

DOI: 10.15690/vramn.v70i2.1310

Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова, А.А. Новиков

НИИР им. В.А. Насоновой, Москва, Российская Федерация

Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии

По современным представлениям, аутоиммунитет — это комплексный патологический процесс, в основе которого лежит нарушение толерантности и, как следствие, патологический иммунный ответ в отношении компонентов собственных тканей (аутоантигенов), приводящий к развитию широкого спектра аутоиммунных заболеваний человека. В последние годы были расшифрованы многообразные нарушения иммунитета, приобретенные и/или врожденные (связаны с полиморфизмом генов, регулирующих иммунный ответ), которые реализуются на клеточном и гуморальном уровне: тимус, кишечник, иммунные клетки периферической крови, включая Т и В лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, регуляторные Т клетки, компоненты системы комплемента, цитокины и другие. Установлена связь между развитием аутоиммунных ревматических (АРЗ) и аутовоспалительных заболеваний и синдромов, разработана классификация иммуновоспалительных заболеваний человека. В статье рассмотрены результаты собственных исследований, касающихся лечения АРЗ с использованием инновационных генно-инженерных биологических препаратов, изучения патогенетических механизмов и диагностики АРЗ на основе иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования широкого спектра молекулярных и клеточных биомаркеров (аутоантитела, острофазовые белки воспаления, цитокины, хемокины, маркеры активации сосудистого эндотелия, компоненты системы комплемента, субпопуляции лимфоцитов, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани, генетические, эпигенетические, транскриптомные маркеры). Также освещены подходы к персонифицированной терапии АРЗ.

Ключевые слова: аутоиммунные ревматические болезни, биомаркеры, аутоантитела, цитокины, генно-инженерные биологические препараты.

(Для цитирования: Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 169–182. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310)

169

Более 100 лет назад выдающийся немецкий ученый Пауль Эрлих сформулировал гипотезу, согласно которой гуморальный иммунный ответ против собственных клеток (*horror autotoxicus* — страх самоотравления), который в настоящее время получил название «аутоиммунитет», может быть несовместим с жизнью, приводя к

необратимому поражению жизненно важных органов. По современным представлениям, аутоиммунитет — это комплексный патологический процесс, в основе которого лежит нарушение толерантности и, как следствие, патологический иммунный ответ в отношении компонентов собственных тканей (аутоантигенов). В последние годы

E.L. Nasonov, E.N. Aleksandrova, A.A. Novikov

V.A. Nasonova Research Institute for Rheumatology, Moscow, Russian Federation

Autoimmune Rheumatic Diseases — Problems of Immunopathology and Personalized Treatment

By current standards autoimmunity is a complex pathological process based on a violation of tolerance and, consequently, the pathological immune response against its own tissues components (autoantigens) leading to the development of a wide range of autoimmune diseases in humans. In recent years, multiple immune disorders both acquired and / or congenital (associated with polymorphisms of genes that regulate immune response) have been transcribed. These disorders occur at the cellular and humoral levels: thymus, intestines, peripheral blood immune cells, including T and B lymphocytes, macrophages, dendritic cells, Treg-cells (Treg), components of complement system, cytokines and others. The interaction between the development of autoimmune rheumatic (ARD) and autoinflammatory diseases and syndromes is detected; a classification of immune-inflammatory diseases is designed. The article describes the results of our studies on the treatment of ARD using innovative genetically engineered biological agents and on the research of pathogenetic mechanisms and diagnostics of ARD based on immunological and molecular biological diagnostic techniques of a wide range of molecular and cellular biomarkers (autoantibodies, inflammatory acute phase proteins, cytokines, chemokines, markers of activation of the vascular endothelium, the components of the complement system, lymphocyte subpopulations, products of metabolism of bone and cartilage tissue, genetic, epigenetic, transcriptomic markers). The approaches to personalized treatment of ARD are presented.

