агента, может служить следующий клинический случай, описанный Al-Dohayan N.D. et al. (2021). У 11-летнего мальчика зафиксировали интересный клинический случай с развившимся впоследствии АФС на фоне единственной сопутствующей инфекции – ГА. Именно этот вирус предшествовал развитию заболевания и мог быть триггером, ускорившим АФС. Возникновение тромбоза и инфекции указывает на причинно-следственную связь между ними, а не на совпадение двух отдельных несвязанных событий. Прогрессирующее снижение общих АФЛ, уровней $\alpha\beta$ -ГП1 и аКЛ в плазме крови, достигающее нормальных значений в течение девяти месяцев после лечения антикоагулянтами, свидетельствует о транзитном эпизоде АФС. На основании этих данных был поставлен диагноз вторичного АФС, вызванного инфицированием ВГА. АФС является основной причиной тромботических осложнений в педиатрической группе пациентов. Поэтому тщательный подход к заболеванию и документирование потенциальных провоцирующих факторов чрезвычайно важны для клиницистов. ГА, как показано в этом клиническом случае, относится к провоцирующим факторам и не должен быть проигнорирован, когда острое заболевание наблюдается либо в отделении неотложной помощи, либо в педиатрической службе. Авторы статьи утверждают, что это первый зарегистрированный случай острой ГА-инфекции, при которой развился эпизод АФС, успешно излеченный антикоагулянтной терапией и разрешившийся в течение девяти месяцев [11].

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19)

COVID-19 - это заболевание, вызванное вирусом SARS-CoV-2, течение которого разнообразно и непредсказуемо (Huang C. et al., 2020). Большинство больных переносят заболевание в легкой форме с гриппоподобными симптомами, болезнь может протекать бессимптомно (Guan W.J. et al., 2020). Примерно у 15% инфицированных больных разви-

ваются тяжелые проявления заболевания, в том числе, односторонняя или двусторонняя пневмония с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) и прогрессирующая гипоксемия, которые могут привести к необходимости искусственной вентиляции легких. Системное гипервоспаление возникает в наиболее тяжелой форме у пациентов с полиорганным поражением (цитокиновый шторм), лимфопенией и значительным повышением С-реактивного белка, ферритина, D-димеров, цитокинов и хемокинов, создавая угрозу жизни [12, 13].

Несмотря на то, что COVID-19 является респираторным заболеванием, инфекция также влияет на сердечно-сосудистую систему, вызывая тромбозы преимущественно в артериях и артериолах, микроциркуляторном русле и венозной системе [14, 15]. Данные осложнения чаще возникают при острой инфекции, но могут иметь место и в период реконвалесценции [16]. На аутопсии пациентов, умерших от COVID-19, обнаруживаются микротромбы, диффузное альвеолярное поражение, полиорганный тромбоз, гемофагоцитоз, истощение иммунных клеток [17]. Так же при данной инфекции относительно часто встречается нарушение свертывания крови - примерно у 50% пациентов, чье пребывание в отделении интенсивной терапии (ОИТ) составляет две недели или больше. В основном (87%) тромбозы возникают в легких и не зависят от того, получали ли больные стандартную антикоагулянтную терапию [18]. У пациентов с коагулопатией при COVID-19, как правило, изменены лабораторные показатели, связанные с тромбообразованием. Таким образом, инфекция представляет собой дополнительный фактор риска, который может привести к выраженным тромботическим осложнениям [19]. Как и при катастрофическом АФС (КАФС), вскрытие при COVID-19 показывает тяжелое повреждение эндотелия и распространенный тромбоз с микроангиопатией [3].

Сходство иммунных механизмов развития тромбоза между антифосфолипидным синдромом и COVID-19

Таким образом, нетрудно заметить выраженное сходство как клинических проявлений этих двух патологий, так и диагностических (лабораторных) показателей (Connors J.M. et al., 2020; Lodigiani C. et al., 2020): высокая частота тромбозов артерий, венозного и микроциркуляторного русла, активации нейтрофилов (Zuo Y. et al., 2020; Shi H. et al., 2021), эндотелиальных клеток (Varga Z. et al., 2020), тромбоцитов (Manne B.K. et al., 2020) и системы комплемента (Magro C. et al., 2020).

Некоторыми исследователями было показано, что частота венозной тромбоземболии (ВТЭ) у пациентов ОИТ составляет 2–15% (без COVID-19) [18], в то время как при наличии COVID-19 данный показатель достигает 24–49% (Middeldorp S. et al., 2002). Кроме ВТЭ отмечены случаи ишемических инсультов [18]. Согласно данным Международного регистра, фиксирующего случаи инсульта из 16 стран, COVID-19-ассоциированные ишемические инсульты имеют наиболее неблагоприятные клинические исходы и более высокую смертность по сравнению с таковыми, не связанными с инфицированием SARS-CoV-2. Возможными причинами этого являются вирусно-индуцированная эндотелиопатия, иммунопосредованная активация тромбоци-

тов, обезвоживание, инфекционно-обусловленная сердечная аритмия, а также малоподвижный образ жизни. Несмотря на то, что COVID-19 и АФС – это два разных заболевания, тяжелая форма COVID-19 может привести к тромботическому синдрому с поражением легочной, сердечно-сосудистой, почечной и центральной нервной систем, подобно течению КАФС. Повышенные уровни лактатдегидрогеназы и D-димера, а также тромбоцитопения возникают как при КАФС, так и при COVID-19; у большинства пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, повышен уровень фибриногена. Кроме того, в результате повреждения эндотелия, активации комплемента и высвобождения нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) при обоих состояниях может возникать тромботическая микроангиопатия [20, 21, 22, 23]. Так, исследования *in vitro* и вскрытия пациентов с COVID-19 демонстрируют наличие вирусных элементов и воспалительных клеток в эндотелии. В данном случае активация эндотелия происходит в результате связывания шиповидного белка вируса с рецептором ангиотензинпревращающего фермента-2 (Varga Z. et al., 2020). При АФС повреждение эндотелия опосредовано воздействием на эндотелиальные клетки АФЛ (Corban M.T. et al., 2017). В обоих случаях ингибирование продукции эндотелиальной синтазы оксида азота снижает продукцию оксида азота, который обладает противовоспалительным и сосудорасширяющим действием, повышая восприимчивость эндотелия к повреждению. Одним из ключевых моментов в развитии патологических процессов как при COVID-19, так и при КАФС является активация системы комплемента. SARS-CoV-2 активирует три пути комплемента. Вирусные антигены активируют классический путь через иммунные комплексы, в то время как, взаимодействие маннозо-связывающего лектина с шиповидным белком SARS-CoV-2 запускает так называемый лектиновый путь с продукцией конвертазы C3 (Mortensen S.A. et al., 2017). "F-спайк" белки (субъединица 1 и 2) активируют альтернативный путь комплемента на клеточной поверхности (Yu J. et al., 2020). Альтернативный путь также может быть активирован, когда его компонент связывается с поверхностью патогена, что приводит к продукции C3-конвертазы. Активация любого из этих путей приводит к выработке конвертазы C5, инициируя образование C5b-9 (мембрано-атакующего комплекса, МАК). Гистологические образцы как легких, так и тканей кожи (Magro C. et al., 2020), а также повышенные уровни МАК в сыворотке пациентов указывают на то, что эти пути задействованы как при COVID-19, так и при АФС с тромбообразованием [21]. При АФС $\alpha\beta 2$ -ГП1 в комплексе с $\beta 2$ -ГП1 активируют классический путь комплемента, связываясь с C1q, активируя C3b и задействуя альтернативный путь через петлю амплификации, что подтверждается, например, высокими уровнями растворимого МАК в сыворотке крови у больных АФС с инсультами или катастрофическим течением данного аутоиммунного заболевания [20]. Добавление фосфолипидных везикул к плазме АФС вызывает образование макроиммунных комплексов, активирующих комплемент (Rand J.H., 2017). Мутации в генах, регулирующих комплемент, наблюдаются чаще у пациентов с КАФС, чем у пациентов с АФС без КАФС (Chaturvedi S. et al., 2020). Изменения в регуляторных генах могут быть связаны с усиленной активацией комплемента и тяжелыми симптомами COVID-19 (Valenti L. et al., 2021). Назначение гепа-

