© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

АНТИФОСФОЛИПИДНЫЕ АНТИТЕЛА: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

ВОЛКОВА М.В.*, КУНДЕР Е.В., ГЕНЕРАЛОВ И.И.*, РОГГЕНБУК Д.*****

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь
**ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Республика Беларусь
***Бранденбургский технологический университет, Германия

Резюме.
Изучение антифосфолипидного синдрома является приоритетным направлением современного здравоохранения. Это связано с высокой демографической значимостью данной патологии. Антифосфолипидные антитела вносят весомый вклад в развитие акушерской патологии, таких состояний, как невынашивание беременности, преждевременные роды и др. Также антифосфолипидные антитела значительно влияют на развитие фатальных тромботических событий (инфаркта миокарда, инфаркта мозга) во всех возрастных группах. Лабораторная диагностика антифосфолипидного синдрома имеет объективные трудности, так чувствительность тестов на основе иммуноферментного анализа остается низкой. В настоящее время разработаны новые диагностические тесты на основе линейного энзимоиммунного анализа, которые позволяют повысить чувствительность определения антифосфолипидных антител. В данном обзоре обсуждаются современные данные о патогенезе, клинических проявлениях антифосфолипидного синдрома и новых диагностических подходах в определении антифосфолипидных антител.
Ключевые слова: антифосфолипидные антитела, антифосфолипиный синдром, иммуноферментный анализ, линейный энзимоиммуный анализ.

Abstract.
The study of antiphospholipid syndrome is a priority for modern health care. This is due to the high demographic significance of this pathology. Antiphospholipid antibodies greatly contribute to the development of obstetric pathology, such conditions as miscarriage, premature birth, and others. Also antiphospholipid antibodies significantly affect the development of fatal thrombotic events (myocardial infarction, cerebral infarction) in all age groups. Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome has objective difficulties because of low sensitivity of enzyme immunoassay. Nowadays new antiphospholipid antibodies tests based on linear immunoassay method are developed. They have higher sensitivity in comparison with enzyme immunoassay. This review discusses recent data on the pathogenesis, clinical manifestations of antiphospholipid syndrome and new diagnostic approaches in the antiphospholipid antibodies determination.
Key words: antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome, enzyme immunoassay, linear immunoassay.

Антифосфолипидный синдром (АФС), также известный как Hughes синдром, является аутоиммунно - обусловленным состоянием гиперкоагуляции, связанным с наличием антифосфолипидных антител. АФС характеризуется артериальными и венозными тромбозами, а также акушерской патологией - невынашиванием беременности, преждевременными родами, преэклампсией, мертворождением [1].

Изучение АФС находится в центре внимания исследователей во всем мире. И всего за 30-летнюю историю заболевания в настоящее время накоплено много фундаментальных и клинических данных. Недавно опубликованы данные первого крупного многоцентрового проспективного исследования, в котором

в течение 10 лет оценивали заболеваемость и смертность при АФС. Согласно результатам этого исследования наличие АФС значительно влияет на продолжительность жизни пациентов. Несмотря на проводимую терапию 10-летняя выживаемость пациентов с АФС составляет 90%. Наиболее частыми причинами смерти являются тяжелые тромбозы (36,5% пациентов) и инфекции (26,9%) [2].

В связи с улучшением диагностических возможностей обозначилась новая проблема – выявление носительства антифосфолипидных антител (АФЛА) до развития клинических проявлений. Необходимо ли стратифицировать риск развития тромботических осложнений у носителей АФЛА, какие популяции АФЛА наиболее часто связаны с тромбозами или акушерской патологией, требуется ли носителям АФЛА профилактическое лечение – эти и другие вопросы сейчас стоят перед исследователями и клиницистами.

Целью данного обзора является анализ современных данных о АФС и носительстве антифосфолипидных антител, а также о подходах к лабораторной диагностике данного заболевания.

Антифосфолипидные антитела и их участие в патогенезе АФС

Для диагностики АФС используются Международные критерии, пересмотренные в 2006 году. Для постановки диагноза необходимо наличие у пациента тромбоза или акушерской патологии в анамнезе и двукратное обнаружение антител к фосфолипидам в течение 12 недель [3].

Антифосфолипидные антитела (АФЛА) – это гетерогенная группа антител, направленных против фосфолипидов клеточных мембран, определенных белков крови, связывающих фосфолипиды, а также комплексов белок-липид.

Согласно критериям 2006 года для диагностики АФС используется определение антител к кардиолипину, бета2-гликопротеину 1 и волчаночного антикоагулянта.