Key words: autoimmune rheumatic diseases, biomarkers, autoantibodies, cytokines, genetically engineered biological agents.

(For citation: Nasonov E.L., Alexandrova E.N., Novikov A.A. Autoimmune Rheumatic Diseases — Problems of Immunopathology and Personalized Treatment. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 169–182. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310)

были расшифрованы многообразные нарушения иммунитета, приобретенные и/или врожденные (связаны с полиморфизмом генов, регулирующих иммунный ответ), которые реализуются на клеточном и гуморальном уровне: тимус, кишечник, иммунные клетки периферической крови, включая Т и В лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, регуляторные Т клетки (T_{reg}), компоненты системы комплемента, цитокины и др. [1–3]. В целом, аутоиммунные заболевания включают более 100 нозологических форм и весьма распространены в популяции: ими страдает около 8% населения земного шара. Заболевания условно подразделяют на органоспецифические и органонеспецифические (системные), наиболее яркими примерами которых являются иммуновоспалительные ревматические заболевания. В процессе изучения аутоиммунных заболеваний стало очевидным, что патогенез многих из них не укладывается в рамки классических представлений о механизмах развития этой патологии, которую в первую очередь связывают с активацией приобретенного иммунитета и гиперпродукцией патогенных аутоантител. Это позволило сформировать концепцию аутовоспаления, которая лежит в основе как ряда редких наследственных синдромов, так и весьма распространенных воспалительных болезней человека. По нашему мнению, основоположником этой концепции является русский ученый Илья Мечников, который впервые открыл реакции клеточного иммунитета, продемонстрировав роль макрофагов в развитии воспаления в отсутствие сывороточных факторов (аутоантител), — фагоцитарную теорию иммунитета. Следует напомнить, что в 1908 г. И. Мечников и П. Эрлих были удостоены Нобелевской премии за исследования в области иммунологии. В настоящее время установлено, что развитие аутовоспалительных заболеваний связано с активацией не приобретенного (как при классических аутоиммунных заболеваниях), а врожденного иммунитета. Ключевую роль в этом процессе играют Toll- и NOD-подобные рецепторы, распознающие определенные последовательности (паттерны) микроорганизмов, компонентов ядра, высвобождающихся из подвергнутых апоптозу (или НЕТозу) клеток, кристаллы мочевой кислоты, холестерина и др. Установлено, что представитель семейства NOD-подобных молекул NLRP3 (Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain containing 3) является компонентом цитоплазматического комплекса (инфламасома), который регулирует активацию каспазы 1 — фермента, конвертирующего неактивные провоспалительные интерлейкины (ИЛ), такие как про-ИЛ 1, про-ИЛ 18 и про-ИЛ 33, в активные формы. Наряду с открытием редких моногенных аутовоспалительных заболеваний, связанных с мутациями гена, кодирующего NLRP3, накапливаются данные о роли аутовоспалительного процесса в развитии ряда классических аутоиммунных заболеваний человека. Полагают, что именно гиперпродукция ИЛ 1, связанная с активацией (или мутацией гена) NLRP3 инфламасомы, является ведущим механизмом, объединяющим аутоиммунные и аутовоспалительные заболевания [4]. Формирование концепции о взаимосвязи между аутоиммунитетом и аутовоспалением — одно из крупнейших достижений биологии и медицины начала XXI в., которое может иметь фундаментальное значение для формирования научно обоснованных и эффективных подходов к профилактике, ранней диагностике и лечению широкого спектра распространенных потенциально смертельных болезней. Она положена в основу современной классификации иммуновоспалительных заболеваний человека [5].

