© Симанив Т.О., Краснов В.С., Лапин С.В., Бембеева Р.Ц., Коробко Д.С., Белько Е.А., Шабалина А.А., 2024

Оптимизация лабораторной диагностики заболеваний спектра оптиконевромиелита: показания и алгоритмы

Т.О. Симанив[1], В.С. Краснов[2], С.В. Лапин[2], Р.Ц. Бембеева[3], Д.С. Коробко[4, 5, 6], Е.А. Белько[7], А.А. Шабалина[1]

[1]Научный центр неврологии, Москва, Россия;
[2]Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;
[3]Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия;
[4]Государственная Новосибирская областная клиническая больница, Новосибирск, Россия;
[5]Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия;
[6]Институт «Международный томографический центр» СО РАН, Новосибирск, Россия;
[7]Клинико-диагностическая лаборатория «ИНВИТРО СПб», Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Заболевания спектра оптиконевромиелита – группа аутоиммунных демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы, которые характеризуются тяжёлыми обострениями с формированием остаточного неврологического дефицита. Определение антител к аквапорину-4 является одним из ключевых аспектов диагностики, дифференциальной диагностики и назначения патогенетической терапии. В статье обсуждаются показания к назначению исследования и методики определения антител к аквапорину-4.

Ключевые слова: *заболевания спектра оптиконевромиелита; лабораторная диагностика; антитела к аквапорину-4*

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. Научный центр неврологии.
E-mail: simaniv@neurology.ru. Симанив Т.О.

Для цитирования: Симанив Т.О., Краснов В.С., Лапин С.В., Бембеева Р.Ц., Коробко Д.С., Белько Е.А., Шабалина А.А. Оптимизация лабораторной диагностики заболеваний спектра оптиконевромиелита: показания и алгоритмы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2024;18(2):84–94.

DOI: https://doi.org/10.17816/ACEN.1124

Поступила 20.04.2024 / Принята в печать 22.05.2024 / Опубликована 25.06.2024

Optimization of Laboratory Diagnostics of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders: Indications and Algorithms

Taras O. Simaniv[1], Vladimir S. Krasnov[2], Sergey V. Lapin[2], Raisa Ts. Bembeeva[3], Denis S. Korobko[4, 5, 6], Elena A. Belko[7], Alla A. Shabalina[1]

[1]Research Center of Neurology, Moscow, Russia;
[2]Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia;
[3]Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;
[4]Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia;
[5]Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;
[6]International Tomography Institute of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;
[7]Clinical diagnostic laboratory "INVITRO SPb", Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Neuromyelitis optica spectrum disorders are a group of autoimmune demyelinating diseases of the central nervous system characterized by severe exacerbations with development of residual neurological deficit. Anti-aquaporin-4 antibody is one of key factor in diagnosing, differentiating, and prescribing pathogenetic therapy. The paper discusses tests and methods of detecting anti-aquaporin-4 antibodies.

***Keywords**: neuromyelitis optica spectrum disorders; laboratory diagnostics; anti-aquaporin-4 antibodies.*

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Simaniv T.O., Krasnov V.S., Lapin S.V., Bembeeva R.Ts., Korobko D.S., Belko E.A., Shabalina A.A. Optimization of laboratory diagnostics of neuromyelitis optica spectrum disorders: indications and algorithms. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2024;18(2):84–94.

DOI: https://doi.org/10.17816/ACEN.1124

Received 20.04.2024 / Accepted 22.05.2024 / Published 25.06.2024

Введение

Заболевания спектра оптиконевромиелита (ЗСОНМ) – группа тяжёлых аутоиммунных демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), в основе большинства которых лежит единый механизм – комплемент-зависимая астроцитопатия, индуцированная продукцией антител к аквапорину-4 (AQP4-IgG) [1]. Данный термин расширяет длительно использующийся диагноз «оптиконевромиелит» (болезнь Девика), т. к. ЗСОНМ могут быть установлены на ранних стадиях заболевания, что позволяет своевременно начать патогенетическую терапию, направленную на предупреждение обострений, поскольку они вносят существенный вклад в формирование стойкой инвалидизации пациента [2]. Необходимо проводить дифференциальную диагностику ЗСОНМ с другими иммуноопосредованными поражениями ЦНС, в первую очередь с рассеянным склерозом (РС), поскольку многие препараты, изменяющие течение РС, могут провоцировать тяжёлые обострения ЗСОНМ [3–8]. В 2015 г. сформулированы диагностические критерии ЗСОНМ, согласно которым ключевым аспектом, влияющим на установление диагноза, наряду с клинико-радиологической картиной, является определение AQP4-IgG методом, использующим клеточную презентацию антигена [9].

В России зарегистрированы 3 препарата, предупреждающие обострения ЗСОНМ: сатрализумаб, экулизумаб и равулизумаб; их эффективность продемонстрирована в отношении серопозитивных форм, при которых выявлены AQP4-IgG [10–12]. Таким образом, определение AQP4-IgG является основополагающим исследованием, необходимым как для постановки диагноза ЗСОНМ, так и для назначения патогенетического лечения. Однако есть ряд сложностей, связанных с выполнением данного исследования: ограниченная доступность в России лабораторных наборов для определения AQP4-IgG [13], влияние терапии на результат исследования [14], а также применение других методов, не использующих клеточную презентацию антигена, например, ELISA [15]. Таким образом, необходимо конкретизировать показания для первичного и повторного тестирования на AQP4-IgG у пациентов с поражением ЦНС и выработать алгоритм лабораторной диагностики ЗСОНМ. Авторами проведены

анализ и обсуждение научных публикаций, касающихся лабораторной диагностики ЗСОНМ, в частности, определения AQP4-IgG, на основании чего сформулированы рекомендации по первичному и повторному тестированию пациентов на AQP4-IgG.

Методы определения аутоантител

Важнейшим компонентом всех методов выявления аутоантител является источник антигена. Для определения антинейрональных антител широко используются природные антигены нервной ткани лабораторных животных. Тканевые срезы используются в качестве так называемых «тканевых субстратов», связывание антител с которыми оценивается в методах непрямой иммунофлюоресценции или при иммуногистохимическом выявлении аутоантител. Такими тканевыми субстратами в нейроиммунологии традиционно являются криосрезы ткани мозжечка, гиппокампа, зрительного нерва, а также нервные сплетения гладкомышечных органов лабораторных животных: грызунов или приматов (макак). Поскольку в ткани присутствует множество антигенов, несомненным преимуществом такого подхода является возможность множественного выявления различных аутоантител за счёт определения разнообразных «типов окрашивания» ткани [16]. Однако для точной идентификации выявляемых антител необходимы уточняющие тесты, в которых аутоантиген известен заранее, кроме того, слабая тканевая экспрессия большинства белков приводит к низкой чувствительности такого подхода [17]. С помощью данного тканевого метода в лабораториях клиники Mayo были впервые обнаружены AQP4-IgG. Для этого была использована непрямая иммунофлюоресценция на криосрезах мозжечка, желудка и почки грызунов, которая была подтверждена иммунопреципитацией [18, 19].

При описании спектра аутоантител в сыворотке в качестве уточняющих методов обычно выступают методы твёрдофазного иммуноферментного анализа или иммуноблоттинг, в которых используются белковые молекулы, бóльшая часть которых синтезирована с помощью методов генной инженерии. В качестве твёрдой фазы выступает полистирольный пластик планшетов для иммуноферментного анализа или различные варианты нитроцеллюлозных мембран [20]. Такие методы подходят для выявления широкого спектра антинейрональных антител, направленных против структурных белков, локализующихся в ядре и цитоплазме нейронов (например, Hu, Ri, Yo-1 и др.), кроме того, твёрдофазные иммуноферментные методы традиционно применяются для выявления антител к ганглиозидам или другим компонентам миелина (анти-MAG).