Кардиолипин является важнейшим компонентом внутренней митохондриальной мембраны и составляет около 20% от всех липидов, где он участвует в работе множества ферментов, вовлеченных в митохондриальный энергетический метаболизм. Также кардиолипин является составляющим компонентом мембран большинства бактерий. Кроме этого, кардиолипин вовлечен в регуляцию процессов апоптоза и коагуляции [4-6].

Бета2-гликопротеин 1(β2GPI), также называемый аполипопротеин Н, представляет собой полипептид, состоящий из 326 аминокислотных остатков, в четырех доменах (I-IV) размером приблизительно 60 аминокислотных остатков каждый, и одного домена (домен V) из 84 аминокислотных остатка, через которые и происходит связывание анионных фосфолипидов. β2GPI продуцируется гепатоцитами, эндотелиальными клетками и клетками трофобласта [7-8]. β2GPI имеет ряд функций, направленных на поддержание антикоагуляции.

Образующиеся при АФС антитела имеют непосредственное патогенетическое действие. В качестве примера следует рассматривать иммунопатогенетическое действие антител к β2GPI. Антитела к β2GPI демонстрируют различную доменную специфичность. Так, антитела, распознающие домен 1, составляют большинство антител к β2GPI. Они были обнаружены у многих пациентов с анамнезом тромбоза, в то время как антитела к домену V не связаны с развитием тромбоза [9]. Обычно связывание АФЛА с эпитопом в домене I невозможно из-за физиологической конформации циркулирующего β2GPI. При определенных условиях, таких как инфекция, происходит изменение конформации белка, что приводит к экспозиции иммуногенного эпитопа домена I, с которым и связываются антитела [10].

Основная роль АФЛА заключается в активации тромбоцитов. Анти- β2GPI антитела распознают димеризированный β2GPI, связанный с тромбоцитарным фактором 4 (ТФ4). Комплекс ТФ4- β2GPI активирует тромбоциты путем фосфорилирования p38 MAP-киназы, экспрессии GPIIb/3a рецептора, синтеза и высвобождения тромбоксана B2, что впоследствии приводит к развитию тромбоза [11]. Также были описаны и другие механизмы активации тромбоцитов, такие как взаимодействие β2GPI -распознающих антител и комплекса гликопротеин 1b-(GP1b-) аполипопротеиновый рецептор E2 (APOER2), а также связывание β2GPI /анти- β2GPI комплекса через белки, ассоциированные с LDL-рецепторами [12].

Также АФЛА способны инактивировать антикоагулянтные факторы. Анти-бета2-гликопротеин1 антитела при связывании со своей мишенью блокируют протеин С (гликопротеин, участвующий в разрушении V фактора). Антитела, относящиеся к группе волчаночного антикоагулянта, связывают протромбин, что ведет к повышению концентрации его активной формы - тромбина. Антитела к протеину - кофактору протеина С, также встречающиеся при АФС, снижают его активность [13]. Участие АФЛА в гиперкоагуляционной стадии основывается на несколько иных механизмах. Под действием АФЛА происходит индукция повышенной продукции тканевых факторов свертывания, что активирует внешний путь коагуляции, повышается резистентность к активации протеина С, и связывается аннексин 5. Функция аннексина 5 заключается в формировании барьера вокруг отрицательно заряженных фосфолипидов, что снижает их доступность для коагуляции. Следовательно, антитела к аннексину 5 усиливают этапы коагуляции, связанные с фосфолипидами [14].

Эндотелиальная дисфункция является дополнительным важным механизмом, приводящим к тромбозу при АФС. Фактически АФЛА могут индуцировать прокоагулянтную активность в эндотелиальных клетках посредством индукции экспрессии прокоагулянтных, провоспалительных и проадгезивных молекул, что приводит к связыванию циркулирующих лейкоцитов. Также в эндотелиальных клетках повышается экспрессия молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E-selectin) [15], усиливается транскрипция тканевых факторов через фосфорилирование p38 MAP киназы (NF-κB путь) [16], увеличивается продукция цитокинов/хемокинов IL-4, IL-6, IL-8, MCP-1 и TNF-α [17-18].

Возможная патогенетическая роль системы комплемента при АФС-ассоциированных тромбозах рассматривалась при исследовании на животных моделях. У мышей с дефицитом C3 и C5 компонентов комплемента не развивались тромбозы и выкидыши, индуцирумые АФЛА [19-20]. Более того, повышенные уровни активированных компонентов комплемента обнаружены в плазме пациентов с АФС, которые имели в анамнезе церебральное ишемическое событие, по сравнению с пациентами без церебральной ишемии [21].

Таким образом, АФЛА участвуют в различных патогенетических взаимодействиях, ведущих к развитию нарушения свертывания крови, которые являются причиной развития проявлений АФС.

Клиническое значение АФЛА

Клинические проявления АФС чрезвычайно разнообразны. Наибольшую значимость имеет патология беременности и тромботические события любой локализации.

