

ДИАГНОСТИКА АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА У ЛИЦ С КЛИНИЧЕСКИМИ КРИТЕРИЯМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ. ОПЫТ ОТДЕЛЬНОГО АМБУЛАТОРНОГО ЦЕНТРА

Т.В. Вавилова^{1,2}, Л.А. Исаева², К.Ю. Гринченко¹, Ю.Д. Богатенкова², В.А. Сорокоунов^{2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

² Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городской консультативно-диагностический центр № 1»: 194354, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сикейроса, д. 10, литер А

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

Информация об авторах:

Вавилова Татьяна Владимировна – д.м.н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: +7 (921) 913-78-10; e-mail: vtv.lab.spb@gmail.com

Исаева Людмила Александровна – врач Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городской консультативно-диагностический центр № 1»; тел.: +7 (952) 283-20-89; e-mail: promedol999@mail.ru

Гринченко Ксения Юрьевна – клинический ординатор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: +7 (965) 770-68-65; e-mail: ksepo4ka@yandex.ru

Богатенкова Юлия Дмитриевна – к.м.н., Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городской консультативно-диагностический центр № 1»; тел.: +7 (921) 912-54-98

Сорокоунов Виктор Александрович – д.м.н., профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: +7 (911) 980-97-39; e-mail: vasorokoumov@yandex.ru

Резюме

Антифосфолипидный синдром (АФС) – это иммуноопосредованное нарушение коагуляции, диагностика которого требует обязательного лабораторного подтверждения. Поскольку клинические проявления АФС крайне разнообразны, в процесс диагностики вовлекаются различные специалисты – неврологи, кардиологи, хирурги, гематологи, эндокринологи, врачи клинической лабораторной диагностики и др. До настоящего времени остается открытым вопрос, кто именно должен ставить окончательный диагноз и курировать пациента с АФС. Опыт отдельного диагностического центра показывает распределение назначений и их соответствие рекомендациям при участии в этом процессе врачей разных специальностей. В нашем исследовании представлены также данные о частоте назначения лабораторных тестов для подтверждения АФС, которая составляет 1,2% от всех коагуляционных тестов. Среди пациентов с подозрением на АФС на основании клинических признаков только у 12,2% был подтвержден диагноз. Представлены опасности получения ложноположительных результатов, которые должны быть учтены при назначении лабораторных исследований.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, лабораторные тесты, диагностические критерии

Для цитирования: Вавилова Т.В., Исаева Л.А., Гринченко К.Ю., Богатенкова Ю.Д., Сорокоунов В.А. Диагностика антифосфолипидного синдрома у лиц с клиническими критериями заболевания. Опыт отдельного амбулаторного центра. *Атеротромбоз*. 2019;1:92-98. DOI: <https://doi.org/10.21518/2307-1109-2019-1-92-98>

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DIAGNOSIS OF ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME IN PEOPLE WITH CLINICAL CRITERIA OF THE DISEASE. EXPERIENCE OF A SEPARATE OUTPATIENT CENTER

Tatyana V. Vavilova^{1,2}, Ludmila A. Isaeva², Ksenia Yu. Grinchenko¹, Julia D. Bogatenkova², Victor A. Sorokoumov^{2,3}

¹ Federal State Budgetary Institution "Almazov National Medical Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation: 197341, Russia, St. Petersburg, Akkuratova St., 2

² Saint-Petersburg State Budgetary Health Institution "City Consulting and Diagnostic Center № 1": 194354, Russia, Saint-Petersburg, 10, Siqueiros Street, liter A

³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation: 197022, Russia, St. Petersburg, Lva Tolstogo St., 6-8

Author credentials:

Vavilova Tatyana Vladimirovna – Dr. of Sci. (Med), Professor, Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Center» of the Ministry of Health of the Russian Federation tel.:+7 (921) 913-78-10; e-mail: vtv.lab.spb@gmail.com

Isaeva Ludmila Aleksandrovna – Doctor of the St. Petersburg State Budgetary Health Institution «City Consulting and Diagnostic Center № 1»; tel: +7 (952) 283-20-89; e-mail: promedol999@mail.ru