Ревматология в XXI в. отнесена к числу наиболее бурно развивающихся медицинских специальностей, эффективно адаптирующих достижения и вносящих вклад в прогресс мировой фундаментальной и клинической медицины. Системные аутоиммунные ревматические заболевания (АРЗ) — гетерогенная группа иммуновоспалительных болезней человека, включающая ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ), системную склеродермию (ССД), синдром Шегрена (СШ), идиопатические воспалительные миопатии (полимиозит, ПМ; дерматомиозит ДМ), антифосфолипидный синдром (АФС) и системные васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ) [6, 7]. Актуальность проблемы АРЗ для современной медицины определяется их высокой распространенностью в популяции, трудностью ранней диагностики, быстрой инвалидизацией больных и неблагоприятным жизненным прогнозом. Теоретическим основанием для объединения этих заболеваний в один класс является не только сходство клинических признаков, отражающее системное воспаление внутренних органов, но и наличие общих иммуногенетических факторов предрасположенности и патогенетических механизмов, связанных с нарушениями в системе иммунитета. Такие АРЗ, как РА и СКВ, — не только наиболее тяжелые хронические заболевания человека, но и модели для изучения фундаментальных механизмов патогенеза и подходов к фармакотерапии других распространенных форм неинфекционных заболеваний, в т.ч. атеросклеротического поражения сосудов, злокачественных новообразований и др. Изучение проблем иммунопатологии АРЗ традиционно находится в центре внимания НИИР им. В.А. Насоновой (Москва) и в последние годы проводится в рамках двух основных направлений научных исследований — «Инновационные технологии в диагностике и лечении ревматических заболеваний взрослых и детей» (№ 0514-2014-0002) и «Разработка концепции персонализированной медицины на основе инновационных технологий диагностики, лечения и профилактики аутоиммунных ревматических заболеваний» (№ 0514-2014-0031), — входящих в программу фундаментальных исследований государственных академий наук (2013–2020 гг.).

По современным представлениям, в основе патогенеза АРЗ лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов («дисбаланс») (иммуно)регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные факторы внешней среды (инфекции, нарушение микробиоты кишечника, курение, пародонтит, ожирение, гиповитаминоз D и др.). Особое внимание привлечено к основным провоспалительным цитокинам — фактору некроза опухоли (ФНО) α , ИЛ 1, 6, 12, 17, 23 и др., относительное преобладание синтеза которых над так называемыми противовоспалительными цитокинами [ИЛ 4, 10, трансформирующий фактор роста (ТФР) β и др.] ассоциируется с развитием разнообразных локальных (поражение суставов) и системных (поражение почек, сердца, сосудов и др.) клинических проявлений, характерных для этих заболеваний [2]. Фундаментальное значение в нарушении иммунной толерантности к собственным белкам при АРЗ играют дефекты T_{reg} [8]. Это во многом определило внимание к этим цитокинам как к перспективным терапевтическим мишеням для лечения АРЗ. В последние годы специально разработано более 10 инновационных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) (моноклональные антитела и рекомбинантные белки), ингибирующих активность

перечисленных выше цитокинов и патологическую активацию Т и В клеток, их биоэквивалентные формы, которые с успехом применяются в клинической практике для лечения АРЗ во всем мире, в т.ч. и в России [9–11]. К ГИБП относят класс препаратов, получивших название ингибиторы ФНО α (этанерцепт, ЭТЦ; инфликсимаб, ИНФ; адалимумаб, АДА; голимумаб, ГЛМ; цертолизумаб, ЦЗП); ингибитор рецепторов ИЛ 6 тоцилизумаб (ТЦЗ); анти-В-клеточные препараты ритуксимаб (РТМ) и белимумаб; блокатор активации Т лимфоцитов абатацепт (АБЦ) и др. (табл. 1). Наряду с ГИБП разрабатывают группы химически синтезированных пероральных противовоспалительных лекарственных препаратов нового поколения (так называемые малые молекулы — small molecules), модулирующие внутриклеточную сигнализацию в иммунокомпетентных клетках (в первую очередь, ингибиторы JAK- и SYK-киназы).