В связи с широкой распространенностью акушерской патологии при АФС акушерский антифосфолипидный синдром в настоящее время выделен в отдельную группу от васкулярного АФС. Патология беременности при АФС определяется рядом клинических проявлений: 3 и более выкидыша до 10 недель гестации, как минимум один эпизод необъясненной гибели плода после 10 недель гестации, преждевременные роды нормального новорожденного до 34 недель гестации вследствие эклампсии, преэклампсии или плацентарной недостаточности [22]. Известно, что АФС повышает риск развития преэклампсии в 9 раз [23]. Согласно проспективному многоцентровому исследованию 1000 пациенток с АФС самой частой акушерской патологией при АФС является раннее прерывание беременности (16,5% беременностей). Следует обратить внимание, что пациенты в данном исследовании наблюдались в профильных центрах и получали оптимальную терапию.

Наличие АФС у матери оказывает значительно влияние на состояние плода. Наиболее часто наблюдается задержка внутриутробного развития (26,5%), недоношенность (48,2%), низкая и очень низкая масса тела новорожденного [2].

Также известно, что экспозиция АФЛА во время беременности оказывает влияние на формирование ЦНС и дальнейшее нейро-психическое развитие ребенка. Однако в настоящее время практически отсутствуют данные об отдаленных исходах у детей, рожденных от матерей с АФС [24]. Данные о влиянии АФЛА на фертильность остаются противоречивыми [25-26].

В настоящее время считается, что аутоиммунность, в том числе и АФС, может быть причиной необъяснимого бесплодия. Поэтому

при бесплодном браке рекомендована ранняя диагностика и лечение иммунных нарушений [27]. 6,25% женщин, которые подвергались in-vitro оплодотворению, являлись носителями АФЛА по сравнению с 2% в общей популяции [28]. 69 % женщин с рецидивирующими выкидышами неизвестной этиологии имели иммунные нарушения [29].

Таким образом, АФЛА оказывают колоссальное влияние на течение беременности. Созрела необходимость целенаправленного скрининга носительства АФЛА у женщин фертильного возраста, с последующим более пристальным наблюдением за АФЛА-позитивными женщинами еще на этапе планирования беременности. Это позволит вовремя предпринимать профилактические и терапевтические меры и избегать нежелательных последствий. Поэтому в настоящее время требуется проведение специальных проспективных исследований с последующей разработкой рекомендаций по диагностике носительства АФЛА и терапевтической стратегии при этом состоянии.

Тромбозы также являются демографически значимым проявлением АФС. В проспективном многоцентровом исследовании установлено, что в течение 5 лет тромботические события развиваются приблизительно у 15% пациентов с АФС. Наиболее распространенными являются ишемические инсульты, транзиторные ишемические атаки, тромбоз глубоких вен нижних конечностей и тромбоэмболия легочной артерии [2].

Повреждение клапанного аппарата сердца, развитие псевдоинфекционного тромбэндокардита являются одними из частых проявлений АФС и встречается у 30% пациентов [30].

Установлена положительная взаимосвязь между курением, наличием АФЛА и развитием сосудистых событий у пациентов с СКВ [31], АФЛА также связаны с тяжелым течением и развитием легочной гипертензии при системном склерозе [32].

Необходимо отметить, что данные о клиническом значении АФЛА в настоящее время не систематизированы. Учитывая разнообразие клинических проявлений АФС, требуется проведение дальнейших исследований для уточнения и обобщения роли АФЛА как в клинике внутренних болезней, так и в других областях медицины.

Носительство АФЛА

Носительство АФЛА – это состояние, предшествующие каким-либо клиническим признакам АФС, когда в крови уже выявляются АФЛА. Это период, когда можно предупредить развитие неблагоприятных проявлений АФС. В настоящее время не разработано четких рекомендаций по диагностике носительства АФЛА и соответственно направленных на него терапевтических воздействий.

Известно, что наличие циркулирующих АФЛА, наряду с семейным анамнезом, мигренью с аурой, а также прекращением приема антиагрегантных или гипотензивных препаратов является независимым фактором риска развития повторных тромботических событий у людей 18-45-летнего возраста [33].

В другом исследовании также показано, что гипертензия и наличие АФЛА являются независимыми факторами риска тромбоза у носителей АФЛА. При наблюдении за носителями АФЛА у 5,4% из них развилось первое тромботическое событие в течение 1 года [34]. Характерным является увеличение риска развития тромбоза при высоких показателях сразу нескольких типов АФЛА. Тройная позитивность по волчаночному антикоагулянту, антителам к кардиолипину и B2GPI приводит к развитию первого тромботического события у 5,3% носителей АФЛА в год, а в течение 10 лет достигает 37% [35].