Grinchenko Ksenia Yurievna – Clinical Resident of the Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Center» of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel: +7 (965) 770-68-65; e-mail: ksepo4ka@yandex.ru

Bogatenkova Julia Dmitrievna – Cand. of Sci. (Med), St. Petersburg State Budgetary Health Institution «City Consulting and Diagnostic Center № 1»; tel: +7 (921) 912-54-98

Sorokoumov Victor Alexandrovich – Dr. of Sci. (Med), Professor, Federal State Educational Institution of Higher Education «Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel: +7 (911) 980-97-39; e-mail: vasorokoumov@yandex.ru

Abstract

Antiphospholipid syndrome (APS) is an immune-mediated violation of coagulation, the diagnosis of which requires mandatory laboratory confirmation. Since the clinical manifestations of APS are extremely diverse, various specialists are involved in the diagnostic process – neurology, cardiologists, surgeons, hematologists, endocrinologists, laboratory medicine specialists, etc. So far, it remains an open question what specialist exactly should make the final diagnosis and supervise patient with APS. The experience of a separate diagnostic center shows the distribution of prescriptions and their compliance with the international recommendations. This study also provides data on the frequency of prescribing laboratory tests to confirm APS, which is 1.2% of all coagulation tests. Among the patients with suspected APS on the basis of clinical signs, only 12.2% of the diagnosis was confirmed. Presents the dangers of obtaining false-positive results that should be taken into account when prescribing laboratory tests.

Keywords: antiphospholipid syndrome, laboratory tests, diagnostic criteria

For citing: Vavilova T.V., Isaeva L.A., Grinchenko K.Yu., Bogatenkova Ju.D., Sorokoumov V.A. Diagnosis of antiphospholipid syndrome in people with clinical criteria of the disease. Experience of a separate outpatient center. *Atherothrombosis*. 2019;1:92-98. DOI: <https://doi.org/10.21518/2307-1109-2019-1-92-98>

Conflict of interest: The author declare no conflict of inter

ВВЕДЕНИЕ

Антифосфолипидный синдром (АФС) – это иммуноопосредованное нарушение коагуляции, в ходе которого формирующиеся аутоантитела активируют компоненты системы гемостаза, приводят к повторным венозным и артериальным тромбозам, а также осложнениям

беременности или ее невынашиванию [1]. Совокупность клинических и лабораторных критериев позволяет сформулировать диагноз АФС [2] и, следовательно, определить правильную тактику ведения пациента, поскольку в лечении таких больных ведущее значение имеет профилактика тромботических осложнений [3].

Лабораторное тестирование, которое является обязательным для постановки диагноза АФС, представляет собой непростую задачу. Ее решение может быть обеспечено только правильно и своевременно назначенными вполне определенными исследованиями, выполнением их в соответствии с международными рекомендациями, а также правильной интерпретацией результатов. В широкой клинической практике АФС встречается редко (0,05–0,2% популяции), поэтому в практике терапевта это не будет самой актуальной задачей [4]. Но в условиях специализированных учреждений, диагностических и перинатальных центров пациенты с подозрением на АФС будут встречаться часто, и лечащий врач должен быть готов выполнить весь диагностический протокол правильно.

Цель исследования: определить частоту встречаемости лабораторно подтвержденного АФС у лиц с клиническими критериями заболевания в условиях многопрофильного диагностического центра.

Материал и методы. Работа была выполнена на базе ФГБУЗ «Городской консультативно-диагностический центр № 1» Санкт-Петербурга (ГКДЦ № 1). В составе учреждения функционируют центр профилактики инсульта и кабинет контроля антикоагулянтной терапии, что определяет направление в Центр профильных пациентов с перенесенными тромботическими эпизодами, нуждающихся в постоянной антиромботической терапии. Здесь также концентрируются больные, имеющие трудности с подбором дозы варфарина, геморрагические осложнения или рецидивы тромботических эпизодов.

Исследование выполнено на основании анализа базы лабораторных данных коагулологических и иммунологических исследований за 6 мес. 2016 г. Исследования выполнялись по направлению врачей-клиницистов у пациентов с подозрением на АФС. Основанием служили клинические критерии диагноза: перенесенные непровоцированные эпизоды венозных или

артериальных (некардиоэмболический ишемический инсульт, острый коронарный синдром) тромбозов, осложнения беременности, соответствующие критериям диагностики АФС [2].