Учитывая неблагоприятный прогноз у пациентов, которым показано лечение ГИБП, и их высокую стоимость, для реального снижения инвалидности и смертности, с одной стороны, и достижения максимальной эффективности распределения материальных ресурсов — с другой, крайне актуальна разработка стратегии применения этих препаратов на основе анализа социальных, клинических и экономических факторов. Для оптимизации применения ГИБП в большинстве регионов Российской Федерации эффективно функционируют «Центры терапии генно-инженерными биологическими препаратами», которые участвуют в Регистре АРБИТР («Регистр Биологи-

ческой ТеРапии). Для стандартизации подходов к оценке эффективности и безопасности терапии ГИБП (РТМ) на международном уровне проводится активное сотрудничество с Регистрами ряда стран Европы в рамках глобального международного проекта CERERRA (The European Collaborative REgistrEs for the Evaluation of Rituximab in Rheumatoid Arthritis) [12, 13]. Представляют несомненный интерес данные российских исследователей, свидетельствующие о высокой эффективности моноклональных антител к рецепторам ИЛ 6 — ТЦЗ (исследование ЛОР-НЕТ — Локальное Открытое многоцентровое исследование оценки качества жизни пациентов с умеренной и высокой активностью Ревматоидного артрита и Неадекватным ответом на базисные противовоспалительные препараты при добавлении к терапии Тоцилизумаба) [14], ингибитора ФНО α — ЭТЦ (исследование ЭТАЛОН — Локальное открытое многоцентровое наблюдательное исследование качества жизни на фоне лечения ЭТАнерцептом боЛьных с активным ревматОидным артритом с Неэффективностью базисных противовоспалительных препаратов) [15], а также часть международного исследования PRESERVE [16, 17] и исследование, посвященное изучению пегилированных моноклональных антител к ФНО α — ЦЗТ [18] и адалимумаба (АДА) [19] при РА. Результаты, полученные в этих и других исследованиях, свидетельствуют о высокой эффективности ГИБП у больных РА, резистентных к лечению стандартными противовоспалительными препаратами, которые при раннем назначении способны индуцировать ремиссию более

Таблица 1. Общая характеристика ГИБП, зарегистрированных для лечения аутоиммунных ревматических и других иммуновоспалительных заболеваний человека (аббревиатуры расшифрованы в тексте)

Препарат	Характеристика	Механизм действия	Путь введения	Показания
Инфликсимаб	Химерные моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	в/в	РА, болезнь Крона, язвенный колит, АС, ПсА, бляшечный псориаз
Адалимумаб	Человеческие моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, болезнь Крона, язвенный колит, АС, ПсА, ЮИА, бляшечный псориаз
Голимумаб	Человеческие моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, АС, ПсА
Цертолизумаб	Пегилированный Fab'-фрагмент гуманизованных моноклональных антител к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, болезнь Крона, АС
Этанерцепт	Рекомбинантный человеческий ФНО-рецептор типа 2, соединенный с Fc-фрагментом IgG человека	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, ЮИА, ПсА, АС
Абатацепт	Рекомбинантный внеклеточный домен CTLA-4 человека, соединенный с CH2 и CH3 доменами IgG ₁	Ингибция стимуляции Т клеток	в/в	РА, ЮИА
Тоцилизумаб	Гуманизованные моноклональные антитела к ИЛ-6Р	Блокирование сигнализации ИЛ 6	в/в	РА, полиартикулярный и системный ЮИА
Ритуксимаб	Химерные моноклональные антитела к CD20 антигену В клеток	Истощение CD20 В клеток	в/в	РА, АНЦА-ассоциированный васкулит; СКВ и другие АРЗ (по незарегистрированным показаниям)
Белимумаб	Человеческие моноклональные антитела к BlyS	Блокада активации В клеток	в/в	СКВ
Устекинумаб	Человеческие моноклональные антитела к ИЛ 12/23	Ингибция связывания ИЛ 12 и ИЛ 23 с рецептором	п/к	Псориаз, ПсА
Канакинумаб	Человеческие моноклональные антитела к ИЛ 1β	Ингибция связывания ИЛ 1β с рецептором	п/к	Криопиринассоциированный периодический синдром, системный ювениальный идиопатический артрит, острый подагрический артрит