Патогенетическое действие АФЛА проявляется также при развитии ретинопатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Установлена более высокая встречаемость волчаночного антикоагулянта и антител к B2GPI у этих пациентов [36].

Несмотря на то, что роль АФЛА в развитии атеросклероза остается недостаточно изученной, не вызывает сомнения значимая роль АФЛА при ишемической болезни сердца. Согласно исследованию 334 случаев острого коронарного синдрома, 40% пациентов были АФЛА положительными. Позитивность по АФЛА коррелировала с тяжестью повреждения коронарных сосудов и развитием неблагоприятных исходов [37].

Проблема носительства АФЛА является чрезвычайно актуальной в контексте развития тромботических повреждений протезированных клапанов. В недавно опубликованном

исследовании показано, что наличие IgM или IgG антикардиолипиновых антител является независимым фактором в развитии тромбоза протезированного клапана [38].

Таким образом, выявление когорты пациентов, которые являются носителями АФЛА, определение взаимосвязей между специфичностью антител и исходами заболевания позволят оптимизировать оказание медицинской помощи и предотвратить развитие осложнений данного заболевания.

Определение антифосфолипидных антител. Диагностические подходы

Со времен начала исследования АФС под существенным влиянием группы Graham Hughes для определения АФЛА используется иммуноферментный анализ (ИФА) в пластиковом планшете, то есть с использованием твердой фазы для иммобилизации антигенов.

При диагностике сифилиса ложноположительные результаты определения антител к кардиолипину привели к выявлению группы пациентов с клиническими проявлениями АФС, в результате чего был выделен антикардиолипин-антительный синдром [1]. Позднее, после открытия дополнительной антигенной реактивности АФЛА, особенно к фосфолипидсвязывающим кофакторам, таким как β2GPI, аннексин V или протромбин, это клиническое состояние было переименовано в антифосфолипидный синдром.

Исторически ИФА был ведущим методом для определения АФЛА к β2GPI и его комплексу с кардиолипином вследствие специфических иммунохимических свойств полистироловой поверхности в качестве твердой фазы для адсорбции основных аутоантигенов. Оказалось, что путем активации твердой фазы ИФА радиоактивным облучением возможно определение специфичных для заболевания анти-β2GPI АФЛА без использования фосфолипидов в качестве дополнительного источника антигена [39]. Насыщенная кислородом поверхность вызывает конформационные изменения в молекуле β2GPI, аналогично действию отрицательно заряженных фосфолипидов и, таким образом, способствует связыванию аутоантител с основной антигенной мишенью [40]. Но это, очевидно, относится не к отдельным доменам в2GPI, как было показано в последнее время при поиске болезнь-специфичных эпитопов в2GPI методом ИФА [41]. При проведении ИФА для правильной презентации АФС-специфичного эпитопа домена 1 в2GPI поверхность планшета должна быть гидрофобной. Поэтому при разработке АФЛА тестов оказалось гораздо труднее учесть все различия в твердой фазе, источниках антигенов, обработке фосфолипидов, составе блокирующего, промывочного и солюционного буфера, а также температуре инкубации.

В течение более чем 30 лет интенсивной работы по стандартизации ИФА для определения АФЛА и, в частности, рекомендуемых анти-β2GPI и анти - β2GPI/кардиолипин тестов, не было предпринято никаких существенных шагов по изучению сопоставимости результатов определения АФЛА [42]. Только недавно, ввиду отсутствия стандартизации тестирования АФЛА, вновь был поднят вопрос о поиске альтернативы для решения этой проблемы. Представляют интерес новые подходы к выбору различных сред для реагирования АФЛА, а также использование новых твердых фаз для определения профиля АФЛА. Новые способы мультиплексного определения АФЛА с использованием микрочастиц и мультиплексных тестов, основанных на биосенсорах, а также линейный иммуноанализ (ЛИА) с новой мембраной в качестве твердой фазы могут быть интересной альтернативой ИФА для определения АФЛА [43].

Использование высокосвязывающих гидрофобных мембран в ЛИА позволяет применить новые подходы для определения профиля АФЛА с необходимой воспроизводимостью, что делает возможным всеобъемлющее и эффективное определение специфичности отдельных АФЛА и дальнейшие исследования их специфичности [43]. В дополнение к своим уникальным связывающим свойствам данные мембраны также предполагают возможность отдельной иммобилизации нескольких фосфолипидов или кофакторов. Таким образом, одновременное определение отдельных АФЛА в одном образце может быть относительно простым и недорогим (рис. 1). Такие мембраны были успешно использованы для определения аутоантител к гликолипидам и липополисахаридам в серологической диагностике аутоиммунных периферических нейропатий [44]. Так, в 1993 мембрану из поливинилидендифторида (PVDF) успешно

Рисунок 1 – Макет полоски для линейного иммуноанализа.
А: антигены наносятся для одновременного определения нескольких АФЛА в одном образце сыворотки.
В: Положительные и отрицательные результаты определения IgG АФЛА к β2GPI, фосфатидной кислоте (PA), фосфатидилхолину (PC), фосфатидилэтаноламину (PE), фосфатидилглицерину (PG), фосфатидилинозитолу (PI), фосфатидилсерину (PS).