Антигенные эпитопы большинства белков нервной ткани, которые экспрессируются на клеточной мембране, имеют сложную конформацию, определяемую липидным бислоем, которая при выделении белков из клетки необратимо разрушается при попытке их адгезии на твёрдую фазу. Для решения этой проблемы приходилось использовать сложные методические подходы. Так, долгое время для определения антител к ацетилхолиновому рецептору использовался α-бунгаротоксин, меченный изотопной меткой, что позволяло проводить реакцию выявления аутоантител в растворе. Однако ограниченный набор высокоаффинных антагонистов рецепторов препятствовал изучению аутоантител, направленных на трансмембранные каналы и рецепторный аппарат нервной ткани. Ещё одним вариантом методов с использованием меченных рекомбинатных белков являлись флюоресцентная иммунопреципитация или радиоиммунопреципитация, обеспечивающие взаимодействие антител и антигена в растворе, однако при детекции антинейрональных антител их чувствительность низкая [21].

Методы с клеточной экспрессией антигена или тесты на генетически-модифицированных клетках основаны на трансфекции эукариотических клеточных линий (чаще всего линии эмбриональной почки HEK293) плазмидами, содержащими последовательность нуклеотидов, кодирующих целевой белок. При экспрессии значительные количества белка либо накапливаются в цитоплазме клетки, либо экспонируются на клеточных мембранах [22].

Выделяют транзиторную и стабильную трансфекцию. Преимуществом транзиторной трансфекции является относительная быстрота и простота метода, но стабильная трансфекция обеспечивает бóльшую чувствительность. Для детекции связывания аутоантител и белка используются проточная цитометрия, конфокальная микроскопия или метод непрямой иммунофлюоресценции, в качестве отрицательного контроля служат нетрансфецированные клетки [23]. При этом некоторые коммерческие субстраты содержат заранее оптимизированную смесь трансфецированных и нетрансфецированных клеток одной линии, что облегчает визуальный учёт результатов реакции.

Проточная цитометрия и конфокальная микроскопия позволяют анализировать живые клетки и, по мнению ряда авторов, являются наиболее чувствительными методами детекции антинейрональных антител, направленных к мембранным антигенам [24]. Ограничением их клинического использования является необходимость поддержания в лаборатории клеточных линий и сложность стандартизации.

Большое распространение получил метод непрямой иммунофлюоресценции с использованием фиксированных адгезионных клеточных линий, метод фиксации которых зависит от клеточной локализации белка. При мембранной локализации целевого белка используются специальные фиксаторы, например глутаральдегид, параформальдегид или формалин, а при цитоплазматической локализации – дополнительная фиксация для увеличения проницаемости мембран клеток. Поскольку клеточная линия HEK293 является линией эмбриональной почки, в норме синтезирующего аквапорины, то экспрессия белка AQP4 и его процессинг приводят к появлению AQP4 на клеточной мембране [25].

Возможность применения готовых препаратов фиксированных клеток обеспечивает межлабораторную стандартизацию клеточного субстрата методов детекции аутоантител, что сделало их доступными для большинства клинических лабораторий. Результат выявления антител

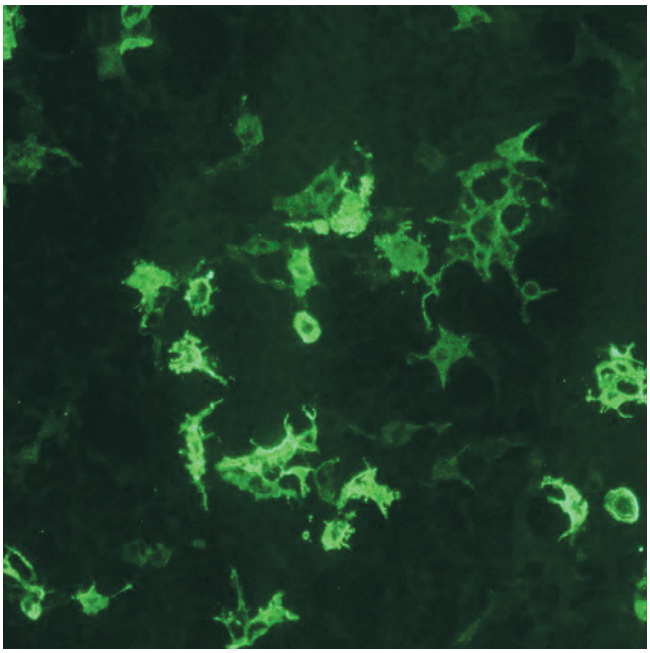

Рис. 1. Положительный результат исследования на антитела к AQP4.
Реакция непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, титр 1 : 1000, интенсивность свечения +++.

Fig. 1. Positive test result for anti-AQP4 antibodies. Indirect immunofluorescence with antigen cell presentation, 1 : 1000 titer, fluorescence intensity +++.

на фиксированных клетках выдаётся в виде конечного титра, обратно пропорционального последнему разведению сыворотки крови, которое обеспечивает положительный сигнал (рис. 1). При использовании проточной цитометрии и конфокальной микроскопии может быть количественно оценена интенсивность флуоресцентного сигнала. За счёт своей высокой чувствительности методы с клеточной экспрессией антигена стали золотым стандартом, признанным для выявления многих разновидностей антинейрональных антител, включая AQP4-IgG и антитела к миелин-олигодендроцитарному гликопротеину (MOG-IgG) [9].

Аквапорин-4 как мишень аутоантител

AQP4 принадлежит к семейству трансмембранных водных каналов, насчитывающих 13 разновидностей, состоит из 6 альфа-спиральных доменов, пронизывающих клеточную мембрану, внутри которых расположен водный канал. В организме экспрессируются две формы AQP4: более длинная AQP4-M1 и более короткая AQP4-M23, причём последняя имеет свойство образовывать в мембране ортогональные массивы частиц, обеспечивающие большую аффинность AQP4-IgG, что делает M23-изоформу предпочитаемой мишенью аутоантител [21]. В центральной нервной системе белок AQP4 в виде ортогональных кластеров обнаруживается преимущественно на астроцитах вокруг мелких сосудов мозга, которые являются основной мишенью иммунного ответа при ЗСОНМ.

Усреднённая чувствительность выявления AQP4-IgG с помощью методов с клеточной экспрессией антигена по многоцентровым исследованиям составляет 76,7% [21], при этом ряд авторитетных исследователей указывают на высокую чувствительность внутрилабораторных методов с использованием живых трансфецированных клеток методами проточной цитометрии или конфокальной микроскопии по сравнению с коммерческими наборами [26]. Это оказывается особенно ценным для решения вопроса о пограничных сомнительных образцах, при которых неспецифическое мембранное окрашивание может затруднить выявление специфической реакции. Так, некоторые лаборатории, в том числе лаборатория клиники Mayo, используют проточную цитометрию с живыми трансфецированными клетками, что обеспечивает 80% чувствительность при 100% специфичности обследования [27]. В то же время проблемой является значительная вариация в качестве трансфекции при проведении внутрилабораторных методов тестирования. С другой стороны, фиксация трансфецированных клеток на мембранах препятствует неспецифическим реакциям, обусловленным другими часто встречающимися аутоантителами, такими как антитела к митохондриям или антинуклеарный фактор. Частота ложноположительных результатов выявления AQP4-IgG у пациентов с классическим РС при использовании клеточной экспрессии аутоантигена составляет всего 0,1% [28], что делает AQP4-IgG исключительно специфичным показателем при ЗСНОМ. При этом детекция аутоантител методом иммуноферментного анализа с рекомбинантным антигеном обладает низкой чувствительностью (63–64%) и сравнительно высокой частотой ложноположительных реакций (0,5–1,3%) [21].