чем у 1/2 пациентов [20]. Заслуживают внимания наши собственные результаты, касающиеся эффективности и безопасности РТМ при широком круге АРЗ, включая СКВ, ССД, БШ, АНЦА-васкулиты и ПМ/ДМ [21]. Необходимо также подчеркнуть большой вклад НИИР им. В.А. Насоновой в разработку новых противовоспалительных препаратов для лечения РА, таких как ТЦЗ [22] и АБЦ [23, 24], и средства для лечения СКВ белимуаба [25] в рамках международных исследований, послуживших основанием для официальной регистрации этих препаратов.

Современная концепция ведения пациентов с РА представлена в международной программе «Тreat to Target» (T2T) — «Лечение до достижения цели», согласно которой стратегической целью лечения РА является достижение ремиссии [26, 27]. В реализации этой программы активное участие принимают российские ревматологи [28]. Следует напомнить, что в рамках этой стратегии именно метотрексат (МТ) следует рассматривать как основной препарат первой линии при лечении активного РА [29, 30]. Нами инициировано исследование РЕМАРКА (Российское Исследование Метотрексата и биологических препаратов при Раннем активном Артрите), предварительные результаты которого свидетельствуют о том, что раннее интенсивное контролируемое лечение подкожным МТ в виде монотерапии или в комбинации с ГИБП позволяет добиться ремиссии более чем у 1/2 пациентов и снизить стоимость лечения [31, 32]. Все вышеперечисленное послужило основанием для разработки российских рекомендаций Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России» по лечению РА [33].

Поскольку АРЗ, как уже было отмечено, характеризуются быстрым прогрессированием, именно активная противовоспалительная терапия в дебюте болезни увеличивает вероятность достижения ремиссии и снижает риск развития необратимого повреждения внутренних органов и коморбидной патологии. Однако ранняя диагностика АРЗ с использованием только клинических и инструментальных методов исследования нередко затруднена. Изучение молекулярных и клеточных биомаркеров позволяет существенно улучшить раннюю диагностику АРЗ, оценку активности патологического процесса, прогноз заболевания, а также предсказать эффективность лечения, что особенно важно в случае фармакотерапии с применением ГИБП [34–39]. Прогресс в изучении патогенетических механизмов и диагностике АРЗ связан с развитием иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования широкого спектра молекулярных и клеточных биомаркеров, включающих аутоантитела, острофазовые белки воспаления, цитокины, хемокины, маркеры активации сосудистого эндотелия, компоненты системы комплемента, субпопуляции лимфоцитов, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани, генетические, эпигенетические, транскриптомные маркеры в крови, синовиальной жидкости, моче, биоптатах синовиальной оболочки, почек и других пораженных тканей. Наряду с классическими униплексными методами иммунодиагностики (иммуноферментный анализ, ИФА; реакция непрямой иммунофлуоресценции, РНИФ; нефелометрия; хемилюминесценция и др.), все шире применяют мультиплексный анализ биомаркеров, основанный на генетических, эпигеномных, транскриптомных и протеомных технологиях с использованием ДНК- и белковых микрочипов, ПЦР, проточной цитометрии. При этом наиболее перспективны в ревматологии протеомные исследования. Универсальным признаком всех АРЗ является гиперпродукция органонеспецифических