использовали в качестве твердой фазы в точечном иммуноанализе для определения антител к ганглиозидам в сыворотках пациентов с неврологическими заболеваниями [45].

Таким образом, новые твердые фазы должны обеспечить необходимые для надежного определения антител конформационные изменения фосфолипидсвязывающих кофакторов. Метод ЛИА был успешно использован и его результаты существенно не отличались от результатов, полученных методом ИФА для выявления специфичных для АФС анти-β2GPI АФЛА [43]. Можно предположить, что на мембранах происходят необходимые конформационные изменения кофакторов [43].

Особенностью гидрофобных мембран в ЛИА в отличие от твердой фазы ИФА является уникальная возможность иммобилизации фосфолипидов. Пористая структура гидрофобной мембраны взаимодействует с гидрофобной частью фосфолипидов, которая составляет большую часть соответствующей молекулы. Таким образом, на поверхности мембраны достигается более высокая в отличие от ИФА поверхностная плотность гидрофильных групп (фактически аутоантигенных эпитопов или сайтов связывания кофакторов). Таким образом, считается, что именно на мембране, а не на полистироловом планшете для ИФА фосфолипиды адсорбируются в исходной естественной конформации. Поскольку чаще всего АФЛА встречаются в средних концентрациях и обладают низкой авидностью, для стабильного взаимодействия необходимо образование двухцентровых связей. Поэтому высокая плотность эпитопов на гидрофильной части мембраны является преимуществом. Таким образом, при ЛИА в отличие от ИФА формируется совершенно новая реакционная среда, которая позволяет проводить одновременное определения трех типов АФЛА (табл. 1).

Таблица 1 – Типы антител против фосфолипидов и их кофакторов (АФЛА), которые могут быть обнаружены с помощью линейного иммуноанализа

Тип АФЛА	Целевая структура
1	Чистые фосфолипиды, например: кардиолипин, фосфотидилглицерол, фосфотидилсерин
2	Комплексы, состоящие из кофактора и соответствующего фосфолипида, например: β2GPI-кардиолипин, протромбин-фосфотидилсерин
3	Чистые кофакторы, например: β2GPI, аннексин V, протромбин

В частности, второй тип определяемых в ЛИА АФЛА – это новый дополнительный вариант обнаруживаемых АФЛА, который не учтен в рекомендуемом классификационными критериями ИФА. В тестируемой сыворотке от пациента присутствуют также и кофакторы, которые, следовательно, могут взаимодействовать с иммобилизованными фосфолипидами и, таким образом, становятся доступными в качестве антигенной мишени для АФЛА из этого же образца сыворотки.

Образование иммунных комплексов, состоящих из фосфолипидов и соответствующих им кофакторов, может происходить двумя способами (рис. 2). С одной стороны, предварительно образовавшиеся в сыворотке иммунные комплексы АФЛА и кофактора могут взаимодействовать с иммобилизованными на мембране фосфолипидами, и, с другой стороны, кофактор может сначала реагировать с иммобилизованным фосфолипидом и впоследствии данный комплекс обнаруживается АФЛА. В первом варианте АФЛА могут стабилизировать определенную конформацию кофактора, что способствует преимущественному взаимодействию с мембранными фосфолипидами, в то время как во втором варианте связывание кофакторов может приводить к их конформационным изменениям. Это в конечном итоге может приводить к образованию неоэпитопов и вызывать увеличение реакционной способности этих комплексов по отношению к АФЛА.

Однако определение АФЛА против чистых фосфолипидов (тип 1 АФЛА, табл. 1) является спорным вопросом [46]. Существует мнение, что специфичными для заболевания являются только АФЛА, изолированные на кофакторах [46]. С другой стороны, применение классического ИФА для определения АФЛА против чистого кардиолипина привело к обнаружению дополнительных АФЛА у 25% пациентов с АФС.

Примечательно, что такие АФЛА против чистых фосфолипидов обнаружены при рассеянном склерозе. Таким образом, можно заключить, что технология ЛИА позволяет определить более широкий спектр АФЛА по сравнению с ИФА и, следовательно, представляет собой улучшенную основу для мультиплексного обнаружения АФЛА.