В отличие от многих других антинейрональных антител преимущественный синтез AQP4-IgG происходит системно, исследования больших коллекций парных образцов сыворотки крови и ликвора демонстрируют, что во всех случаях аутоантитела в крови выявляются чаще, а титры – выше [29]. Описано асимптомное носительство AQP4-IgG [30], при этом у части серонегативных пациентов возможна сероконверсия уже при установленном диагнозе [31], а при успешной иммуносупрессивной терапии у доли пациентов отмечается сероревертсия заболевания [14].

Клинические фенотипы, требующие исследования антител к аквапорину-4

К классическим фенотипам ЗСОНМ относят 6 клинических проявлений: наиболее часто встречаются оптический неврит (ОН), острый миелит, синдром поражения зоны *area postrema* (центр хеморегуляции в области дна IV желудочка), который характеризуется неукротимой тошнотой, рвотой и икотой; реже – острое поражение ствола головного мозга, острый диэнцефальный синдром (с симптоматической нарколепсией и/или эндокринными нарушениями) и поражение больших полушарий. Последние два проявления обязательно требуют наличия симптомных очагов по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) [9].

Согласно данным научной литературы всем пациентам с подозрением на ЗСОНМ рекомендуется проведение анализа сыворотки крови на наличие AQP4-IgG [9, 32].

В понятие «подозрение на ЗСОНМ» разные авторы закладывают различный смысл, и точные показания к выполнению исследования, которые были бы абсолютно понятны практикующему врачу, не определены. Первыми предложенными рекомендациями к выполнению тестирования были продольно распространённый поперечный миелит (ПРПМ); идиопатический острый поперечный миелит (ПМ) с атипичными для РС чертами; тяжёлый ОН с плохим восстановлением, одновременно билатеральный ОН, протяжённое поражение зрительного нерва или вовлечение хиазмы по данным МРТ; неукротимая (с трудом купируемая) тошнота, рвота или икота в отсутствие патологии желудочно-кишечного тракта; поражение дорсальных отделов продолговатого мозга на МРТ; клинически значимые диэнцефальные нарушения (гиперсомния, нарколепсия, эндокринные нарушения, свойственные гипоталамо-гипофизарной дисфункции); криптогенная лейкоэнцефалопатия, а также наличие предполагаемого РС с необъяснимыми тяжёлыми обострениями на терапии препаратами, изменяющими течение РС [33, 34].

В дальнейшем было предложено выполнять тест на AQP4-IgG при ПРПМ без очаговых изменений на МРТ головного мозга или при наличии очагов в веществе головного мозга, не характерных для РС; при частых рецидивирующих ОН; при диэнцефальном синдроме с очаговыми изменениями неуточнённой этиологии, а также энцефалопатии неизвестной природы [35–37]. В 2020 г. В.С. Краснов и соавт. рекомендовали расширить предложенные показания к исследованию впервые развившимися парциальным ПМ или ОН независимо от выраженности неврологической дисфункции и степени восстановления [38]. Эта рекомендация основывалась на анализе данных из повседневной клинической практики. Было обнаружено, что у 8 (28,6%) из 27 пациентов с ЗСОНМ с AQP4-IgG первое обострение проявилось парциальным ПМ или односторонним ОН с последующим регрессом симптомов, в результате чего тест не выполнялся, что привело к увеличению времени до постановки диагноза. Актуальность этой рекомендации подтверждается тем, что у 5 (62,5%) из 8 вышеописанных больных в дальнейшем был ошибочно установлен диагноз РС и проводилась терапия препаратами, изменяющими течение РС, которая может ухудшать течение ЗСОНМ [3–5].

Ещё в 2007 г. эксперты в области изучения ЗСОНМ рекомендовали рассматривать поражение зрительного нерва или спинного мозга у пациента с системной красной волчанкой или синдромом Шегрена как проявление сосуществующего ЗСОНМ, а не как неврологическое осложнение ревматического заболевания вследствие васкулита [39], что ещё раз подтвердили в 2015 г. [9]. Позднее латиноамериканские эксперты сделали заключение о том, что пациентам с известным системным аутоиммунным заболеванием с клиническим эпизодом в виде ОН, острого ПМ или синдромом поражения *area postrema* следует выполнить исследование крови на AQP4-IgG [40]. Российские неврологи в 2023 г. предложили расширить показания к тесту за счёт такого нейровизуализационного признака, как протяжённый участок (3 и более позвоночных сегмента) атрофии спинного мозга по МРТ, а также случаев, не противоречащих диагнозу РС, но без выявления олигоклональных антител в ликворе [41].

В 2023 г. рабочая группа NEMOS (Neuromyelitis Optica Study Group) опубликовала консенсусную статью, в которой рекомендовала тестирование на AQP4-IgG всем пациентам с клиническими или клинико-радиологическими данными (присутствующими как на момент обследования, так и в случае указания на них в анамнезе), которые позволяют заподозрить диагноз ЗСОНМ, т. е. у всех пациентов с одним из основных клинических синдромов ЗСОНМ, включающих ОН, острый миелит, синдром поражения *area postrema*, острый стволовой синдром, симптоматическую нарколепсию или острый диэнцефальный синдром с типичными диэнцефальными МРТ-очагами, церебральный синдром с типичными полушарными МРТ-очагами. Также эксперты указывают на целесообразность выполнения теста во всех случаях, когда пациенту по диагностическим критериям 2015 г. установлен диагноз ЗСОНМ без AQP4-IgG или неизвестным статусом по антителам к AQP4. Во всех остальных случаях решение о том, проводить или нет тестирование, должно быть принято индивидуально. Также было высказано предупреждение о том, что проведение скринингового исследования на AQP4-IgG среди пациентов с РС, не соответствующих вышеуказанным критериям, особенно в регионах, в которых на ЗСОНМ приходится лишь небольшая часть случаев идиопатических воспалительных демиелинизирующих заболеваний, может привести к увеличению случаев ложноположительных результатов и не рекомендовано [42]. В вышеуказанных рекомендациях требуется уточнение характера стволовых проявлений, при которых следует проводить тест. Целесообразно ограничить их наиболее часто встречающимися при ЗСОНМ в рамках стволового синдрома глазодвигательными нарушениями, парезом мимических мышц, онемением на лице, атаксией [42, 43].

Подобные предложения касались и детей, поскольку у них основные клинические проявления ЗСОНМ и диагностические критерии соответствуют таковым у взрослых [44]. У 50–75% пациентов детского возраста в дебюте отмечается ОН, при этом у 50% из них – двусторонний ОН [45, 46]; у 30–50% ЗСОНМ дебютирует с ПМ, хотя ПРПМ менее характерен для ЗСОНМ у детей по сравнению со взрослыми и может присутствовать при остром рассеянном энцефаломиелите. Острый диэнцефальный синдром, в частности эндокринопатии, и симптоматический церебральный синдром, напротив, чаще встречаются в детской популяции ЗСОНМ в сравнении с взрослыми: до 60% и до 16–32% соответственно [47, 48]. При нейровизуализации у педиатрических пациентов выявляются крупные сливные очаги с вазогенным отёком (фенотип, подобный острому рассеянному энцефаломиелиту), поражения часто затрагивают кортикоспинальный тракт, перивентрикулярную область или отмечаются неспецифические изменения белого вещества полушарий [49]. Частота серопозитивности AQP4-IgG при ЗСОНМ у детей значительно ниже по сравнению со взрослыми. В исследовании педиатрического ЗСОНМ в США только 65% детей были серопозитивными по AQP4-IgG, а у некоторых пациентов антитела определялись только через 3 года после дебюта заболевания [50]. При этом MOG-IgG в педиатрической популяции с фенотипом ЗСОНМ выявляются гораздо чаще, чем у взрослых [51].