рина, как антикоагулянта для лечения АФС, ингибирующего комплемент, может улучшить прогноз у пациентов с новой коронавирусной инфекцией средней степени тяжести [24]. Вместе с тем, при COVID-19 неконтролируемое гипервоспаление приводит к повышенному привлечению нейтрофилов и чрезмерному образованию НВЛ [22]. Образование НВЛ при возникновении в сосудах может привести к повреждению эндотелия и ускоренному тромбозу. НВЛ представляют собой внеклеточные сети хроматина и бактерицидных белков, которые служат первой линией защиты от инфекций, захватывая и уничтожая патогены (Zuo Y. et al., 2020). Экспрессируя тканевой фактор и способствуя образованию тромбина, НВЛ обладают тромбогенным эффектом (Skendros P. et al., 2020). В образцах тканей (как в легочной, так и в коронарной) пациентов с COVID-19 обнаруживаются НВЛ-содержащие микротромбы с нейтрофильно-тромбоцитарными инфильтратами. Как сыворотка пациентов с АФС, так и очищенный IgG увеличивают адге-

зию нейтрофилов и образование НВЛ [22, 23]. COVID-19 запускает сложную системную воспалительную реакцию как часть врожденного иммунитета, что приводит к перекрестным реакциям между воспалением и коагуляцией [24].

Анализ исследований на наличие АФЛ у пациентов с COVID-19

Учитывая значительное сходство иммунных механизмов развития тромбоза между АФС и COVID-19, неудивительно, что в первые недели пандемии некоторые исследователи связывали склонность к тромбообразованию при новой коронавирусной инфекции с наличием АФЛ (Zhang Y. et al., 2020). В первом исследовании сообщалось о наличии тромбозов у трех пациентов с АФЛ изотипов IgG и IgA. При анализе многочисленных публикаций установлено, что у пациентов с COVID-19, у которых в анамнезе не было АФС, отмечена повышенная распространенность АФЛ (табл. 2).

Таблица 2

Анализ исследований на наличие АФЛ у пациентов с COVID-19. Проанализированы распространенность и типы АФЛ, подтверждение результатов анализов через 12 недель и ассоциация с тромбозом [19]

Авторы	Тип исследования	Количество обследованных	Подтверждение через 12 недель	Критериальные АФЛ	Некритериальные АФЛ	Ассоциация с тромбозом	УД
Zhang Y. et al., 2020	Описание случая	3	Нет	Есть	Есть	Есть	IV
Helms J. et al., 2020	П	150	Нет	Есть (только ВА)	Нет	Есть	I
Bowles L. et al., 2020	П	35	Нет	Есть (только ВА)	Нет	Нет	II
Amezcu-Guerra L.M. et al., 2020	Р	21	Нет	Есть	Есть	Нет	II/III
Borghi M.O. et al., 2020	П	122	Нет	Есть	Есть	Нет	I
Gatto M. et al., 2020	Р	122	Нет	Есть	Есть	Нет	II/III
Serrano M. et al., 2021	П	474	Нет	Есть	Есть	Есть	I
Xiao M. et al., 2020	Р	66	Нет	Есть	Есть	Есть	III
Hasan Ali O. et al., 2020	Р	64	Нет	Есть	Есть	Нет	III
Frapard T. et al., 2021	Р	68	Нет	Есть	Есть	Есть	III
Gazzarusso C. et al., 2020	Р	45	Нет	Есть	Нет	Есть	III
Zuo Y. et al., 2020	Р	172	Нет	Есть	Есть	Есть	I
Gil-Etayo F.J. et al., 2021	П	362	Есть	Есть	Есть	Есть	I
Signaturet V. et al., 2020	П	74	Нет	Есть	Нет	Нет	II
Devreese K.M.J. et al., 2020	П	31	Нет	Есть	Есть	Нет	II
Atalar E. et al., 2022	Р	73	Нет	Есть	Нет	Нет	II
Gasparini G. et al., 2021	Р	173	Нет	Есть	Есть	Нет	I
Ferrari E. et al., 2020	П	89	Нет	Есть	Нет	Нет	II
Trahtenberg U. et al., 2021	Р	22	Нет	Есть	Есть	Нет	III
Previtali G. et al., 2020	Р	35	Нет	Есть	Есть	Нет	III
Galeano-Valle F. et al., 2020	П	24	Нет	Есть	Нет	Нет	III
Vollmer O. et al., 2021	П	79	Только у некоторых пациентов	Есть	Есть	Есть	II
Sciascia S. et al., 2021	Р	87	Только у некоторых пациентов	Есть	Есть	Нет	II

Примечание:

Р - ретроспективное исследование;

П - проспективное исследование;

УД - уровень доказательности по данным Miyakis S. et al. (2006) [25].

Наиболее распространенным маркером АФС был ВА. Он был выявлен у 50-90% пациентов ОИТ с COVID-19 (Helms J. et al., 2020) и у 91% - с повышенным АЧТВ [26]. Однако эти результаты трудно достоверно интерпретировать из-за ограничений тестов на ВА в условиях интенсивной антикоагулянтной терапии. Распространенность аКЛ и $\alpha\beta$ 2-ГП1 IgG/IgM была ниже и составила около 15%. Одновременное присутствие нескольких типов АФЛ отмечено у 25-50% пациентов [27]. Значимых различий в распространенности аКЛ и $\alpha\beta$ 2-ГП1 IgG/IgM у пациентов с COVID-19 не выявлено. Однако, недостатком большинства исследований является небольшой объем выборки пациентов, что может давать погрешности при статистической обработке результатов [19].

Что касается дополнительных "некритериальных" маркеров АФС, то существует лишь несколько моноцентровых исследований с полным скринингом на такие АФЛ (антитела к фосфатидилсерину/протромбину (аФС/ПТ) IgG/IgM, аКЛ и $\alpha\beta$ 2-ГП1 IgA). Так, Zuo Y. et al. (2020) обнаружили высокую распространенность аФС/ПТ IgG и IgM (24 и 18% соответственно), аКЛ и $\alpha\beta$ 2-ГП1 IgA выявлены менее, чем у 5% пациентов с COVID-19. В противоположность Borghi M.O. et al. (2020) сообщили о распространенности "некритериальных" АФЛ не более, чем у 10% таких пациентов. Только у 5% обследованных с АФЛ присутствовали $\alpha\beta$ 2-ГП1 [27, 28].

По результатам многоцентрового исследования по скринингу на АФЛ у 122 пациентов с COVID-19, проведенного Gatto M. et al. (2020), наиболее часто встречались аКЛ IgG и ВА. При этом, статистически достоверной связи или более высокой распространенности данных АФЛ, чем в популяции с первичным АФС или с другими системными аутоиммунными заболеваниями установлено не было [29]. Возможной причиной этого может быть недостаточный размер выборки пациентов с положительным результатом на АФЛ. Вместе с тем, значимые различия в распространенности АФЛ по сравнению с контрольной популяцией того же возраста были установлены Serrano M. et al. (2019) при обследовании 474 пациентов с COVID-19, у которых за время наблюдения было 35 случаев тромбоза. Распространенность АФЛ в данной работе составила 23,6%. Наиболее часто выявлялись $\alpha\beta$ 2-ГП1 IgA (у 15% пациентов). [30]. Другие исследования, проведенные на пациентах в критическом состоянии, показали, что у 19% из них преобладали IgM против аннексина 5 [27]. Также установлено, что при наиболее тяжелых случаях течения COVID-19 выявляются именно IgA к КЛ и β 2-ГП1 (распространенность до 30%) [31].