Требуется дальнейшая проверка возможности использования ЛИА в диагностике АФС в клинической практике. Учитывая большое разнообразие клинических симптомов АФС можно предположить, что определение только АФЛА к β2GPI и его комплексу с кардиолипином методом ИФА не позволяет исследовать весь диапазон АФЛА, необходимый для диагностики АФС.

Количество и реактивность АФЛА, которые необходимо определять в рамках серологической диагностики АФС, все еще обсуждаются. Применение ЛИА для определения различных типов АФЛА может внести

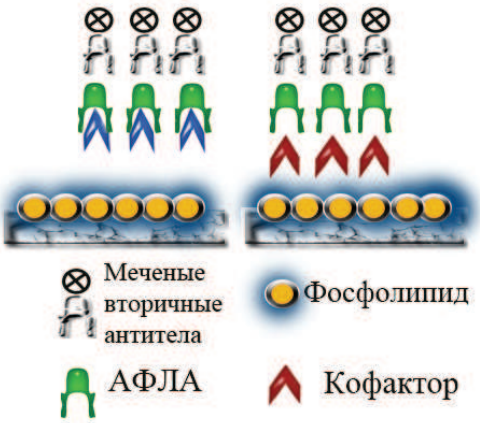

Рисунок 2 – Обнаружение антифосфолипидных антител против эндогенных кофакторов в сыворотке крови пациента.
А: Готовые иммунные комплексы, состоящие из антифосфолипидных антител и кофакторов, связываются с фосфолипидами. В: Вначале кофакторы связываются с фосфолипидами, что может привести к конформационным изменениям и формированию неоэпитопов. Впоследствии антифосфолипидные антитела из сыворотки реагируют со связанными кофакторами.

значительный вклад в данную научную дискуссию.

Количественная оценка данных АФЛА в связи с нерешенными вопросами стандартизации и отсутствием международных референс-стандартов имеет объективные трудности. Кроме того, нет достаточных доказательств того, что титр антител взаимосвязан с клиническими последствиями АФС. В настоящее время в клинической практике чаще используется полуколичественное определение [47]. С помощью денситометрических измерений при ЛИА можно получить полуколичественные данные с удовлетворительным коэффициентом вариации.

Таким образом, для лабораторного определения используется ряд методов, среди которых наиболее широко используемым является ИФА. Однако существует ряд объективных трудностей в использовании этого метода, которые создают предпосылки для разработки новых подходов для диагностики АФЛА. ЛИА можно рассматривать как достойную альтернативу для мультиплекного определения АФЛА. Для этого требуется проведения научных исследований для стандартизации определения антител и выявлению их взаимосвязи с клиническими проявлениями АФС.

Заключение

Определение антифосфолипидных антител играет существенную роль в диагностике АФС при клиническом подозрении на данное заболевание и, следовательно, приводит к соответствующим терапевтическим последствиям. Носительство антифосфолипидных антител в настоящее время может рассматриваться как предиктор развития клинических проявлений АФС.

Достоверное определение специфичных антифосфолипидных антител с помощью иммунологических методов наряду с обнаружением волчаночного антикоагулянта является обязательным для постановки диагноза в соответствии с международными стандартами. Новые подходы, которые включают определение профиля отдельных антифосфолипидных антител в сыворотке пациента, делает возможным более детальную диагностику АФС.

Важно, что накопление данных о патогенезе и клинических особенностях АФС, наряду с совершенствованием диагностики АФЛА и определением индивидуального профиля антител для конкретного пациента позволит в будущем улучшить оказание помощи пациентам с данной патологией, прогнозировать и предотвращать осложнения данного заболевания.

Литература

1. Hughes, G. R. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant / G. R. Hughes // Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.). – 1983 Oct. – Vol. 287, N 6399. – P. 1088–1089.
2. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients / R. Cervera [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2014 Jun. – Vol. 74, N 6. – P. 1011–1018.
3. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) / S. Miyakis [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2006 Feb. – Vol. 4, N 2. – P. 295–306.
4. Pangborn, M. Isolation and purification of a serologically active phospholipid from beef heart / M. Pangborn // J. Biol. Chem. – 1942. – Vol. 143 – P. 247–256.
5. Nowicki, M. Characterization of the Cardiolipin Synthase from Arabidopsis thaliana / M. Nowicki. – Skierniewice, Polen : RWTH-Aachen University, 2006.
6. Schlame, M. Mitochondrial cardiolipin in diverse eukaryotes / M. Schlame, S. Brody, K. Hostetler // European Journal of Biochemistry. – 1993 Mar. – Vol. 212, N 3. – P. 727–735.
7. de Laat, B. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies – from clinical association to pathologic mechanism / B. de Laat, K. Mertens, P. G. de Groot // Nature Clinical Practice Rheumatology. – 2008 Apr. – Vol. 4, N 4. – P. 192–199.
8. Beta2-glycoprotein 1 (beta2-GP1) mRNA is expressed by several cell types involved in antiphospholipid syndrome-related tissue damage / B. Caronti [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 1999 Jan. – Vol. 115, N 1. – P. 214–219.
9. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of β2-glycoprotein I cause AC, and their presence correlates strongly with thrombosis / B. de Laat [et al.] // Blood. – 2005 Feb. – Vol. 105, N 4. – P. 1540–1545.
10. de Groot, P. G. The significance of autoantibodies against β2-glycoprotein I / P. G. de Groot, R. T.