Отдельное внимание следует уделить ситуациям, когда рутинное тестирование не рекомендуется. Исследование AQP4-IgG при ОН, если он не соответствует строго определённым критериям, как упоминалось выше, или при наличии типичных для РС клинических, МРТ-, лабораторных признаков, считалось нецелесообразным, чтобы не увеличивать количество ложноположительных результатов [33, 34]. Однако этой позиции противоречат данные, которые продемонстрировали возможность лёгкого течения ОН в дебюте ЗСОНМ [38], а также сведения о том, что выявление олигоклональных IgG в ликворе не исключает диагноз ЗСОНМ, что встречается у 20–43% пациентов с ЗСОНМ, особенно в момент обострения, но может быть транзиторным и не выявляться в последующих образцах [9, 40]. Высокая специфичность теста на AQP4-IgG, а также сообщаемое число случаев первоначальной ошибочной диагностики РС среди пациентов с ЗСОНМ, составляющее 33,0–42,5% [27, 32], часто заставляют практикующих врачей использовать тест значительно шире приведённых выше показаний, стараясь избежать неверного диагноза.

Возможные причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов

Причины ложных лабораторных результатов исследования на AQP4-IgG могут возникать как на долабораторном, так и на лабораторном этапах. Наиболее часто причины, возникающие на долабораторном этапе, приводят к ложноотрицательным результатам. К ним относится несоблюдение правил подготовки пациента – как общих условий (исследования должны проводиться утром, строго натощак, с исключением жирной пищи и алкоголя за сутки, с ограничением физических нагрузок, без переохлаждения/перегревания, курения за 1 ч до исследования), так и специальных условий: взятие образца после или на фоне проведения патогенетической терапии (глюкокортикостероиды, плазмаферез, иммуносупрессанты, препараты моноклональных антител, предупреждающие обострения ЗСОНМ) [52].

Особый интерес представляют наблюдения за статусом антител у пациентов, которым проводилось повторное исследование AQP4-IgG. В Китае обследовано 400 пациентов с ЗСОНМ с AQP4-IgG, получающих терапию иммуносупрессантами. За время наблюдения, в среднем через 3,7 года, у 32% пациентов наблюдались сероревесрсия, переход в серонегативный статус, AQP4-IgG не определялись. У таких пациентов отмечалась более низкая частота обострений, а также выявлена прямая корреляция между временем до перехода в серонегативный статус и обострениями [14].

В Клинике Mayo (США) в динамике наблюдали пациентов, которым как минимум дважды выполнялось тестирование на AQP4-IgG. Среди 986 пациентов с ЗСОНМ с AQP4-IgG у 53 пациентов исходно был отрицательный результат, т. е. у них произошла сероконверсия, переход из серонегативного в серопозитивный статус (при этом протестировано более 9000 пациентов с исходно негативным результатом), у 6 пациентов тестирование было проведено на фоне лечения (глюкокортикостероиды, плазмаферез, азатиоприн, натализумаб). Среди 933 пациентов с ЗСОНМ с AQP4-IgG с исходно положительным результатом у 11% наблюдалась сероревесрсия в среднем через 1,2 года. Данный феномен отмечен преимущественно у пациентов молодого возраста (до 20 лет) и с исходно низким титром AQP4-IgG. Сероревесрсия наблюдалась на анти-В-клеточной терапии, азатиоприне, микофенолата мофетиле, после плазмафереза и аутологичной трансплантации стволовых клеток. У половины пациентов с сероревесрсией в дальнейшем вновь произошла сероконверсия [53].

Предполагается также существование феномена «серонегативного окна» – периода, когда AQP4-IgG либо уже полностью связались с антигеном, что делает их детекцию невозможной, либо присутствуют в концентрации, недостаточной для обнаружения, но достаточной, чтобы вызвать клинические проявления, что было продемонстрировано для синдрома поражения *area postrema* [54].

Причины ложноположительных результатов встречаются значительно реже и могут быть связаны с наличием у пациента туберкулёза. У аквапоринов микобактерий туберкулёза и AQP4 человека могут быть гомологичные эпитопы, что может привести к перекрестной реакции, при этом титры AQP4-IgG при туберкулёзе, как правило, выше, чем при ЗСОНМ. Натализумаб усиливает активность презентации AQP4 на поверхности мембран, поэтому у пациентов, находящихся на лечении данным препаратом, также могут возникать ложноположительные результаты на AQP4-IgG [55].

Лабораторные причины ложных результатов исследования на AQP4-IgG могут быть на уровне ошибок преаналитического и аналитического лабораторных этапов. Основные ошибки преаналитического этапа: нарушение правил взятия, транспортировки и хранения образца (неоднократное замораживание/размораживание), значительный гемолиз или хилёз. К ложноотрицательным ошибкам аналитического лабораторного этапа относится эффект крючка (hook effect) – иммунологический феномен, при котором аффинность антител для образования иммунных комплексов может снижаться, если концентрация антител очень высока. Важное практическое значение этого явления заключается в том, что оно представляет собой тип помех, которые мешают проведению анализа, приводя к ложноотрицательным результатам [56]. Существуют и другие причины ложноотрицательных результатов: дефект микрослайда или нарушение процедуры проведения анализа («пересушивание» микрослайда в течение процедуры окрашивания, «выгорание» микрослайда при длительно включённом свете микроскопа) [57].

Ввиду высокой сложности выполнения данного исследования необходимо обладать большим количеством компетенций не только в области проведения реакции непрямой иммунофлюоресценции в целом, но и относительно данного исследования, поэтому к ложноположительным результатам может привести недостаточный опыт оператора (расценка неспецифического свечения как специфического для AQP4-IgG) [58]. При этом антитела находятся на уровне пограничного результата (титр не более 1 : 10), что может быть обозначено как «неспецифическое свечение» (рис. 2–5).

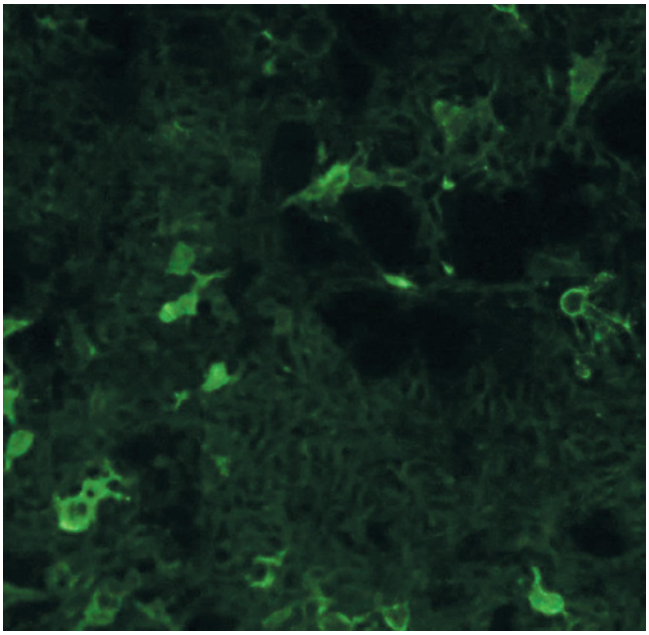

Рис. 2. Положительный результат исследования на антитела к AQP4.
Реакция непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, титр 1 : 10, интенсивность свечения ++.

Fig. 2. Positive test result for anti-AQP4 antibodies.
Indirect immunofluorescence with antigen cell presentation, 1 : 10 titer, fluorescence intensity ++.