Клинические последствия циркуляции антифосфолипидных антител при COVID-19

В настоящее время информация о патогенности АФЛ во время пандемии новой коронавирусной инфекции носит противоречивый характер. Некоторые авторы описывают взаимосвязь между АФЛ и тяжестью заболевания, связанной с такими состояниями, как ОРДС, потребностью в интенсивной терапии (Xiao M. et al., 2020; Gazzaruso C. et al., 2020; Frapard T. et al., 2021). Пациенты с COVID-19 с множественной положительной реакцией на АФЛ (чаще IgA) имели значительно более высокую частоту ишемического

инсульта по сравнению с пациентами с отрицательным результатом ($p=0,023$) [31]. Проспективное исследование с участием 361 пациента показало взаимосвязь между наличием АФЛ и частотой тромбозов в первые 6 месяцев после постановки диагноза COVID-19 (ОШ=3,7; 95% ДИ: 1,7–8,1) [32]. Вместе с тем, существует ряд исследований, в которых, несмотря на высокую распространенность как АФЛ, так и тромбоза при острой инфекции COVID-19, не обнаружено статистически значимой связи между двумя этими событиями (Bowles L. et al., 2020; Siguret V. et al., 2020; Devreese K.M.J. et al., 2020; Atalar E. et al., 2022). Точно так же не обнаружено никаких ассоциаций между кожными проявлениями, характерными для АФС и распространенными при COVID-19, такими как ретикулярное ливедо и дигитальная ишемия (Gasparini G. et al., 2020). Ferrari E. et al. (2020) обнаружили аналогичную распространенность ВА, $\alpha\beta$ 2-ГП1 и аКЛ у пациентов как с тяжелым, так и с легким течением COVID-19 [19]. Amezcua-Guerra L.M. et al. (2020) изучили все критериальные и некритериальные типы АФЛ у 21 пациента из ОИТ. Показано, что наиболее часто выявляемым маркером были IgM. Однако авторы не обнаружили связи между наличием АФЛ и тромбообразованием [27]. Только у 8% пациентов ($n=35$), умерших от COVID-19, с признаками коагулопатии и полиорганного тромбоза, были обнаружены АФЛ, как критериальные, так и некритериальные (Previtali G. et al., 2020). Некоторые авторы предполагают, что домен 1 β 2-ГП1 (Д1) является основным иммуногенным эпитопом, на который нацелены антитела у пациентов с АФС (Mahler M. et al., 2012). Таким образом, тот факт, что только у 5% пациентов с COVID-19 и АФЛ есть антитела против Д1 (в основном они вырабатываются против 4-5 доменов β 2-ГП1), позволяет предположить, что АФЛ могут отличаться при АФС и COVID-19. Тем не менее, при COVID-19 антитела к Д1 обнаруживаются очень редко [28].

Анализ АФЛ у пациентов с COVID-19 показал, что распространенность и титры АФЛ или уровень ВА не постоянен и не имеют связи с тромбозом при измерении в один момент времени [29]. Такая высокая распространенность АФЛ у пациентов с COVID-19 и отсутствие связи с клиническими проявлениями АФС позволяют предположить, что АФЛ при данном заболевании могут быть эпифеноменом (артефактом). В случае ВА его присутствие может быть связано с антикоагулянтами, назначаемыми почти всем пациентам с тяжелой инфекцией COVID-19 (Galeano-Valle F. et al., 2020), либо с теми, которые становятся положительными при острой инфекции [19]. Другим немаловажным фактом является то, что большинство исследований проводилось с участием пожилых пациентов, у которых распространенность АФЛ и других аутоантител достаточно высокая (Goldman-Mazur S. et al., 2019). Обычно в исследованиях в качестве контрольных групп используются доноры крови в возрасте от 18 до 65 лет (Naranjo L. et al., 2021). Когда опытная группа пациентов с COVID-19 была стандартизована по возрасту с контрольной, достоверных различий в распространенности АФЛ не обнаружено. Следует принять во внимание, что наличие IgG и IgA в острую фазу COVID-19 можно объяснить их появлением еще до заражения по какой-либо иной причине. Процесс замены IgM на IgG или IgA требует довольно длительного времени, поэтому маловероятно, что эти антитела образуются

при заражении. При этом распространенность и титр АФЛ значимо не изменяются при сравнении острой фазы инфекции и реконвалесценции [32]. Следует учитывать, что определение АФЛ проводится двукратно с интервалом не менее 12 недель, лишь очень немногие исследования при COVID-19 соответствовали данным критериям. Так, по данным Siguret V. et al. (2020) титры аКЛ и аβ2-ГП1 достоверно не отличались при первом и втором измерениях.

Сравнение профиля АФЛ, как критериальных, так и некритериальных (аФС/ПТ IgG/IgM), было проведено Sciascia S. et al. (2021) у трех групп пациентов ($n=87$): с COVID-19; больных АФС; пациентов с острыми инфекциями, исключая SARS-CoV-2. В результате авторы обнаружили, что профиль АФЛ у пациентов с COVID-19 отличался от такового у больных АФС, однако выявлено сходство пациентами, страдающими другими инфекциями. При первом исследовании было показано, что 53% пациентов с COVID-19 были положительными по крайней мере по одному из АФЛ (29% положительных на ВА, 10% – на 2 или более АФЛ) при отсутствии у них тромбозов. В результате повторного тестирования через 12 недель аутоантитела не были обнаружены у некоторых пациентов, ранее позитивных на АФЛ ($n=12$). [33]. В противоположность данной работе, Gil-Etayo F.J. et al. (2021) на выборке из 361 пациента с COVID-19 не обнаружили существенных различий в распространенности АФЛ между первым и вторым (через 12 недель) тестированием. Вместе с тем, была выявлена сильная корреляция между критериальными АФЛ в двух точках сбора (коэффициент корреляции, $r=0,85$) и для аβ2-ГП1 IgM ($r=0,91$). Совпадение результатов при измерении аФС/ПТ было слабым ($r=0,43$). [32]

Тем не менее, патогенная природа АФЛ, связанных с COVID-19, может быть подтверждена тем фактом, что фракции IgG, выделенные у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, вызывают тромбоз у мышей (Zuo Y. et al., 2020), также как и у пациентов с АФС [23]. Также следует учитывать данные некоторых исследователей о наличии корреляция между наличием АФЛ и тромбозом (Devreese K.M.J. et al., 2020; Zhang Y. et al., 2020). Некритериальные АФЛ могут быть даже более распространены, чем критериальные, поэтому их следует включать в скрининг. Кроме того, возможный транзитный характер АФЛ при COVID-19 не исключает патогенности, также как при проведении метаанализа транзитные АФЛ при ГС коррелируют с повышенным риском тромботических явлений [34]. Дефицит β2-ГП1 может быть критерием предрасположенности к осложнениям у пациентов с тяжелыми инфекциями, такими как тяжелый сепсис и COVID-19. Вторичная по отношению к COVID-19 коагулопатия является самостоятельным заболеванием. Однако коронавирусная инфекция является дополнительным протромботическим фактором у пациентов с уже имеющимися аФЛ. При этом связанные с АФЛ тромбозы возникают позже, чем связанные с инфицированием SARS-CoV-2 [34].

Таким образом, остается открытым вопрос, является ли позитивность по АФЛ просто феноменом гипервоспаления, вызванного инфицированием SARS-CoV-2, или серьезным фактором риска "тромботического шторма" у пациентов с тяжелой формой COVID-19.