Urbanus // Blood. – 2012 Jul. – Vol. 120, N 2. – P. 266–274.
11. Comarmond, C. Antiphospholipid syndrome: from pathogenesis to novel immunomodulatory therapies / C. Comarmond, P. Cacoub // Autoimmunity Reviews. – 2013 May. – Vol. 12, N 7. – P. 752–757.
12. The binding site in {beta}2-glycoprotein I for ApoER2 on platelets is located is in domain V / M. van Lummel [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. – 2005 Nov. – Vol. 280, N 44. – P. 36729–36736.
13. Triplett, D. A. Antiphospholipid antibodies / D. A. Triplett // Archives of pathology & laboratory medicine. – 2002 Nov. – Vol. 126, N 11. – P. 1424–1429.
14. Rand, J. H. Antiphospholipid antibody syndrome: new insights on thrombogenic mechanisms / J. H. Rand // The American journal of the medical sciences. – 1998 Aug. – Vol. 316, N 2. – P. 142–151.
15. Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid antibody-β2-glycoprotein I complexes to phospholipid bilayers / J. H. Rand [et al.] // Blood. – 2008 Sep. – Vol. 112, N 5. – P. 1687–1695.
16. Yoon, K. H. Sufficient evidence to consider hydroxychloroquine as an adjunct therapy in antiphospholipid antibody (Hughes') syndrome / K. H. Yoon // Journal of Rheumatology. – 2002 Jul. – Vol. 29, N 7. – P. 1574–1575.
17. The putative role of cytokines in the induction of primary anti-phospholipid syndrome in mice / P. Fishman [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. – 1992 Nov. – Vol. 90, N 2. – P. 266–270.
18. Type 1 and type 2 cytokine-producing CD4+ and CD8+ T cells in primary antiphospholipid syndrome / M. Karakantza [et al.] // Annals of Hematology. – 2004 Nov. – Vol. 83, N 11. – P. 704–711.
19. Salmon, J. Complement activation as a mediator of antiphospholipid antibody induced pregnancy loss and thrombosis / J. Salmon, G. Girardi, V. Holers // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2002 Nov. – Vol. 61, Suppl. 2. – P. ii46–ii50.
20. C6 knock-out mice are protected from thrombophilia mediated by antiphospholipid antibodies / A. Carrera-Mar´n [et al.] // Lupus. – 2012 Dec. – Vol. 21, N 14. – P. 1497–1505.
21. Davis, W. D. Antiphospholipid antibodies and complement activation in patients with cerebral ischemia / W. D. Davis, R. L. Brey // Clinical and Experimental Rheumatology. – 1992 Sep-Oct. – Vol. 10, N 5. – P. 455–460.
22. Obstetric antiphospholipid syndrome: a recent classification for an old defined disorder / S. D'Ippolito [et el.] // Autoimmun. Rev. – 2014 Sep. – Vol. 13, N 9. – P. 901–908.
23. Quantification of circulating fetal DNA as a tool for potential monitoring of pregnant patients with antiphospholipid antibodies / M. Korabecna [et al.] // Autoimmunity. – 2014 Nov. – Vol. 47, N 7. – P. 473–477.
24. The effects of lupus and antiphospholipid antibody syndrome on foetal outcomes / C. Nalli [et al.] // Lupus. – 2014 May. – Vol. 23, N 6. – P. 507–517.
25. Antiphospholipid antibodies in relation to sterility/ infertility / M. Kovac [et al.] // Hum. Immunol. – 2012 Jul. – Vol. 73, N 7. – P. 726–731.
26. Association of common thrombophilias and antiphospholipid antibodies with success rate of in vitro fertilization / A. Steinvil [et al.] // Throm. Haemost. – 2012 Dec. – Vol. 108, N 6. – P. 1192–1197.
27. A panoramic view to relationship between reproductive failure and immunological factors / A. Kokcu [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2012 Nov. – Vol. 286, N 5. – P. 1283–1289.
28. Proietta, M. Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with sterility undergoing «in vitro» fertilization / M. Proietta, S. Ferrero, F. Del Porto // Lupus. – 2014 Jun. – Vol. 23, N 7. – P. 724–725.
29. Motak-Pochrzest, H. The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology / H. Motak-Pochrzest, A. Malinowski / Neuro. Endocrinol. Lett. – 2013. – Vol. 34, N 7. – P. 701–707.
30. Association between cardiac manifestations and antiphospholipid antibody type and level in a cohort of Serbian patients with primary and secondary antiphospholipid syndrome / A. Djokovic [et al.] // Isr. Med. Assoc. J. – 2014 Mar. – Vol. 16, N 3. – P. 162–167.
31. Cigarette smoking, antiphospholipid antibodies and vascular events in Systemic Lupus Erythematosus / J. T. Gustafsson [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2014 Apr.
32. The association of antiphospholipid antibodies with cardiopulmonary manifestations of systemic sclerosis / K. B. Morrisroe [et al.] // Clin. Exp. Rheumatol. – 2014 Nov-Dec. – Vol. 32, N 6. – P. 133–137.
33. Predictors of long-term recurrent vascular events after ischemic stroke at young age: the Italian Project on Stroke in Young Adults / A. Pezzini [et al.] // Circulation. – 2014 Apr. – Vol. 129, N 16. – P. 1668–1676.
34. Risk factors for a first thrombotic event in antiphospholipid antibody carriers: a prospective multicentre follow-up study / A. Ruffatti [et al.] / Ann. Rheum. Dis. – 2011 Jun. – Vol. 70, N 6. – P.