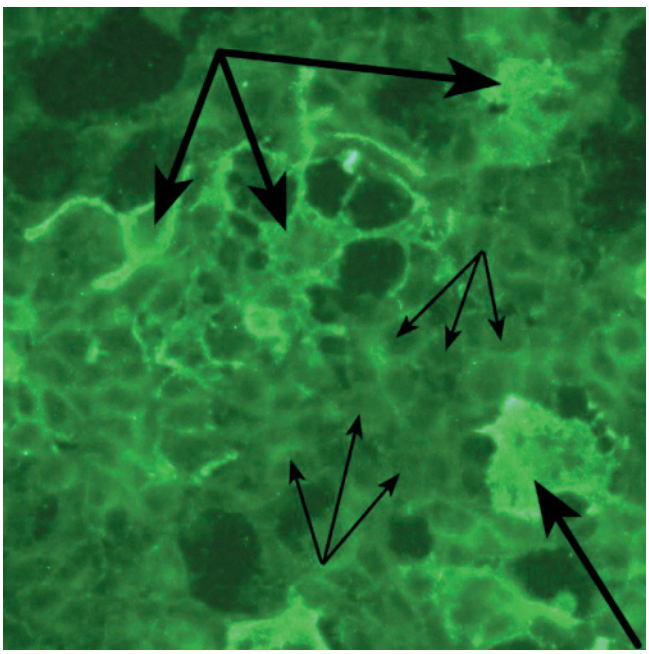

Рис. 3. Положительный результат исследования на антитела к AQP4.
Реакция непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, титр 1 : 320, интенсивность свечения ++ (толстая стрелка), присутствует неспецифическое свечение (тонкие стрелки).

Fig. 3. Positive test result for anti-AQP4 antibodies.
Indirect immunofluorescence with antigen cell presentation, 1 : 320 titer, fluorescence intensity ++ (thick arrow) with areas of nonspecific fluorescence (thin arrows).

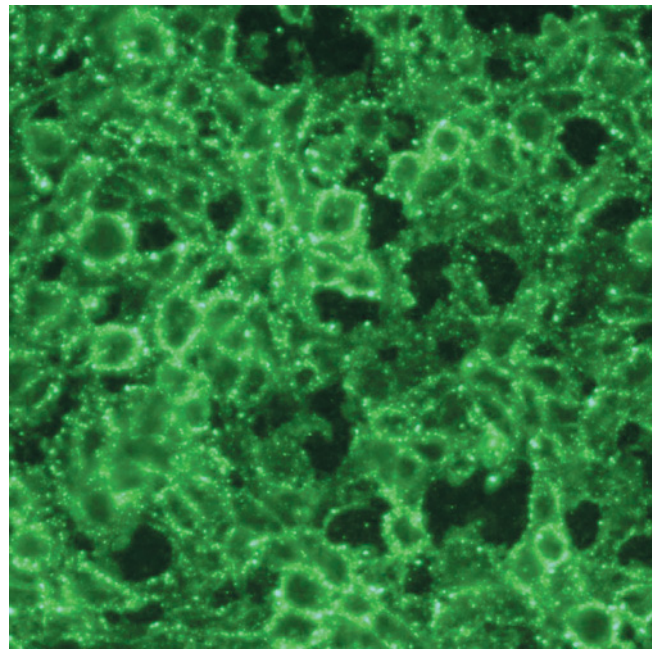

Рис. 4. Отрицательный результат исследования на антитела к AQP4, требующий повторного тестирования.
Реакция непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, присутствует неспецифическое свечение (+/–).

Fig. 4. Negative test result for anti-AQP4 antibodies to be confirmed by repeat test.
Indirect immunofluorescence with antigen cell presentation, nonspecific fluorescence (+/–).

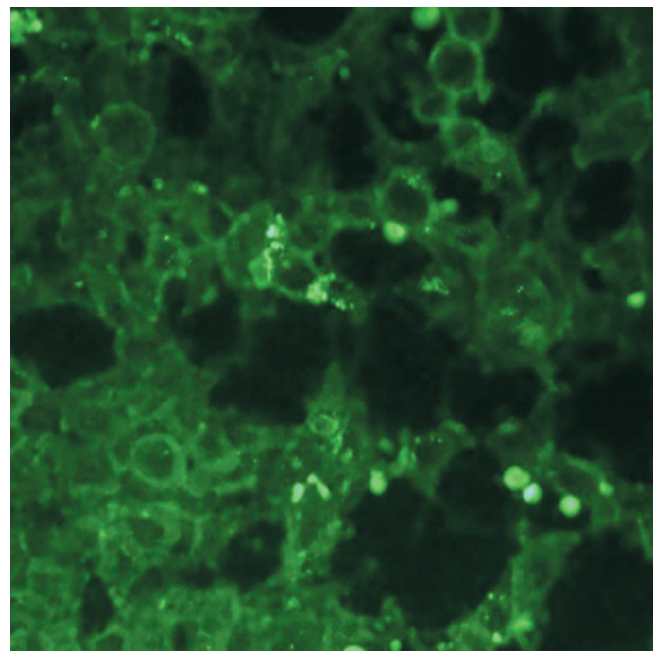

Рис. 5. Отрицательный результат исследования на антитела к AQP4, требующий повторного тестирования.
Реакция непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, присутствует неспецифическое свечение (+/–).

Fig. 5. Negative test result for anti-AQP4 antibodies to be confirmed by repeat test.
Indirect immunofluorescence with antigen cell presentation, nonspecific fluorescence (+/–).

Прогноз ЗСОНМ может быть основан на таких факторах, как возраст дебюта заболевания, количество обострений в течение первых 2 лет, тяжесть первого обострения, связь с другими аутоиммунными заболеваниями и серологический статус по AQP-IgG [59]. Многими исследователями показана более низкая частота восстановления зрительных нарушений после обострения у пациентов с AQP4-IgG по сравнению с серонегативными пациентами [60]. Проспективное исследование 29 пациентов с изолированным ПРПМ показало, что лишь у 55% пациентов, серопозитивных по AQP4-IgG, в течение 1 года не наблюдалось обострения, в то время как ни у одного из серонегативных пациентов не наблюдалось обострений [61]. Учитывая значительный риск повторного обострения в 1-й год от дебюта заболевания, предлагается выполнение 2–3 повторных исследований в течение 6–12 мес после первично отрицательного результата [62]. Поскольку повторное тестирование у повторно серонегативных пациентов повышает риск ложноположительных результатов, «сероконверсия» ранее серонегативных пациентов в AQP4-IgG в идеале должна быть подтверждена ещё одним тестированием [34].

Рекомендации по тестированию пациентов на AQP4-IgG

Систематизируем основные принципы, как и при каких клинико-радиологических фенотипах прежде всего следует выполнить тестирование на AQP4-IgG, а также в какие сроки необходимо проводить повторный анализ.