аутоантител. К основным серологическим маркерам АРЗ относятся антинуклеарные антитела (АНА), ревматоидные факторы (РФ), антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ), включающие антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антитела к циклическому цитруллинированному виментину (АЦМВ), а также антифосфолипидные (АФЛ) и антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА). Положительные результаты определения этих аутоантител входят в число диагностических и классификационных критериев АРЗ (табл. 2), применяются для оценки активности, прогноза и идентификации отдельных клинико-лабораторных субтипов (табл. 3), служат предикторами развития АРЗ на бессимптомной стадии болезни (предболезнь). По нашим данным, серологические тесты, связанные с определением титра аутоантител, составляют основную долю иммунологических исследований в ревматологии (63,6%), при этом наиболее часто производится определение АНА (30%), доля исследований на АЦЦП, РФ и АФЛ составляет около 9%, АНЦА — около 3%, других аутоантител — приблизительно 5% [35]. Следует подчеркнуть, что в реальной практике результаты, касающиеся клинической информативности определения аутоантител, в ряде случаев не совпадают с данными литературы, на основании которых разрабатываются рекомендации по иммунодиагностике АРЗ. Это может быть связано с различиями в методах определения и уровнях позитивности аутоантител, отсутствием международных и отечественных референтных стандартов, а также с особенностями подбора групп пациентов, которым проводятся соответствующие исследования. Все это свидетельствует о необходимости совершенствования подходов к лабораторной диагностике АРЗ.

Особое внимание в последние годы уделяют методическим аспектам определения АНА — гетерогенной группы аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра и цитоплазмы, которые являются основным серологическим маркером АРЗ [35, 39–44]. Согласно международным рекомендациям, «золотым стандартом» и первичным скрининговым методом определения АНА в сыворотке крови является РНИФ с использованием в качестве субстрата клеток линии Нер-2 (эпителиальные клетки рака гортани человека) — РНИФ-Нер-2. В последние годы в практике клинико-диагностических лабораторий широкое распространение получили скрининговые методы определения АНА на основе ИФА и мультиплексных биоаналитических технологий. Однако новые методы твердофазного анализа не могут заменить первичный скрининг АНА с помощью РНИФ-Нер-2, поскольку идентифицируют антитела к ограниченному числу очищенных / рекомбинантных антигенов или смеси антигенов (ядерного гомогената) с измененными, либо утраченными эпитопами, что приводит к увеличению числа ложноотрицательных результатов. С другой стороны, рутинная техника флуоресцентной микроскопии имеет ряд ограничений, к которым относятся методические различия (тип микроскопа, используемые тест-системы и реагенты, время инкубации и др.), субъективная характеристика титра и типа свечения, необходимость длительного обучения персонала, отсутствие квалифицированной экспертной оценки результатов исследования, что приводит к значительной внутри- и межлабораторной вариабельности полученных данных. Разработка автоматизированных систем интерпретации результатов клеточных флуоресцентных тестов создает предпосылки для стандартизации и улучшения воспроизводимости РНИФ при определении АНА и других ауто-

Таблица 2. Аутоантитела, включенные в диагностические и/или классификационные критерии аутоиммунных ревматических заболеваний

Заболевание	Аутоантитела	Диагностические и/или классификационные критерии AP3
Ревматоидный артрит (РА)	Ревматоидный фактор (РФ). Антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2010)
Системная красная волчанка (СКВ)	Антиядерные антитела (АНА) Антитела к двухспиральной (дс) ДНК (анти-дсДНК) Анти-Sm Анти-SSA/Ro Анти-SSB/La Антифосфолипидные антитела (АФЛ): • Антитела к кардиолипину (АКЛ) • Антитела к β_2 -гликопротеину I ($\alpha\beta_2$ -ГП I) • Волчаночный антикоагулянт (ВА) • Ложноположительная реакция Вассермана Прямая проба Кумбса (в отсутствии гемолитической анемии)	Классификационные критерии SLICC (2012)
Системная склеродермия (ССД)	АНА Антитела к топоизомеразе I (Scl-70) (анти- Scl-70) Антицетромерные антитела (АЦА) к CENP-A, CENP-B, CENP-C Антитела к РНК-полимеразе III (анти-РНК-полимераза III)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2013)
Синдром Шегрена (СШ)	Анти-SSA/Ro Анти-SSB/La РФ АНА	Классификационные критерии ACR (2012)
Смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ)	Анти-U1RNP	Диагностические критерии (1996)
Недифференцированное заболевание соединительной ткани	АНА	Предварительные классификационные критерии (1997)
Антифосфолипидный синдром (АФС)	ВА АКЛ $\alpha\beta_2$ -ГПИ	Классификационные критерии (консенсус; 2006)
Системные васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ)	АНЦА Антитела к протеиназе 3 (анти-ПР3) Антитела к миелопероксидазе (анти-МПО)	Классификационные критерии (консенсус; 2007)