В соответствии с рекомендациями ISTH проводилось и лабораторное исследование, которое выполнялось по двум направлениям – коагулологическое тестирование на наличие волчаночного антикоагулянта (ВА) и иммунологическое выявление антикардиолипидных антител и антител к $\beta 2$ гликопротеину 1 (анти- $\beta 2$ ГП) методом иммуноферментного анализа (ИФА) [5].

Определение ВА проводили на анализаторе STA-Compact в два этапа. На первом этапе использовали тест с разведенным ядом гадюки Рассела – dRVV тест с реагентом STA-Staclot dRVV Screen для скринингового теста. Рассчитывали скрининговое отношение (СО) как время свертывания исследуемой плазмы / время свертывания пулированной нормальной плазмы. Если $СО > 1,2$, то результат теста считался положительным, что потенциально указывало на присутствие ВА и являлось показанием к выполнению исследования с подтверждающим тестом STA-Staclot dRVV Confirm. Рассчитывали подтверждающее отношение (ПО): $ПО = \text{время свертывания исследуемой плазмы} / \text{время свертывания пулированной нормальной плазмы}$. Конечный результат выражали в виде нормализованного отношения (НО). $НО = СО/ПО$. Если $НО \geq 1,2$, то результат на наличие ВА положительный, для окончательной постановки диагноза рекомендовали повторное проведение исследования через 12 нед. В качестве пулированной нормальной плазмы использовали приготовленный в лаборатории пул из 20 нормальных плазм пациентов с нормальными результатами скрининговых тестов (протромбиновое время, АЧТВ, фибриноген). В случае если $СО < 1,2$ или $НО < 1,2$, но выявлено удлинение АЧТВ в скрининговом тесте, в т. ч. с реагентом РТТ-ЛА, обязательным являлось проведение теста

смешивания для исключения дефицита факторов свертывания.

Предпочтительным условием было взятие образцов крови до назначения или в отсутствие антикоагулянтной терапии, т. к. она может оказывать влияние на результаты исследования. Терапия анти-витамин К препаратами (варфарин) должна быть приостановлена за 1–2 нед. до определения ВА. Если на время отмены препарата используется введение низкомолекулярного гепарина, то последнюю инъекцию рекомендовали проводить более чем за 12 ч до исследования. Определение ВА у пациентов, принимающих анти-витамин К препараты, возможно только в случае $MNO < 1,5$.

Исследование на ВА проводили в свежей венозной крови, стабилизированной 0,109 М (3,2%) раствором цитрата натрия в соотношении 9:1; выполнялось двойное центрифугирование: первичного образца (2000 g, 15 мин, комнатная температура) и плазмы (супернатанта) в неактивирующей пластиковой пробирке (2500 g, 10 мин, комнатная температура).

Для проведения статистического исследования была проведена обработка результатов из базы данных лабораторной информационной системы ГКДЦ № 1 с помощью программы Statistica Trial.

Результаты исследования. Нами было проанализировано 12 225 исследований различных показателей, характеризующих работу свертывающей системы крови, выполненных в клинико-диагностической лаборатории ЦКДЛ в течение 6 мес. В 147 случаях был назначен по меньшей мере один тест для выявления АФС. Назначения были сформированы в основном на основании консультирования гематологом (34,0%) или неврологом (36,1%). Реже направлялись на исследования пациенты кардиологами и хирургами (по 8,2%), эндокринологом (3,4%), пульмонологом и гастроэнтерологом (по 1,4%). Некоторое количество больных обратились в лабораторию самостоятельно (4,7%). Однако

исследование антител проводилось только у 101 пациента, что объясняется недоназначением, слабой образованностью врачей, отсутствием локальных протокола обследования.

Структура назначений отражает специализацию диагностического центра и его предназначение работать с наиболее сложными и диагностически неясными больными. Также данное распределение назначений коррелирует с представленной в литературе структурой сосудистых осложнений у больных с АФС [6].