Данные об исходах COVID-19 у пациентов с АФЛ (с АФС или без него) ограничены описанием нескольких клинических случаев, и потому могут быть не объективны. В отчете о первичном АФС описан пациент, получавший антикоагулянтную терапию, у которого после COVID-19 развились кровоизлияние в надпочечники и артериальный тромбоз; у другого пациента было подозрение на рецидивирующее диффузное альвеолярное кровотечение, осложненное грибковой пневмонией. У пациента с СКВ и АФС во время инфекции COVID-19 развилась тяжелая тромбоцитопения; у другого пациента с СКВ с тройным положительным результатом на АФЛ, но без АФС, развилась ВТЭ во время легкой инфекции COVID-19. В двух случаях описан новый диагноз АФС у пациенток с инфекцией COVID-19, в одном также с новым диагнозом СКВ, а в другом – с выкидышами в анамнезе, у которых было кровоизлияние в надпочечники и трижды положительный профиль АФЛ. В целом же можно констатировать, что клинические исходы у пациентов с установленным АФС и инфекцией COVID-19 еще предстоит изучить на больших объемах статистических данных [34].

Примеры развития катастрофического АФС при других инфекциях

Особо опасной формой данной аутоиммунной патологии является развитие КАФС, довольно часто приводящего к летальным исходам пациентов. Так, Nawata A. et al. (2022) зафиксировали случай КАФС у 14-летней иммунокомпетентной девочки, у которой в течение одной недели развился почечный, кишечный и легочный инфаркт; тромбоцитопения и гемолитическая анемия. Спасти пациентку не удалось. После ее смерти были обнаружены АФЛ, что позволило диагностировать КАФС, а также был поставлен диагноз ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитоз (возможно, из-за реактивации ВЭБ). Постановка клинического диагноза КАФС была относительно сложной, поскольку имелись две разные причины тромбоцитопении: КАФС и гемофагоцитоз, которые привели к трудностям в понимании патогенеза этого случая. Наличие IgG как к капсидному антигену, так и к ядерному антигенам ВЭБ указывало на перенесенную инфекцию [35]. Другой пример развития КАФС, когда триггером послужил инфекционный агент - ВПГ, описан Catoggio C. et al. (2012). Пациентка 22 года с СКВ, волчаночным нефритом на фоне иммуносупрессивной терапии и бессимптомным носительством АФЛ, поступила с тонзиллитом и острым гепатитом, через несколько часов у нее развилась полиорганная недостаточность. Посмертное исследование выявило некроз печени, тонзиллит, фарингит и цервицит матки, вызванные ВПГ, а также микротромбоз в легких и клубочковых артериолах, что позволяет предположить диагноз молниеносной диссеминированной ВПГ-инфекции и КАФС [36].

Литература

1. Антифосфолипидный синдром - иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии. Под ред. Макацария А.Д. 2-е изд. М.: Триада-Х, 2013. 485 С.
2. Abdel-Wahab N., Lopez-Olivo M.A., Pinto-Patarroyo G.P., Suarez-Almazor M.E. Systematic review of case reports of antiphospholipid syndrome following infection. *Lupus*. 2016; 25(14): 1520-31.

3. Mendoza-Pinto C., Garcia-Carrasco M., Cervera R. Role of Infectious Diseases in the Antiphospholipid Syndrome (Including Its Catastrophic Variant). *Curr. Rheumatol. Rep.* 2018; 20(10): 62.
4. Shen X., Liu D., Lin Y., Zhu X.Z., Lin L.R., Tong M.L. et al. The characteristics of beta 2-glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibody and blood coagulation status in subjects with classical biological false-positive syphilis reactions. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 62: 132-8.
5. Обрядина А.П., Чепурченко Н.В. Ложноположительные результаты серологических исследований на сифилис. Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний. 2018; 1(18): 38-48.
6. De Larranaga G., Trombetta L., Wingeyer S.P., Remondino G. False positive reactions in confirmatory tests for syphilis in presence of antiphospholipid antibodies: misdiagnosis with prognostic and social consequences. *Dermatol. Online J.* 2006; 12(4): 22.
7. Liu G.L., Zhou X.Y., Dong R.J., Cao Y.K., Albarmaqi R.A., Li Y.Y. False-positive TPPA and TRUST syphilis test results in a patient with antiphospholipid syndrome and monoclonal immunoglobulinaemia. *Sex Transm. Infect.* 2022; 98(4): 313.
8. Schapkaitz E., Libhaber E., Jacobson B.F., Gerber A., Rhemtula H., Buller H.R. Profile of antiphospholipid antibodies in HIV-infected and HIV-uninfected women with a history of thrombosis. *Int. J. Lab. Hematol.* 2022; 44(3): 635-42.
9. Melayah S., Kallala O., Ben Ahmed M., Fodha I., Jemni Y.S., Ghedira I. et al. IgA anti-beta-2 glycoprotein I antibodies in chronic hepatitis C. *Arab. J. Gastroenterol.* 2022; 23(1): 26-31.
10. Huh J.Y., Yi D.Y., Hwang S.G., Choi J.J., Kang M.S. Characterization of antiphospholipid antibodies in chronic hepatitis B infection. *Korean J. Hematol.* 2011; 46(1): 36-40.
11. Al-Dohayan N.D., Al-Batniji F., Alotaibi H.A., Elbaage A.T. Hepatitis-A Infection-Induced Secondary Antiphospholipid Syndrome With Neuro-ophthalmological Manifestations. *Cureus.* 2021; 13(12): e20603.
12. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020; 395(10229): 1033-4.
13. Wang F., Hou H., Luo Y., Tang G., Wu S., Huang M. et al. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. *JCI Insight.* 2020; 5: e137799.
14. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020; 395(10234): 1417-8.
15. Levi M., Thachil J., Iba T., Levy J.H. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol.* 2020; 7(6): e438-e440.
16. Abou-Ismael M.Y., Diamond A., Kapoor S., Arafah Y., Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence, pathophysiology, and management. *Thromb. Res.* 2020; 194: 101-15.
17. Hanley B., Naresh K.N., Roufousse C., Nicholson A.G., Weir J., Cooke G.S. et al. Histopathological findings and viral tropism in UK patients with severe fatal COVID-19: a post-mortem study. *Lancet Microbe.* 2020; 1(6): e245-53.
18. Klok F.A., Kruij M.J.H.A., van der Meer N.J.M., Arbous M.S., Gommers D.A.M.P.J., Kant K.M. et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb. Res.* 2020; 191: 145-7.
19. Serrano M., Espinosa G., Serrano A., Cervera R. Antigens and Antibodies of the Antiphospholipid Syndrome as New Allies in the Pathogenesis of COVID-19 Coagulopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(9): 4946.
20. Chaturvedi S., Brodsky R.A., McCrae K.R. Complement in the Pathophysiology of the Antiphospholipid Syndrome. *Front Immunol.* 2019; 10: 449.
21. Cugno M., Meroni P.L., Gualtierotti R., Griffini S., Grovetti E., Torri A. et al. Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity. *J Autoimmun.* 2021; 116: 102560.
22. Leppkes M., Knopf J., Naschberger E., Lindemann A., Singh J., Herrmann I. et al. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. *EBioMedicine.* 2020; 58: 102925.
23. Meng H., Yalavarthi S., Kanthi Y., Mazza L.F., Elfine M.A., Luke C.E. et al. In Vivo Role of Neutrophil Extracellular Traps in Antiphospholipid Antibody-Mediated Venous Thrombosis. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69(3): 655-67.
24. Tang N., Bai H., Chen X., Gong J., Li D., Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(5): 1094-9.
25. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb. Haemost.* 2006; 4(2): 295-306.
26. Bowles L., Platton S., Yartey N., Dave M., Lee K., Hart D.P. et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(3): 288-90.
27. Amezcua-Guerra L.M., Rojas-Velasco G., Brianza-Padilla M., Vazquez-Rangel A., Marquez-Velasco R., Baranda-Tovar F. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: A case series study. *Ann. Rheum. Dis.* 2020; 80: e73.
28. Mendoza-Pinto C., Escarcega R.O., Garcia-Carrasco M., Bailey D.J., Galvez-Romero J.L., Cervera R. Viral infections and their relationship with catastrophic antiphospholipid syndrome: A possible pathogenic mechanism of severe COVID-19 thrombotic complications. *J. Intern. Med.* 2020; 288: 737-9.
29. Gatto M., Perricone C., Tonello M., Bistoni O., Cattelan A.M., Bursi R. Frequency and clinical correlates of antiphospholipid antibodies arising in patients with SARS-CoV-2 infection: findings from a multicentre study on 122 cases. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2020; 38(4): 754-9.
30. Serrano M., Espinosa G., Lalueza A., Bravo-Gallego L.Y., Diaz-Simon R., Garcinuno S. et al. Beta-2-Glycoprotein-I Deficiency Could Precipitate an Antiphospholipid Syndrome-like Prothrombotic Situation in Patients With Coronavirus Disease 2019. *ACR Open Rheumatol.* 2021; 3(4): 267-76.
31. Xiao M., Zhang Y., Zhang S., Qin X., Xia P., Cao W. et al. Antiphospholipid Antibodies in Critically Ill Patients With COVID-19. *Arthritis Rheumatol.* 2020; 72(12): 1998-2004.
32. Gil-Etayo F.J., Garcinuno S., Lalueza A., Diaz-Simon R., Garcia-Reyne A., Pleguezuelo D.E. et al. Anti-Phospholipid Antibodies and COVID-19 Thrombosis: A Co-Star, Not a Supporting Actor. *Biomedicines.* 2021; 9(8): 899.
33. Sciascia S., Radin M., Bazzan M., Montaruli B., Cosseddu D., Norbiato C. et al. Antiphospholipid Antibodies and Infection: Non Nova Sed Nove. *Front Immunol.* 2021; 12: 687534.
34. Wang X., Gkrouzman E., Andrade D.C.O., Andreoli L., Barbhuiya M., Belmont H.M. et al. APS ACTION. COVID-19 and antiphospholipid antibodies: A position statement and management guidance from AntiPhospholipid Syndrome Alliance for Clinical Trials and International Networking (APS ACTION). *Lupus.* 2021; 30(14): 2276-85.
35. Nawata A., Shirayama R., Oshida K., Sato T., Ito T., Shiba E. et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytosis: A clinicopathological conference. *Lupus.* 2022; 31(11): 1385-93.
36. Catoggio C., Alvarez-Uria A., Fernandez P.L., Cervera R., Espinosa G. Catastrophic antiphospholipid syndrome triggered by fulminant disseminated herpes simplex infection in a patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2012; 21(12): 1359-61.