1083–1086.
35. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study / V. Pengo [et al.] // Blood. – 2011 Oct. – Vol. 118, N 17. – P. 4714–4718.
36. Study of antiphospholipid antibodies in type 2 diabetes mellitus with and without diabetic retinopathy / I. M. Cojocaru [et al.] // Rom. J. Intern. Med. – 2009. – Vol. 47, N 3. – P. 267–271.
37. Newer antiphospholipid antibodies predict adverse outcomes in patients with acute coronary syndrome / T. P. Greco [at al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2009 Oct. – Vol. 132, N 4. – P. 613–620.
38. Role of anticardiolipin antibodies in the pathogenesis of prosthetic valve thrombosis : An observational study / A. C. Aykan [et al.] // Herz. – 2015 May. – Vol. 40, N 3. – P. 528–533.
39. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus / E. N. Harris [et al.] // Lancet. – 1983 Nov. – Vol. 2, N 8361. – P. 1211–1214.
40. Measurement of anti-phospholipid antibodies by ELISA using beta 2-glycoprotein I as an antigen / J. Arvieux [et al.] // J. Immunol. Methods. – 1991 Oct. – Vol. 143, N 2. – P. 223–229.
41. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface / E. Matsuura [et al.] // J. Exp. Med. – 1994 Feb. – Vol. 179, N 2. – P. 457–462.
42. de Laat, B. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I / B. de Laat, P. G. de Groot // Curr. Rheumatol. Rep. – 2011 Feb. – Vol. 13, N 1. – P. 70–76.
43. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-β2-glycoprotein I testing: report from the 13th international Congress on Antiphospholipid Antibodies / G. Lakos [et al.] // Arthritis. Rheum. – 2011 Jan. – Vol. 64, N 1. – P. 1–10.
44. Single-step autoantibody profiling in antiphospholipid syndrome using a multi-line dot assay / K. Egerer [et al.] // Arthritis. Res. Ther. – 2011 Jul. – Vol. 13, N 4. – P. R118.
45. Dot-blot immunodetection of antibodies against GM1 and other gangliosides on PVDF-P membranes // F. Chabraoui [et al.] // J. Immunol. Methods. – 1993 Oct. – Vol. 165, N 2. – P. 225–230.
46. Forastiero, R. R. Binding properties of antibodies to prothrombin and beta2-glycoprotein I (beta2-GPI) assayed by ELISA and dot blot / R. R. Forastiero, M. E. Martinuzzo, L. O. Carreras // Clin. Exp. Immunol. – 1999 Dec. – Vol. 118, N 3. – P.480–486.
47. The anticardiolipin assay is required for sensitive screening for antiphospholipid antibodies / M. J. Nash [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2004 Jul. – Vol. 2, N 7. – P. 1077–1081.

Поступила 27.04.2015 г.
Принята в печать 10.06.2015 г.

Сведения об авторах:
Волкова М.В. – к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;
Кундер Е.В. – д.м.н., профессор кафедры кардиологии и ревматологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»;
Генералов И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;
Роггенбук Д. – профессор Бранденбургского технологического университета, Германия.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра госпитальной терапии. E-mail: margovolkova@gmail.com – Волкова Маргарита Васильевна.