Среди проведенных исследований было получено 27,9% положительных результатов на наличие ВА в скрининговом тесте, из них 18 имело $NO \geq 1,2$. То есть наличие ВА было подтверждено у 12,2% пациентов с клиническим подозрением на АФС. Повторные положительные результаты были получены через 12 нед. у 16 больных (8,2%).

Антитела исследованы только у 101 больного. В 9,0% случаев были получены положительные результаты на антикардиолипиновые антитела IgG и 12,8% – на IgM; положительные результаты на анти- $\beta 2$ ГП IgG и IgM распределились поровну – по 16,8%.

Тройная позитивность (наличие ВА и критерийных антител обоих типов) была отмечена в 3,4% случаев. У этих пациентов имеется наибольшая опасность тромботических осложнений. Из них был 1 мужчина и 4 женщины, все с венозными тромбозами в анамнезе и инсультом, а также у женщин были потери беременностей на поздних сроках.

Анализ связи между положительным результатом скринингового теста на ВА и показателями свертывания крови показал логичную достоверную взаимосвязь с удлинением АЧТВ и иммунологическими исследованиями на антифосфолипидные антитела, причем класса IgG (табл. 1). Это подтверждает необходимость специального обследования для выявления антифосфолипидных антител в рамках лабораторного подтверждения диагноза АФС

ТАБЛИЦА 1. Связь результатов исследований системы гемостаза и лабораторного подтверждения наличия антифосфолипидных антител, в т. ч. волчаночного типа (скрининговое отношение)
TABLE 1. Correlation of the results of hemostasis studies and laboratory confirmation of antiphospholipid antibodies, including lupus type (screening ratio)

НАЗВАНИЕ ТЕСТА	R	P
Средний объем тромбоцитов	0,0453	0,805
Количество тромбоцитов	-0,2176	0,216
АЧТВ	0,6989	0,0001
Антикардиолипидные антитела IgG	0,8507	0,0001
Антикардиолипидные антитела IgM	-0,1134	0,634
$\beta 2$ ГП IgG	0,8677	0,0001
$\beta 2$ ГП IgM	0,1300	0,585
D-димер	0,0007	0,997
МНО	0,4380	0,005
Тромбиновое время	0,1956	0,260
Фактор VIII, активность	0,3581	0,280
Фактор Виллебранда	0,3221	0,109
Фибриноген	0,1969	0,257

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

МНО – международное нормализованное отношение

ТАБЛИЦА 2. Корреляционная связь результатов исследований системы гемостаза и наличия АФС
TABLE 2. Correlation between the results of hemostasis studies and the presence of APS

НАЗВАНИЕ ТЕСТА	R	P
Средний объем тромбоцитов	-0,0199	0,942
Количество тромбоцитов	-0,5754	0,020
АЧТВ	0,6231	0,006
Антикардиолипидные антитела IgG	0,9100	0,004
Антикардиолипидные антитела IgM	0,700	0,077
$\beta 2$ GPI IgG	0,9570	0,001
$\beta 2$ GPI IgM	0,0488	0,917
D-димер	-0,0128	0,964
МНО	0,0327	0,898
Тромбиновое время	-0,5086	0,044
Фактор VIII, активность	0,6899	0,310
Фактор Виллебранда	0,3747	0,256
Фибриноген	0,1441	0,595

и отсутствие информативности скрининговых или дополнительных исследований коагулограммы.

В случае получения $НО \leq 1,2$, что указывает на наличие ВА и АФС, эти корреляции сохраняются. Присоединяется отрицательная связь с количеством тромбоцитов и тромбиновым временем (табл. 2). До 2006 г. тромбоцитопения была включена в критерии диагностики АФС, т. е. является достаточно типичной для данной группы больных, что подтверждено в нашем исследовании.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

История изучения АФС как самостоятельного синдрома началась в 1983 г., когда G.R.V. Hughes впервые обратил внимание на то, что у пациентов с ВА наблюдается определенная закономерность в развитии на первый взгляд не связанных между собой клинических проявлений, в частности цереброваскулярных нарушений (рецидивирующий инсульт) и патологии беременности (спонтанные аборт). Автор предположил, что речь идет об особом клинико-лабораторном синдроме, который в 1986 г. назвал «антифосфолипидным синдромом». Этот термин и используется до настоящего времени.