1. Исследование сыворотки крови на антитела к AQP4 всем пациентам с подозрением на ЗСОНМ следует проводить методом непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена (применение метода иммуноферментного анализа не рекомендовано).
2. «Подозрение на ЗСОНМ» – это наличие у пациента:
   1) остро/подостро развившегося 1 из 6 основных клинических синдромов (как в наличии, так и в прошлом):
      а) ОН (тяжёлый ОН с плохим восстановлением; билатеральный ОН; протяжённое поражение зрительного нерва или вовлечение хиазмы по данным МРТ; частые рецидивирующие ОН; ОН как первое проявление заболевания независимо от его тяжести; ОН у пациента с системным аутоиммунным заболеванием);
      б) острый миелит (ПРПМ, идиопатический острый ПМ с атипичными для РС чертами; ПМ как первое проявление заболевания независимо от его тяжести; ПМ у пациента с системным аутоиммунным заболеванием; протяжённый участок (3 и более позвоночных сегмента) атрофии спинного мозга по МРТ с указанием на перенесённую острую/подострую миелопатию в анамнезе);
      в) синдром поражения *area postrema* (в отсутствие патологии желудочно-кишечного тракта и иных причин (вестибулярные нарушения, инфекционные заболевания, интоксикации, лекарственная терапия, эндокринные нарушения, острые нарушения мозгового кровообращения, новообразования), в том числе при известном системном аутоиммунном заболевании;
      г) изолированный острый стволовой синдром (глазодвигательные нарушения, парез мимических мышц, онемение на лице, атаксия, симптомное поражение ствола головного мозга с вовлечением периэпиндемальных зон);
      д) симптоматическая нарколепсия или острый диэнцефальный синдром (гиперсомноленция, синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона) с типичными диэнцефальными МРТ-очагами, не объясняемыми однозначно другими причинами;
      е) острый церебральный синдром (геми- или тетрапарезы, выпадение поля зрения, нарушение сознания различной степени выраженности, эпилептические припадки) с типичными полушарными МРТ-очагами неуточнённой этиологии (криптогенная лейкоэнцефалопатия с характерными изменениями на МРТ головного мозга);
   2) предполагаемого РС с необъяснимыми тяжёлыми обострениями на терапии препаратами, изменяющими течение РС;
   3) предполагаемого РС при наличии в клинической картине хотя бы одного из основных синдромов ЗСОНМ, атипичных для РС клинических проявлений и отсутствии олигоклональных IgG в ликворе (наличие олигоклональных IgG в ликворе не исключает диагноза ЗСОНМ). При этом наличие достоверного диагноза РС по клинико-радиологическим признакам (критерии McDonald 2017 г.) в отсутствие вышеуказанных характеристик не является подозрением на ЗСОНМ.
3. При направлении биоматериала на исследование на антитела к AQP4 следует указывать стадию заболевания (обострение или ремиссия), время взятия образца (до, на фоне или после терапии глюкокортикостероидами и плазмообмена/иммуносорбции), при наличии терапии препаратами, предупреждающими обострение, – название препарата.
4. Взятие биоматериала на исследование сыворотки на антитела к AQP4 следует проводить до начала пульс-терапии глюкокортикостероидами, или плазмафереза/плазмообмена, или терапии препаратами, предупреждающими обострение, с целью уменьшения риска получения ложноотрицательного результата.
5. Результат исследования AQP4-IgG должен содержать информацию о титре антител, использованной методике, а также о наличии и отсутствии неспецифического для AQP4-IgG свечения.
6. В случае первичного отрицательного результата (меньше 1 : 10) при сохранении подозрения на ЗСОНМ повторить исследование AQP4-IgG через 3–6 мес и/или при повторном обострении.
7. В случае первичного положительного результата, равного 1 : 10, при наличии клинических, нейровизуализационных и лабораторных изменений, при которых диагноз ЗСОНМ требует уточнения («красные флаги»), или при наличии неспецифического для AQP4-IgG свечения повторить исследование через 1 мес.
8. Возможно выполнение 2–3 повторных исследований в течение 6–12 мес после первично отрицательного результата, а также и после 12 мес в зависимости от клинической ситуации. Верхняя граница в 12 мес

обусловлена значительным риском повторного обострения ЗСОНМ в 1-й год.
9. У пациентов с установленным диагнозом ЗСОНМ с AQP4-IgG, получающих терапию для предупреждения обострений, может наблюдаться сероревер сия (переход из серопозитивного в серонегативный статус), данный феномен не требует повторного тестирования и не является основанием для отмены или замены терапии.

Список источников / References

1. Nishiyama S., Seok J.M., Wright A.E. et al. Anti-aquaporin-4 immune complex stimulates complement-dependent Th17 cytokine release in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Sci. Rep*. 2024;14(1):3146. DOI: 10.1038/s41598-024-53661-5
2. Ma X., Kermode A.G., Hu X., Qiu W. NMOSD acute attack: understanding, treatment and innovative treatment prospect. *J. Neuroimmunol.* 2020;348:577387. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2020.577387
3. Palace J., Leite M.I., Nairne A., Vincent A. Interferon beta treatment in neuromyelitis optica: increase in relapses and aquaporin 4 antibody titers. *Arch. Neurol.* 2010;67(8):1016–1017. DOI: 10.1001/archneurol.2010.188
4. Ayzenberg I., Schöllhammer J., Hoepner R. et al. Efficacy of glatiramer acetate in neuromyelitis optica spectrum disorder: a multicenter retrospective study. *J. Neurol.* 2016;263(3):575–582. DOI:10.1007/s00415-015-7991-1
5. Yamout B.I., Beaini S., Zeineddine M.M., Akkawi N. Catastrophic relapses following initiation of dimethyl fumarate in two patients with neuromyelitis optica spectrum disorder. *Mult. Scler*. 2017;23(9):1297–1300. DOI:10.1177/1352458517694086
6. Azzopardi L., Cox A.L., McCarthy C.L. et al. Alemtuzumab use in neuromyelitis optica spectrum disorders: a brief case series. *J. Neurol.* 2016;263(1):25–29. DOI: 10.1007/s00415-015-7925-y
7. Gahlen A., Trampe A.K., Haupeltshofer S. et al. Aquaporin-4 antibodies in patients treated with natalizumab for suspected MS. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2017;4(4):e363. DOI:10.1212/NXI.0000000000000363
8. Bonnan M., Berthelot E., Cabre P. Multiple sclerosis-like NMOSD patients suffer severe worsening of status after fingolimod initiation. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2021;52:102975. DOI: 10.1016/j.msard.2021.102975
9. Wingerchuk D.M., Banwell B., Bennett J.L. et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology*. 2015;85(2):177–189. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001729
10. Kleiter I., Traboulsee A., Palace J. et al. Long-term efficacy of satralizumab in AQP4-IgG-seropositive neuromyelitis optica spectrum disorder from SAkuraSky and SAkuraStar. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2022;10(1):e200071. DOI: 10.1212/NXI.0000000000200071
11. Wingerchuk D.M., Fujihara K., Palace J. et al. Long-term safety and efficacy of eculizumab in aquaporin-4 IgG-positive NMOSD. *Ann. Neurol.* 2021;89(6):1088–1098. DOI: 10.1002/ana.26049
12. Pittock S.J., Barnett M., Bennett J.L. et al. Ravulizumab in aquaporin-4-positive neuromyelitis optica spectrum disorder. *Ann. Neurol.* 2023;93(6):1053–1068. DOI:10.1002/ana.26626
13. Бойко А.Н. Комментарии к статье «Консенсусное мнение по ведению пациентов с заболеваниями спектра оптиконевромиелита: вопросы терминологии и терапии». *Неврология, психиатрия, психосоматика.* 2023;15:119–122.
Boyko A.N. Comments on the article “Consensus opinion on the management of patients with neuromyelitis optica spectrum diseases: issues of terminology and therapy”. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2023;15:119–122. DOI: 10.14412/2074-2711-2023-1-119-122
14. Yin H.X., Wang Y.J., Liu M.G. et al. Aquaporin-4 antibody dynamics and relapse risk in seropositive neuromyelitis optica spectrum disorder treated with immunosuppressants. *Ann. Neurol.* 2023;93(6):1069–1081. DOI: 10.1002/ana.26623
15. Kim W., Lee J.E., Li X.F. et al. Quantitative measurement of anti-aquaporin-4 antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay using purified recombinant human aquaporin-4. *Mult. Scler*. 2012;18(5):578–586. DOI: 10.1177/1352458511424590
16. McCracken L., Zhang J., Greene M. et al. Improving the antibody-based evaluation of autoimmune encephalitis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2017;4(6):e404. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000404
17. Chan K.H., Kwan J.S., Ho P.W. et al. Aquaporin-4 autoantibodies in neuromyelitis optica spectrum disorders: comparison between tissue-based and cell-based indirect immunofluorescence assays. *J. Neuroinflammation.* 2010;7:50. DOI: 10.1186/1742-2094-7-50
18. Lennon V.A., Kryzer T.J., Pittock S.J. et al. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J. Exp. Med.* 2005;202(4):473–477. DOI: 10.1084/jem.20050304
19. Lennon V.A., Wingerchuk D.M., Kryzer T.J. et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004;364(9451):2106–2112. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17551-X
20. Jarius S., Franciotta D., Paul F. et al. Testing for antibodies to human aquaporin-4 by ELISA: sensitivity, specificity, and direct comparison with immunohistochemistry. *J. Neurol. Sci.* 2012;320(1–2):32–37. DOI: 10.1016/j.jns.2012.06.002
21. Waters P., Reindl M., Saiz A. et al. Multicentre comparison of a diagnostic assay: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2016;87(9):1005–1015. DOI: 10.1136/jnnp-2015-312601
22. Dalmau J., Graus F. Antibody-mediated encephalitis. *N. Engl. J. Med.* 2018;378(9):840–851. DOI: 10.1056/NEJMra1708712
23. Kang E.S., Min J.H., Lee K.H., Kim B.J. Clinical usefulness of cell-based indirect immunofluorescence assay for the detection of aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica spectrum disorder. *Ann. Lab. Med.* 2012;32(5):331–338. DOI: 10.3343/alm.2012.32.5.331
24. Ruiz-García R., Muñoz-Sánchez G., Naranjo L. et al. Limitations of a commercial assay as diagnostic test of autoimmune encephalitis. *Front. Immunol.* 2021;12:691536. DOI: 10.3389/fimmu.2021.691536
25. Gao F., Zhang Y., Lv J. et al. How to improve the sensitivity and specificity of cell-based assays in detecting autoantibodies in neuroimmune diseases. *Ann. Transl. Med.* 2023;11(7):281. DOI: 10.21037/atm-21-3072
26. Woodhall M., Mgbachi V., Fox H. et al. Utility of live cell-based assays for autoimmune neurology diagnostics. *J. Appl. Lab. Med.* 2022;7(1):391–393. DOI: 10.1093/jalm/jfab133
27. Redenbaugh V., Montalvo M., Sechi E. et al. Diagnostic value of aquaporin-4-IgG live cell based assay in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult. Scler. J. Exp. Transl. Clin.* 2021;7(4):20552173211052656. DOI: 10.1177/20552173211052656
28. Waters P.J., McKeon A., Leite M.I. et al. Serologic diagnosis of NMO: a multicenter comparison of aquaporin-4-IgG assays. *Neurology*. 2012;78(9):665–671. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318248dec1
29. Majed M., Fryer J.P., McKeon A. et al. Clinical utility of testing AQP4-IgG in CSF: guidance for physicians. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2016;3(3):e231. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000231
30. Collongues N., Marignier R., Zéphir H. et al. Neuromyelitis optica in France: a multicenter study of 125 patients. *Neurology*. 2010;74(9):736–742. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181d31e35
31. Takahashi T., Fujihara K., Nakashima I. et al. Anti-aquaporin-4 antibody is involved in the pathogenesis of NMO: a study on antibody titre. *Brain.* 2007;130(Pt 5):1235–1243. DOI: 10.1093/brain/awm062
32. Ruiz-Gaviria R., Baracaldo I., Castañeda C. et al. Specificity and sensitivity of aquaporin 4 antibody detection tests in patients with neuromyelitis optica: a meta-analysis. *Mult. Scler Relat. Disord.* 2015;4(4):345–349. DOI: 10.1016/j.msard.2015.06.003
33. Whittam D., Wilson M., Hamid S. et al. What's new in neuromyelitis optica? A short review for the clinical neurologist. *J. Neurol.* 2017;264(11):2330–2344. DOI: 10.1007/s00415-017-8445-8
34. Waters P.J., Pittock S.J., Bennett J.L. et al. Evaluation of aquaporin-4 antibody assays. *Clin. Exp. Neuroimmunol.* 2014;5(3):290–303. DOI: 10.1111/cen3.12107
35. Huda S., Whittam D., Bhojak M. et al. Neuromyelitis optica spectrum disorders. *Clin. Med. (Lond).* 2019;19(2):169–176. DOI: 10.7861/clinmedicine.19-2-169
36. Palace J., Lin D.Y., Zeng D. et al. Outcome prediction models in AQP4-IgG positive neuromyelitis optica spectrum disorders. *Brain.* 2019;142(5):1310–1323. DOI: 10.1093/brain/awz054