Нормативные документы

В соответствии со ст. 2 п. 6 Федерального закона от 25.12.2018 №489-ФЗ (ред. от 11.06.2021) "О внесении изменений в статью 40 Федерального закона "Об обязательном медицинском страховании в Российской Федерации" и Федеральный закон "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" по вопросам клинических рекомендаций" начиная с 01.01.2022 г. медицинская помощь, за исключением медицинской помощи, оказываемой в рамках клинической апробации, организуется и оказывается, в том числе, на основе клинических рекомендаций.

Перечень актуальных нормативных документов в сфере здравоохранения Российской Федерации, содержащих информацию об антифосфолипидном синдроме и лабораторных исследованиях на его серологические маркеры (по состоянию на 20.12.2022 г.)

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
Порядки оказания медицинской помощи и иные порядки, утвержденные в соответствии с Законом №323-ФЗ		
<i>Порядки оказания медицинской помощи</i>		
1	Приказ Минздрава России от 20.10.2020 №1130н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология" (Зарегистрировано в Минюсте России 12.11.2020 N 60869) Приказ вступает в силу с 01.01.2021 и действует до 01.01.2027	Раздел III Оказание медицинской помощи женщинам в период родов и в послеродовой период. П.27. Антифосфолипидный синдром (АФС) является одним из критериев для определения этапности оказания медицинской помощи и направления беременных женщин в акушерские стационары третьей А группы (уровня), имеющие в своем составе отделение анестезиологии-реанимации для женщин, отделение реанимации и интенсивной терапии (ОИТ) для новорожденных, отделение патологии новорожденных и недоношенных детей (II этап выхаживания), акушерский дистанционный консультативный центр с отделением телемедицины, в том числе с выездными бригадами скорой медицинской помощи анестезиологии-реанимации. Приложение 8. АФС входит в перечень обязательных вопросов формы талона-направления, в том числе для оценки преждевременных родов.
2	Приказ Минздрава России от 31.07.2020 №803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" (Зарегистрировано в Минюсте России 19.10.2020 N 60457) Приказ вступает в силу с 01.01.2021	Приложение 2. Перечень противопоказаний к применению вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и искусственной инсеминации: среди прочих болезней крови и кроветворных органов указано, что геморрагические нарушения, обусловленные циркулирующими в крови антикоагулянтами, вследствие тяжелого течения АФС являются противопоказанием к ВРТ. Проявляется при наличии в анамнезе повторных нарушений мозгового кровообращения, при формировании клапанных пороков сердца, поражении почек с артериальной гипертензией и почечной недостаточностью.
<i>Порядки проведения медицинских осмотров, диспансеризации, диспансерного наблюдения</i>		
3	Приказ Минздрава России от 10.06.2021 №629н (ред. от 19.08.2022) "Об утверждении Порядка диспансерного наблюдения детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями" (Зарегистрировано в Минюсте России 15.07.2021 N 64274) Приказ вступает в силу с 01.03.2022 и действует до 01.03.2028	Приложение. Периодичность и объем диспансерного наблюдения детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями. В группе диспансерного наблюдения: "нарушение свертываемости крови, пурпура и другие геморрагические состояния" среди прочего выделяют АФС с периодичностью диспансерных приемов врачом-специалистом 1 раз в 3 месяца. Лабораторные исследования включают: определение волчаночного антикоагулянта (ВА), антител к β2-2-гликопротеину 1 ($\alpha\beta$2-ГП1 IgM и IgG), антител к кардиолипину (αКЛ IgM и IgG).
Стандарты медицинской помощи		
<i>Стандарты первичной медико-санитарной помощи</i>		
<i>Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (D50 - D89)</i>		
1	Приказ Минздрава России от 20.12.2012 №1237н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи детям при гемофилии А, гемофилии В, болезни Виллебранда, редких геморрагических коагулопатиях и тромбоцитопатиях, протромботических состояниях, плановая первичная диагностика", возрастная категория: дети	Раздел 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны тест с ядом змеи Рассела или Тайпана, исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
2	Приказ Минздрава России от 09.11.2012 №833н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (обострение, рецидив)", возрастная категория: взрослые	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
<i>Болезни нервной системы (G00 - G99)</i>		
3	Приказ Минздрава России от 24.12.2012 №1534н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи при рассеянном склерозе (диагностика)", возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование антител к фосфолипидам в крови.
<i>Болезни системы кровообращения (I00 - I99)</i>		
4	Приказ Минздрава России от 19.04.2021 №371н "Стандарт медицинской помощи взрослым при легочной гипертензии, в том числе хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение)", возрастная категория: взрослые	Разделы 1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ , к β2-ГП1 и фосфолипидам в крови.
<i>Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00 - M99)</i>		
5	Приказ Минздрава России от 09.11.2012 №795н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи при узелковом полиартериите и родственных состояниях, других некротизирующих васкулопатиях и других системных поражениях соединительной ткани", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указано исследование аКЛ в крови.
6	Приказ Минздрава России от 09.11.2012 №761н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи при системной красной волчанке", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указано исследование аКЛ в крови.
<i>Беременность, роды и послеродовой период (O00 - O99)</i>		
7	Приказ Минздрава России от 20.12.2012 №1273н "Стандарт первичной медико-санитарной помощи при привычном невынашивании беременности", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
<i>Стандарты специализированной медицинской помощи</i>		
<i>Болезни нервной системы (G00 - G99)</i>		
8	Приказ Минздрава России от 20.12.2012 №1085н "Стандарт специализированной медицинской помощи при первом клиническом проявлении рассеянного склероза (клинически изолированном синдроме)", возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование антител к фосфолипидам в крови.
9	Приказ Минздрава России от 24.12.2012 №1409н "Стандарт специализированной медицинской помощи при остром рассеянном энцефаломиелите", возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование антител к фосфолипидам в крови.
10	Приказ Минздрава России от 29.12.2012 №1693н "Стандарт специализированной медицинской помощи при транзиторной ишемической атаке", возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование антител к фосфолипидам в крови.
11	Приказ Минздрава России от 24.12.2012 №1543н "Стандарт специализированной медицинской помощи при полиневропатии с системными поражениями соединительной ткани", возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование аКЛ в крови.
<i>Болезни системы кровообращения (I00 - I99)</i>		
12	Приказ Минздрава России от 19.04.2021 №371н "Стандарт медицинской помощи взрослым при легочной гипертензии, в том числе хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение)", возрастная категория: взрослые	Разделы 1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ , к β2-ГП1 и фосфолипидам в крови.