антител (АНЦА, анти-дсДНК с использованием Crithidia luciliae) у больных AP3. В рамках международного сотрудничества нами проведено исследование содержания АНА в сыворотках 1178 больных РЗ методом РНИФ-HEP-2 с помощью набора реагентов AKLIDES® ANA (Medipan GmbH, Германия). Обработку результатов РНИФ-HEP-2 осуществляли с применением автоматизированной платформы AKLIDES (Medipan GmbH, Германия) на основе многопараметрического анализа внутриклеточных структур. Установлено, что автоматизированная платформа AKLIDES позволяет объективно и быстро идентифицировать позитивные и негативные результаты определения АНА, что сопоставимо с классическим визуальным методом интерпретации РНИФ-HEP-2, а также прогнозировать максимальный конечный титр АНА в сыворотках больных AP3 по интенсивности сигнала флуоресценции.

Диагностическими маркерами РА служат IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ. По нашим данным, АМЦВ обладает наилучшей диагностической чувствительностью, а АЦЦП — специфичностью и отношением правдоподобия положительных результатов. Одновременная оценка концентраций IgM / IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ повышает диагностическую чувствительность (ДЧ) до 90% на ранней и до 92% — на поздней стадии РА (табл. 4). При этом базальное увеличение концентрации АМЦВ коррелирует с прогрессированием деструкции суставов [45]. В последние годы внимание исследователей привлекает поиск новых чувствительных и специфичных лабораторных биомаркеров РА, среди которых наиболее перспектив-

ными для диагностики данного заболевания считаются антитела к карбамилированным белкам (анти-CarP) [46] и белок 14-3-3 η [47], который играет важную роль в иммунопатогенезе РА.

Антифосфолипидные антитела являются серологическим маркером АФС, фактором риска тромботических осложнений и акушерской патологии. У больных АФС нами было изучено клиническое значение нового мультипараметрического метода определения АКЛ, $\alpha\beta_2$ -ГП I, антител к фосфатидилсерину (аФС) и фосфатидилинозитолу (аФИ) классов G и M на основе дот-ИФА. Установлено, что комбинация высокопозитивных уровней всех 4 субтипов АФЛ (IgG / IgM АКЛ, $\alpha\beta_2$ -ГП I, аФС и аФИ) ассоциируется с увеличением риска развития ишемических нарушений мозгового кровообращения при АФС (OR = 2,45; p = 0,049).

Серия исследований была посвящена анализу синтеза цитокинов при различных субтипах и на разных стадиях (ранний и развернутый) РА. Напомним, что в настоящее время IgM РФ и АЦБ рассматривают как различные системы аутоантител, что позволяет выделить два основных клинико-лабораторных субтипа РА (АЦБ-позитивный и АЦБ-негативный), отличающихся по молекулярным механизмам патогенеза, тяжести течения и подходам к лечению. По нашим данным, при раннем РА по сравнению с развернутой стадией заболевания обнаружено достоверное повышение концентрации T_{x1}- (интерферон γ , ИФН γ) и T_{x17} (ИЛ 17)-цитокинов, хемокинов (ИП-10, МИФ-1), колониестимулирующих факторов (ИЛ 7, Г-КСФ). У

Таблица 3. Связь аутоантител с клиническими проявлениями аутоиммунных ревматических заболеваний