37. Симанив Т.О., Васильев А.В., Аскарова Л.Ш., Захарова М.Н. Оптиконейромиелит и заболевания спектра оптиконейромиелита. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019;119(10-2):35–48.
Simaniv T.O., Vasil'ev AV, Askarova LSh, Zakharova MN. Neuromyelitis optica and neuromyelitis optica spectrum disorders. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. im. S.S. Korsakova.* 2019;119(10-2):35–48. DOI: 10.17116/jnevro20191191035
38. Краснов В.С., Тотолян Н.А., Назаров В.Д. и др. Актуальные вопросы диагностики заболеваний спектра оптиконейромиелита при определении антител к аквапорину-4 в сыворотке крови. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020;120(7-2):24–31.
Krasnov V.S., Totolyan N.A., Nazarov V.D. et al. Actual issues of serum aquaporin-4 autoantibodies evaluation in the diagnostics of neuromyelitis optica spectrum disorders. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. im. S.S. Korsakova.* 2020;120(7-2):24–31. DOI: 10.17116/jnevro202012007224
39. Wingerchuk D.M., Lennon V.A., Lucchinetti C.F. et al. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2007;6(9):805–815.
DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70216-8
40. Contentti E.C., Rojas J.I., Cristiano E. et al. Latin American consensus recommendations for management and treatment of neuromyelitis optica spectrum disorders in clinical practice. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;45:102428. DOI: 10.1016/j.msard.2020.102428
41. Симанив Т.О., Краснов В.С., Касаткин Д.С. Оптиконевромиелит в фокусе. Практическое руководство в схемах и таблицах. М.; 2023. 176 с.
Simaniv T.O., Krasnov V.S., Kasatkin D.S. Neuromyelitis optica in focus. Practical guidance in diagrams and tables. Moscow; 2023. 176 p.
42. Jarius S., Aktas O., Ayzenberg I. et al. Update on the diagnosis and treatment of neuromyelits optica spectrum disorders (NMOSD) – revised recommendations of the Neuromyelitis Optica Study Group (NEMOS). Part I: Diagnosis and differential diagnosis. *J. Neurol.* 2023;270(7):3341–3368.
DOI: 10.1007/s00415-023-11634-0
43. Li R., Lu D., Li H. et al. Neuromyelitis optica spectrum disorders with non opticospinal manifestations as initial symptoms: a long-term observational study. *BMC Neurol.* 2021;21(1):35. DOI: 10.1186/s12883-021-02059-1
44. Chitnis T., Ness J., Krupp L. et al. Clinical features of neuromyelitis optica in children: US Network of Pediatric MS Centers report. *Neurology*. 2016;86(3):245–252. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002283
45. Tenembaum S., Yeh E.A; Guthy-Jackson Foundation International Clinical Consortium (GJCF-ICC). Pediatric NMOSD: a review and position statement on approach to work-up and diagnosis. *Front. Pediatr.* 2020;8:339.
DOI: 10.3389/fped.2020.00339
46. Absoud M., Lim M.J., Appleton R. et al. Paediatric neuromyelitis optica: clinical, MRI of the brain and prognostic features. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2015;86(4):470–472. DOI: 10.1136/jnnp-2014-308550
47. Baumann M., Sahin K., Lechner C. et al. Clinical and neuroradiological differences of paediatric acute disseminating encephalomyelitis with and without antibodies to the myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2015;86(3):265–272. DOI: 10.1136/jnnp-2014-308346
48. Lechner C., Baumann M., Hennes E.M. et al. Antibodies to MOG and AQP4 in children with neuromyelitis optica and limited forms of the disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2016;87(8):897–905.
DOI: 10.1136/jnnp-2015-311743
49. Kim H.J., Paul F., Lana-Peixoto M.A. et al. MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder: an international update. *Neurology*. 2015;84(11):1165–1173. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001367
50. Tenembaum S., Chitnis T., Nakashima I. et al. Neuromyelitis optica spectrum disorders in children and adolescents. *Neurology*. 2016;87(9 Suppl.2):S59–S66. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002824
51. Rostásy K., Mader S., Hennes E.M. et al. Persisting myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in aquaporin-4 antibody negative pediatric neuromyelitis optica. *Mult. Scler*. 2013;19(8):1052–1059.
DOI: 10.1177/1352458512470310
52. Rice D.R., Nishiyama S., Pardo S. et al. A point-of-care diagnostic test for aquaporin-4 antibody seropositive neuromyelitis optica. *Mult. Scler. Relat.* Disord. 2022;60:103716. DOI: 10.1016/j.msard.2022.103716
53. Majed M., Sanchez C.V., Bennett J.L. et al. Alterations in aquaporin-4-IgG serostatus in 986 patients: a laboratory-based longitudinal analysis. *Ann. Neurol.* 2023;94(4):727–735. DOI: 10.1002/ana.26722
54. Chen X., Zhou J., Li R. et al. Disease course and outcomes in patients with the limited form of neuromyelitis optica spectrum disorders and negative AQP4-IgG serology at disease onset: a prospective cohort study. *J. Clin. Neurol.* 2022;18(4):453–462. DOI: 10.3988/jcn.2022.18.4.453
55. Xue Q., Cao S., Rui Q. Reflections from a NMOSD case with serum AQP4-Ab negativity but CSF positivity: narrative review of how to interpret AQP4-Ab test results. *Ann. Transl. Med.* 2023;11(7):286.
DOI: 10.21037/atm-20-4110
56. Ross G.M.S., Filippini D., Nielen M.W.F., Salentijn G.I. Unraveling the hook effect: a comprehensive study of high antigen concentration effects in sandwich lateral flow immunoassays. *Anal. Chem.* 2020;92(23):15587–15595.
DOI: 10.1021/acs.analchem.0c03740
57. Van Beek N., Rentzsch K., Probst C. et al. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: prospective comparison of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2012;7:49.
DOI: 10.1186/1750-1172-7-49
58. Robertson D., Savage K., Reis-Filho J.S., Isacke C.M. Multiple immunofluorescence labelling of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue. *BMC Cell Biol.* 2008;9:13.
DOI: 10.1186/1471-2121-9-13
59. Kitley J., Leite M.I., Nakashima I. et al. Prognostic factors and disease course in aquaporin-4 antibody-positive patients with neuromyelitis optica spectrum disorder from the United Kingdom and Japan. *Brain.* 2012;135(Pt 6):1834–1849.
DOI: 10.1093/brain/aws109
60. Barć K., Gospodarczyk-Szot K., Nojszewska M. et al. The relationship between aquaporin-4 antibody status and visual tract integrity in neuromyelitis optica spectrum disorders: a visual evoked potential study. *Mult. Scler. Relat.* Disord. 2020;44:102265.
DOI: 10.1016/j.msard.2020.102265
61. Weinshenker B.G., Wingerchuk D.M., Vukusic S. et al. Neuromyelitis optica IgG predicts relapse after longitudinally extensive transverse myelitis. *Ann. Neurol.* 2006;59(3):566–569. DOI: 10.1002/ana.20770
62. Chan K.H., Lee C.Y. Treatment of neuromyelitis optica spectrum disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(16):8638. DOI: 10.3390/ijms22168638