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
13	Приказ Минздрава России от 19.04.2021 №371н "Стандарт медицинской помощи взрослым при легочной гипертензии, в том числе хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение)", возрастная категория: взрослые	Разделы 1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния и 2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ , к β2-ГП1 и фосфолипидам в крови.
<i>Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00 - M99)</i>		
14	Приказы Минздрава России от 07.11.2012 №631н, от 09.11.2012 №706н "Стандарт специализированной медицинской помощи при узелковом полиартериите и родственных состояниях, других некротизирующих васкулопатиях и других системных поражениях соединительной ткани", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
15	Приказ Минздрава России от 07.11.2012 №654н "Стандарт специализированной медицинской помощи при системной красной волчанке (в дневном стационаре)", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
16	Приказы Минздрава России от 07.11.2012 №617н от 09.11.2012 №749н "Стандарт специализированной медицинской помощи при дерматополимиозите", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
17	Приказ Минздрава России от 07.11.2012 №686н "Стандарт специализированной медицинской помощи при системном склерозе", возрастная категория: взрослые, дети	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
<i>Болезни мочеполовой системы (N00 - N99)</i>		
18	Приказ Минздрава России от 09.11.2012 №763н "Стандарт специализированной медицинской помощи при нефротическом синдроме (стероидрезистентном)", возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указано исследование аКЛ в крови.
19	Приказ Минздрава России от 29.12.2012 №1683н "Стандарт специализированной медицинской помощи при нефротическом синдроме (диагностика, лечение)", возрастная категория: взрослые	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
<i>Беременность, роды и послеродовой период (O00 - O99)</i>		
20	Приказ Минздрава России от 07.11.2012 №588н "Стандарт специализированной медицинской помощи при гипоксии плода, недостаточным росте плода, других плацентарных нарушениях", возрастная категория: несовершеннолетние и совершеннолетние	Разделы 1. Медицинские мероприятия для диагностики заболевания, состояния. Среди лабораторных методов указаны исследования антител к КЛ и фосфолипидам в крови.
Клинические рекомендации, утвержденные после 01.01.2019*		
<i>Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (D50 - D89)</i>		
1	Клинические рекомендации "Гемолитико-уремический синдром", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2022, год окончания действия: 2024; возрастная категория: дети	Раздел 2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний), медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики. Среди критериев, позволяющих заподозрить атипичный гемолитико-уремический синдром выделяют отсутствие признаков системной красной волчанки (СКВ) и АФС. Необходимо проведение лабораторных исследований для исключения СКВ и АФС. Сочетание клинико-лабораторных проявлений тромботической микроангиопатии (ТМА) с наличием антифосфолипидных антител свидетельствует в пользу диагноза "катастрофический АФС" (КАФС), независимо от того, имеются или отсутствуют у пациента клинические и иммунологические признаки СКВ. Диагностика системной патологии у пациентов с ТМА необходима, поскольку выявленный спектр маркеров определяет терапевтическую тактику.

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
2	Клинические рекомендации "Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура у взрослых", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики 2.3 Лабораторные диагностические исследования. При проведении лабораторных диагностических исследований для уточнения диагноза и дифференциальной диагностики вторичных иммунных тромбоцитопений всем пациентам кроме прочего рекомендуется определение в крови: значения ВА, аКЛ IgM и IgG, аβ2-ГП1 IgM и IgG.
3	Клинические рекомендации "Иммунная тромбоцитопения", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: дети	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию (группы заболеваний или состояний). 1.2 Этиология и патогенез заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний). Среди этиологических причин вторичной иммунной тромбоцитопении (ИТП) - наличие АФС . Раздел 2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики. 2.3 Лабораторные диагностические исследования. При проведении лабораторных диагностических исследований для уточнения диагноза и дифференциальной диагностики ИТП всем пациентам для подтверждения/исключения системных заболеваний наряду с другими рекомендуется определение содержания антител к фосфолипидам в крови и др.
<i>Болезни нервной системы (G00 - G99)</i>		
4	Клинические рекомендации "Рассеянный склероз", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2022, пересмотр не позднее: 2024; возрастная категория: взрослые, дети	Приложение А3.3. Дифференциальная диагностика рассеянного склероза. Проводится с несколькими основными группами заболеваний, включая системные воспалительные заболевания с аутоиммунными механизмами развития, в том числе АФС . Серологические критерии включают поиск диагностически значимых титров антител к фосфолипидам мембран клеток.
5	Клинические рекомендации "Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию (группы заболеваний или состояний). 1.5 Классификация заболевания или состояния. АФС входит в группу критериев постановки диагноза инсульта другой установленной этиологии (пациенты с редкими причинами ишемического инсульта).
<i>Болезни системы кровообращения (I00 - I99)</i>		
6	Клинические рекомендации "Легочная гипертензия, в том числе хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2020, год окончания действия: 2022; возрастная категория: взрослые	Раздел 2.3 Лабораторные диагностические исследования. Среди прочего рекомендуется определение содержания антител к КЛ , антител к фосфолипидам , к β2-ГП в крови пациентам с легочной гипертензией при подозрении на хроническую тромбоэмболическую болезнь легких для выявления факторов риска.
7	Клинические рекомендации "Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 2.3 Лабораторные диагностические исследования. 2.3.1 Микробиологическая (культуральная) диагностика. Пациентам с подозрением на инфекционный эндокардит и отсутствием микробиологического диагноза по данным всех доступных методов рекомендовано рассмотреть диагноз небактериальный тромбозендокардит (НБТЭ) при наличии тромбоцитарных масс на клапане. В качестве комментария указано: при подозрении на НБТЭ необходимо дообследование на аутоиммунные заболевания с использованием методов обнаружения антиядерных антител или антифосфолипидного синдрома (исследование уровня альфа-1-гликопротеина (орозомукоида) в крови, определение содержания антител к КЛ в крови, определение содержания антител к фосфолипидам в крови, определение содержания антител к β2-ГП1 в крови, определение содержания антиядерных антител к Sm-антигену). Раздел 7. Дополнительная информация. 7.1. Небактериальный тромбозендокардит (тромботический, марантический, веррукозный, Либмана-Сакса). НБТЭ - состояние, связанное с рядом заболеваний, таких, как рак, системные заболевания соединительной ткани (например, системная красная волчанка при наличии антифосфолипидных антител - так называемый эндокардит Либмана-Сакса), аутоиммунные расстройства, гиперкоагуляционные состояния, септицемия, тяжелые ожоги или хронические заболевания. Пациентам с НБТЭ для дифференциальной диагностики с инфекционным эндокардитом рекомендовано выполнять иммунохимические исследования на АФС .
8	Клинические рекомендации "Флебит и тромбоз поверхностных вен", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию (группы заболеваний или состояний). 1.2 Этиология и патогенез заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний). Возможным фактором риска тромбоза поверхностных вен (ТФПВ) могут быть аутоиммунные заболевания, сопровождающиеся повышением уровня антител к КЛ . У пациентов с рецидивирующим ТФПВ в 33,3% случаев выявляют повышенный уровень антител к КЛ . Наиболее опасными осложнениями ТФПВ являются распространение тромба на глубокие вены (тромбоз глубоких вен) и развитие тромбоза легочных артерий. Приложение Г2. Градация значимости факторов риска рецидива венозной тромбоза (ВТЭ) во время беременности и в послеродовом периоде. При случившемся ТФПВ выявленный АФС служит одним из факторов высокого риска рецидива ВТЭ в текущую беременность.