Прогресс в изучении АФС во многом связан с разработкой стандартизованных чувствительных и специфичных методов определения антикардиолипидных антител и особенно расшифровкой структуры антигенных детерминант (эпитопов), с которыми реагируют эти антитела. В 1990 г. три группы исследователей независимо друг от друга представили данные о том, что антикардиолипидные антитела, выявляемые в сыворотке больных с АФС, связываются с кардиолипином только в присутствии кофактора, который был идентифицирован как $\beta 2$ -гликопротеин-1 ($\beta 2$ -ГП-1).

В последующем в 1999 г. в Саппоро и в 2004 г. в Сиднее были сформированы диагностические критерии АФС [2]. Лабораторная диагностика,

обязательная для установления диагноза АФС, является сложной организационно-технологической задачей. Необходимо использовать валидированные методы и правильно интерпретировать полученные результаты. Так, срок повторного исследования для подтверждения персистенции антител составляет 12 нед. Антикардиолипидные антитела: обнаружение аКЛ классов IgG и/или IgM в сыворотке или плазме в среднем или высоком титре; антитела к $\beta 2$ -гликопротеину: обнаружение классов IgG и/или IgM в сыворотке или плазме в титре более 99-го перцентиля здоровой популяции, выявленные с помощью стандартизованной ИФА тест-системы.

Эксперты отмечают, что присутствующие врожденные или приобретенные факторы риска тромбоза не являются причиной исключения АФС у больного. Однако рекомендуется выделять группы пациентов в зависимости от отсутствия или наличия дополнительных факторов риска тромбоза. Такими факторами риска являются возраст (> 55 лет у мужчин, > 65 лет у женщин), наличие любых установленных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (гипертензия, диабет, повышенный холестерин ЛНП или низкий холестерин ЛВП, курение, наследственность, указывающая на раннее начало сердечно-сосудистых заболеваний в семье, индекс массы тела > 30 кг/м², микроальбуминурия, снижение скорости клубочковой фильтрации, врожденные тромбофилии, прием пероральных контрацептивов, нефритический синдром, опухоль, иммобилизация или хирургическое вмешательство).

В мае 2013 г. на IX Европейском форуме по антифосфолипидным антителам (European Forum on Antiphospholipid Antibodies – APA-Forum) было определено, что ВА – более значимый предиктор тромботических осложнений и потери беременности, чем изолированная позитивность по антикардиолипидным антителам и $\alpha \beta 2$ -ГП1; наиболее высокий риск

потери беременности имеют женщины с позитивностью ко всем трем видам антител (тройная позитивность).

Заключение. Лабораторная диагностика АФС является сложной задачей и должна выполняться в соответствии с рекомендациями международных сообществ по проведению такого рода диагностики. Частота подтверждения АФС в популяции с клинической вероятностью

диагноза невелика и составляет, по нашим данным, 12,2%. Значительным ограничением для правильной и надежной лабораторной диагностики служит отсутствие локальных протоколов диагностики и лечения. Агрессивные методы плазмафереза и гормональной терапии в большинстве случаев в настоящее время не поддерживаются.



ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Антифосфолипидный синдром. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: Литера, 2004, 424 с. [Antiphospholipid syndrome. Edited by E.L. Nasonov. Moscow: Littera, 2004, 424 p.] (In Russ.)
2. Miyakis S., Lockshin M., Atsumi T. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4:295–306.
3. Ruiz-Irastorza G., Cuadrado M., Ruiz-Arruza I. et al. Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th international congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus.* 2011;20:206–218.
4. Durcan L., Petri M. In: Cervera R., Espinosa G., Khamashta M.A. (eds), Antiphospholipid syndrome in systemic autoimmune diseases, 2nd edition. Elsevier, Amsterdam, 2016:17–30.
5. Moore G.W. Recent Guidelines and Recommendations for Laboratory Detection of Lupus Anticoagulants. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(02):163-171.
6. Cervera R., Piette J.-C., Font J. et al. Antiphospholipid Syndrome. Clinical and Immunologic Manifestations and Patterns of Disease Expression in a Cohort of 1,000 Patients. *Arthritis and Rheumatism.* 2002;46(4):1019-1027.

Поступила /Received 22.05.2019