Информация об авторах

Симанив Тарас Олегович – к.м.н., с.н.с. 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Научного центра неврологии, Москва, Россия, https://orcid.org/0000-0001-7256-2668
Краснов Владимир Сергеевич – к.м.н., доцент каф. неврологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия,
https://orcid.org/0000-0002-9769-447X
Лапин Сергей Владимирович – к.м.н., зав. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний, научно-методическим центром Минздрава России по молекулярной медицине Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, https://orcid.org/0000-0002-4998-3699
Бембеева Раиса Цеденкаевна – д.м.н., доцент, профессор каф. неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики имени академика Л.О. Бадаляна педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия, https://orcid.org/0000-0002-4373-4747
Коробко Денис Сергеевич – к.м.н., врач-невролог, зав. Центром рассеянного склероза и других аутоиммунных заболеваний нервной системы Государственной Новосибирской областной клинической больницы, Новосибирск, Россия; ассистент каф. клинической неврологии и нейрогериатрии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей Новосибирского государственного медицинского университета, Новосибирск, Россия; с.н.с. лаб. нейронаук Института «Международный томографический центр», Новосибирск, Россия, https://orcid.org/0000-0002-7938-3782
Белько Елена Алексеевна – зав. отделом аутоиммунных исследований, врач клинической лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории «ИНВИТРО СПб», Санкт-Петербург, Россия,
https://orcid.org/0000-0001-6625-049X
Шабалина Алла Анатольевна – д.м.н., в.н.с., рук. лаб. гемореологии, гемостаза и фармакокинетики (с клинической лабораторной диагностикой) Научного центра неврологии, Москва, Россия,
https://orcid.org/0000-0001-9604-7775

Вклад авторов: *Симанив Т.О.* – координация исследования, анализ полученных данных, драфт тезисов, написание текста рукописи, финальная корректировка текста рукописи; *Краснов В.С.* – анализ полученных данных, драфт тезисов, написание текста рукописи; *Лапин С.В., Бембеева Р.Ц., Коробко Д.С., Шабалина А.А.* – анализ полученных данных, написание текста рукописи; *Белько Е.А.* – анализ полученных данных. Все авторы прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Taras O. Simaniv – Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 6th Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia,
https://orcid.org/0000-0001-7256-2668
Vladimir S. Krasnov – Cand. Sci. (Med.), associate professor, Department of neurology, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia,
https://orcid.org/0000-0002-9769-447X
Sergey V. Lapin – Cand. Sci. (Med.), Head, Laboratory of diagnostics of autoimmune diseases; Head, Scientific and methodological center of molecular medicine, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia, https://orcid.org/0000-0002-4998-3699
Raisa Ts. Bembeeva – D. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of neurology, neurosurgery and medical genetics named after academician L.O. Badalian, Faculty of pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia,
https://orcid.org/0000-0002-4373-4747
Denis S. Korobko – Cand. Sci. (Med.), neurologist, Head, Center for multiple sclerosis and other autoimmune diseases of the nervous system, Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia; assistant, Department of clinical neurology and neurogeriatrics, Faculty of advanced training and professional retraining, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia; senior researcher, Neuroscience laboratory, International Tomography Institute of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, https://orcid.org/0000-0002-7938-3782
Elena A. Belko – Head, Department of autoimmune research, clinical laboratory diagnostics doctor, clinical diagnostic laboratory "INVITRO SPb", Saint-Petersburg, Russia, https://orcid.org/0000-0001-6625-049X
Alla A. Shabalina – D. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Laboratory of hemorheology, hemostasis and pharmacokinetics (with clinical laboratory diagnostics), Research Center of Neurology, Moscow, Russia,
https://orcid.org/0000-0001-9604-7775

Author contribution: *Simaniv T.O.* – coordination of the study, analysis of the data obtained, abstract draft, writing the text of the manuscript, final correction of the manuscript text; *Krasnov V.S.* – analysis of the data obtained, abstract draft, writing the text of the manuscript; *Lapin S.V., Bembeeva R.Ts., Korobko D.S., Shabalina A.A.* – analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript; *Belko E.A.* – analysis of the data obtained. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, final approval of the version to be published.