№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
9	Клинические рекомендации "Варикозное расширение вен нижних конечностей", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; категория: взрослые	Приложение Г4. Шкала Каприни (Caprini) оценка риска ВТЭ у пациентов хирургического профиля. Как один из критериев - повышенный уровень антител к КЛ .
<i>Болезни мочеполовой системы (N00 - N99)</i>		
10	Клинические рекомендации "Атипичный гемолитико-уремический синдром", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 2.3 Лабораторные диагностические исследования. В качестве комментария указано: пациентам с симптомокомплексом ТМА необходимо исключать системные заболевания - СКВ, склеродермию и АФС . Последний может развиваться и в рамках СКВ (вторичный АФС), и как самостоятельное заболевание (первичный АФС). Сочетание клинико-лабораторных проявлений ТМА с наличием антифосфолипидных антител безусловно свидетельствует в пользу диагноза " КАФС ", независимо от того, имеются или отсутствуют у пациента клинические и иммунологические признаки СКВ. В связи с этим у данных пациентов следует обязательно определять серологические маркеры и СКВ, и АФС , поскольку выявленный у пациента спектр маркеров определяет терапевтическую тактику.
11	Клинические рекомендации "Синдром гиперстимуляции яичников", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию. 1.6 Клиническая картина заболевания или состояния. Наличие АФС является дополнительным фактором высокого риска развития тромбозмболии при синдроме гиперстимуляции яичников.
<i>Беременность, роды и послеродовой период (O00 - O99)</i>		
12	Клинические рекомендации "Выкидыш (самопроизвольный аборт)", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию. 1.2 Этиология и патогенез заболевания или состояния. К факторам риска выкидыша среди прочего относят хронические заболевания, в том числе АФС .
13	Клинические рекомендации "Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию. 1.6 Клиническая картина заболевания или состояния. Дифференциальный диагноз HELLP-синдрома, в том числе АФС . Раздел 3. Лечение, включая медикаментозную и немедикаментозную терапии, диетотерапию, обезболивание, медицинские показания и противопоказания к применению методов лечения. 3.6. Ведение пациентки с преэклампсией в ОИТ. В качестве комментария при подозрении на акушерскую ТМА требуется дифференциальная диагностика с другими формами, в том числе КАФС .
14	Клинические рекомендации "Венозные осложнения во время беременности и послеродовом периоде. Акушерская тромбозмболиа", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2022, год окончания действия: 2024; возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию. 1.5 Классификация заболевания или состояния. Классификация тромбофилии: среди прочего приобретенная тромбофилия, АФС . Классификация тромбофилии по степеням риска: наряду с другими АФС . Раздел 2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики. 2.3 Лабораторные диагностические исследования. Всем пациенткам, планирующим беременность, с ВТЭ в анамнезе, возникшим без большого фактора риска (операция, тяжелая травма), кроме прочего рекомендовано проведение обследования на определение содержания антител к кардиолипину в крови и волчаночного антикоагулянта. При возникновении случая ВТЭ во время беременности не рекомендовано исследование на волчаночный антикоагулянт, но необходимо выполнить определение содержания аКЛ и аβ2-ГП1 в крови. В качестве комментария указано: женщинам с ВТЭ во время беременности рекомендовано обследование на АФС , т.к. это может повлиять на выбор дозы препаратов для тромбопрофилактики, а также длительность проведения антикоагулянтной терапии. Раздел 5. Профилактика и диспансерное наблюдение, медицинские показания и противопоказания к применению методов профилактики. 5.2. Рекомендации по профилактике ВТЭ у женщин с наследственными и приобретенной тромбофилиями. Женщины с предшествующими ВТЭ, связанным с АФС или дефицитом антитромбина должны наблюдаться совместно с гематологом. При приеме пероральных антитромботических средств в течение длительного времени, женщинам с предшествующим ВТЭ, связанным с АФС , рекомендовано назначить тромбопрофилактику повышенной дозой низкомолекулярных гепаринов (подробнее Приложение Г4. Наличие АФС - очень высокий риск развития ВТЭ). Ведение беременных женщин с АФС и предшествующими ВТЭ или артериальными тромбозами рекомендовано осуществлять совместно с гематологом и/или ревматологом, имеющими клинический опыт в этой терапевтической области.

Нормативные документы

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов
15	Клинические рекомендации "Привычный выкидыш", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2022, год окончания действия: 2024; возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 1. Краткая информация по заболеванию или состоянию. 1.2 Этиология и патогенез заболевания или состояния. К причинам и факторам риска привычного выкидыша наряду с другими относят АФС . Раздел 2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики. 2.3 Лабораторные диагностические исследования. На прегравидарном этапе или при 1-ом визите во время беременности рекомендовано направлять пациентку с привычным выкидышем на определение содержания аКЛ в крови, определение содержания аβ2-ГП1 в крови, определение ВА в крови с целью диагностики АФС . В качестве комментария указано: исследование должно быть выполнено дважды с интервалом в 12 недель; лабораторным критерием диагностики АФС является повторное позитивное значение одного из маркеров АФС . Раздел 3. Лечение, включая медикаментозную и немедикаментозную терапии, диетотерапию, обезболивание, медицинские показания и противопоказания к применению методов лечения. 3.2. Медикаментозные методы лечения. При подтвержденном АФС рекомендовано назначить препараты группы гепарина в профилактической дозе, начиная с установления факта маточной беременности до ее завершения и 6 недель послеродового периода. Также при АФС рекомендовано назначить пероральный прием ацетилсалициловой кислоты с 12 до 36 недель беременности по 100 мг/сутки.
16	Клинические рекомендации "Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери (задержка роста плода)", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2022, год окончания действия: 2024; возрастная категория: взрослые, дети	Раздел 5. Профилактика и диспансерное наблюдение, медицинские показания и противопоказания к применению методов профилактики. Беременным пациенткам с выраженной задержки роста плода (ниже третьего перцентиля) в анамнезе и индуцированных преждевременных родах на сроке до 34 недель беременности рекомендовано определение содержания антител к фосфолипидам в крови для диагностики и своевременного лечения АФС , как возможного этиологического фактора задержки роста плода. Приложение А3.3. Факторы риска задержки роста плода/маловесности для гестационного возраста, доступные для сбора на сроке беременности до 12 недель - среди прочего следует учитывать АФС в анамнезе матери.
<i>Травмы, отравления и некоторые другие последствия воздействия внешних причин (S00 - T98)</i>		
17	Клинические рекомендации "Переломы бедренной кости (кроме проксимального отдела бедренной кости)", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2021, год окончания действия: 2023; возрастная категория: взрослые	Приложение Г1. Шкала индивидуальной оценки риска развития ВТЭ по Каприни: среди прочего оцениваются уровень аКЛ и наличие ВА .
<i>Факторы, влияющие на состояние здоровья и обращения в учреждения здравоохранения (Z00 - Z99)</i>		
18	Клинические рекомендации "Нормальная беременность", утверждены Минздравом России; год утверждения: 2020, год окончания действия: 2022; возрастная категория: взрослые, дети	Приложение Г1. Оценка риска тромбозомболии во время беременности. Анамнестические данные: наряду с другими оценивается наличие тромбофилии, вызванной АФС .

Примечание:

* В соответствии с п. 10 Приложения 1 Приказа Минздрава России от 28.02.2019 №103н "Об утверждении порядка и сроков разработки клинических рекомендаций, их пересмотра, типовой формы клинических рекомендаций и требований к их структуре, составу и научной обоснованности включаемой в клинические рекомендации информации" (Зарегистрирован Минюсте России 08.05.2019 №54588) клинические рекомендации пересматриваются не реже 1 раза в 3 года. Клинические рекомендации (протоколы лечения) по вопросам оказания медицинской помощи, утвержденные до 01.01.2019, применяются до их пересмотра и утверждения в соответствии с чч. 3, 4, 6 - 9 и 11 ст. 37 Закон №323-ФЗ, но не позднее 31.12.2021 г. (Федеральный закон от 25.12.2018 №489-ФЗ).

Тест-системы для диагностики инфекционных заболеваний
производства ООО "НПО "Диагностические системы"

Гепатит В

Выявление HBsAg с чувствительностью 0,05 и 0,01 МЕ/мл

Подтверждение наличия HBsAg

Качественное и количественное определение суммарных антител к HBsAg

Выявление суммарных антител к core-Ag вируса гепатита В

Выявление антител класса М к core-Ag вируса гепатита В

Выявление антител класса G к E-антигену вируса гепатита В

Выявление E-антигена вируса гепатита В

Гепатит С

Выявление и подтверждение наличия суммарных антител к вирусу гепатита С

Выявление спектра антител к индивидуальным белкам вируса гепатита С (core, NS3, NS4, NS5)

Выявление core-Ag вируса гепатита С

Одновременное выявление антител и антигена к вирусу гепатита С

Выявление антител класса М к вирусу гепатита С

Определение индекса avidности антител класса G к вирусу гепатита С

ВИЧ-инфекция

Выявление антител к вирусам иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов

Выявление (подтверждение) антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1-го типа с чувствительностью 0,5 пг/мл

Одновременное определение суммарных антител или антител к отдельным белкам вирусов иммунодефицита человека 1-го (ВИЧ-1) и 2-го типов, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1-го типа

Выявление антител к отдельным белкам вирусов иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов методом линейного иммуноблота

Определение вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1-го типа и ВИЧ-1 группы О

Сифилис

Выявление суммарных антител и антител классов G и М отдельно к возбудителю сифилиса

Выявление ассоциированных с сифилисом реактивных антител (полный аналог RPR-теста)

Качественное и полуколичественное определение специфических антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации

COVID-19

Выявление спектра антител классов G, М, А к вирусу SARS-CoV-2

Дифференцированное выявление антител к нуклеокапсиду и spike-белку вируса SARS-CoV-2

Количественное определение антител класса G к spike-белку вируса SARS-CoV-2

Оценка иммунного ответа посредством определения нейтрализующих антител к spike-белку вируса SARS-CoV-2

Материалы для входного и внутреннего контроля качества исследований на маркеры гепатитов В и С, ВИЧ-инфекции и сифилиса

СПИСОК АББРЕВИАТУР

ААФС	акушерский антифосфолипидный синдром	МАК	мембрано-атакующий комплекс
аА5	антитела к аннексину 5	НБТЭ	небактериальный тромбоэндокардит
аД1	антитела к домену 1	НВЛ	нейтрофильные внеклеточные ловушки
аКЛ	антитела к кардиолипину	НТТ	нетрепонемный тест
АФС	антифосфолипидный синдром	ОИТ	отделение интенсивной терапии
АФЛ	антифосфолипидные антитела	ОП	оптическая плотность
аФС	антитела к фосфатидилсерину	ОРДС	острым респираторный дистресс-синдром
аФС/ПТ	антитела к комплексу фосфатидилсерин-протромбин	ОШ	отношение шансов/рисков
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время	ПВДФ	поливинилиденфторидная мембрана
аβ2-ГП1	антитела к β2-гликопротеину 1	РИФабс.	реакция иммунофлуоресценции с абсорбцией
β2-ГП1	β2-гликопротеин 1	СКВ	системная красная волчанка
ВА	волчаночный антикоагулянт	СЭМ	сертифицированные эталонные материалы
ВГА	вирус гепатита А	ТМА	тромботическая микроангиопатия
ВГВ	вирус гепатита В	ТТ	трепонемный тест
ВГС	вирус гепатита С	ТФПВ	тромбофлебит поверхностных вен
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека	ТЭО	тромбоэмболические осложнения
ВПГ	Вирус простого герпеса	ХГС	хронический гепатит С
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии	ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение
ВТЭ	венозная тромбоэмболия	COVID-19	новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2
ВЭБ	Вирус Эпштейна-Барр	CV	коэффициент варируемости/вариации
ГА	гепатит А	dRVVT	(Dilution time of Russell's viper venom) тест с разведением яда гадюки Рассела
ДИ	доверительный интервал	GPL	единицы фосфолипида IgG
Д1	домен 1 β2-гликопротеина-1	ISTH	(The International Society on Thrombosis and Haemostasis) Международное общество по тромбозу и гемостазу
ИБ	иммунный блотинг/иммуноблот	MHA-TP	тест микроагглютинации на антитела к <i>T.pallidum</i>
ИТП	иммунная тромбоцитопения	MPL	единицы фосфолипида IgM
ИФА	иммуноферментный анализ	TPPA	(<i>Treponema pallidum</i> particle agglutination) реакция агглютинации частиц <i>T.pallidum</i>
КАФС	катастрофический антифосфолипидный синдром	TRUST	(Toluidine red unheated serum test) реакция микропреципитации с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой
КЛ	кардиолипид	VDRL	(Venereal Diseases Research Laboratories) тест лаборатории по исследованию венерических заболеваний
ЛПР	ложноположительные результаты/реакции		

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

Центральный офис
ООО «НПО «Диагностические системы»:

603155, г. Нижний Новгород
ул. Горького, д. 195
тел./факс канцелярии (831) 434-86-83
тел. 8-800-555-03-00 (звонок по России бесплатный)
E-mail: info@npods.ru, selling@npods.ru
официальный сайт: <http://www.npods.ru>

Служба поддержки клиентов:
тел.(831) 467-82-18 (доб.7647,7655)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д.12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194214, г. Санкт-Петербург, ул.Рашетова, д.14, пом.12Н тел/факс (812) 414-46-56 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./ факс (391) 219-22-20, отдел закупок (391) 219-99-10 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО "Диагностические системы—Урал" 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 5, вход 6 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Краснодар	ООО «Диагностические системы—Юг» 350049, г. Краснодар, ул. Им. Бабушкина, д. 226 тел/факс: 8 (918) 463-56-56 andmoses@gmail.com
Казахстан	ТОО "Halyk Medical Company" 050019, Республика Казахстан, г. Алматы, Медеуский район, ул. Гурилева, д. 106А, тел.+7-701-318-94-37 sales2@halykmedical.kz
Узбекистан	ООО "INSEP" 100047, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. С. Азимова, 2-й проезд, д. 15 тел./факс +99871-209-09-04, info@insep.uz