Аутоантитела	Заболевания	Частота, %	Клинические проявления
Ревматоидный фактор	РА Другие САРЗ	70–90 10–95 (синдром Шегрена)	Тяжелое, быстро прогрессирующее течение; частое развитие коморбидных состояний
Антитела к цитруллинированным белкам	РА	80–98	Тяжелое, быстро прогрессирующее течение; частое развитие коморбидных состояний
Анти-дсДНК	СКВ	70–80	Нефрит, связь с активностью заболевания; поражение кожи
Антитела к нуклеосомам	СКВ	60–90	Нефрит, связь с активностью заболевания; поражение кожи; лекарственная волчанка
Антитела к Sm-антигену	СКВ	10–30	Нефрит
Антитела к маленькому ядерному рибонуклеопротеину (сплайсосома, U1RNP, 70 кДа, А, С)	СКВ перекрестный синдром, СЗСТ	15–25	Феномен Рейно, миозит, ЛАГ, артрит, плотный отек кистей, гипергаммаглобулинемия
Антитела к N-метил-D-аспартат рецептору (N-methyl-D-aspartate receptor)	СКВ	30–50	Поражение ЦНС
Антитела к рибосомальному белку P0, P1, P2	СКВ	4–12	Нейропсихические проявления, гепатит
Антитела к гистонам	СКВ	–	Лекарственная волчанка
Антитела к фосфолипидам (ВА, АКЛ, α ₂ -ГПИ, протромбин)	СКВ	20–30	Тромбозы, акушерская патология, сетчатое ливедо, утолщение клапанов сердца
Антитела к α-актину	СКВ	20	Поражение почек
Анти-C1q	СКВ	40–50	Нефрит, коррелируют с активностью заболевания
Антитела к SSA/Ro (60 и 52/TRIM 21)	СКВ, синдром Шегрена	30–40	При СКВ — поражение почек (при отсутствии антител к SSB/La), поражение кожи, фотосенсибилизация; неонатальный волчаночный синдром и полная поперечная блокада; «сухой» синдром, подострая кожная красная волчанка, гипергаммаглобулинемия, лейкопения; при синдроме Шегрена — интерстициальный нефрит и увеличение риска развития неходжскинской лимфомы
Антитела к SSB/La	СКВ, синдром Шегрена	15–20	При СКВ — неонатальный волчаночный синдром и полная поперечная блокада; «сухой» синдром, подострая кожная красная волчанка, гипергаммаглобулинемия, лейкопения; при синдроме Шегрена — интерстициальный нефрит и увеличение риска развития неходжскинской лимфомы
Антитела к α-фодрину	СКВ и синдром Шегрена	46–100 (синдром Шегрена); 30 (СКВ)	Сухой синдром
Антитела к центромере	ССД	15–40	Лимитированная форма, ЛАГ
Антитела к к Scl-70/ топоизомеразе I	ССД	10–40	Диффузная форма, легочный фиброз
Антитела к топоизомеразе III	ССД	5–25	Диффузная форма, почечный криз, ЛАГ
Анти-Tx/To	ССД	Редко	ЛАГ, интерстициальное заболевание легких, поражение кишечника, лимитированное поражение кожи
Анти-U11/U12	ССД	Редко	Интерстициальное заболевание легких
Анти-Ku	СКВ, ССД, СКВ/ ПМ/ССД и ПМ/ ССД перекрестный синдром	Редко	Миозит, артрит
Антитела к аминоксилсинтезам т-РНК (анти-Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, Zo, YRS)	ПМ/ДМ	20–30	Анти-синтезный синдром (миозит, интерстициальное поражение легких, рука механика, феномен Рейно)
Антитела к частицам сигнального распознавания	ПМ/ДМ	2–8	Некротизирующая миопатия
Антитела к Mi-2	ПМ/ДМ	8–20	Дерматомиозит и идиопатические воспалительные миопатии
Антитела к TRIM33	ДМ	10–30	Опухоли
Антитела к PM/Scl	ПМ/ДМ	12–16	Перекрестный синдром ИВМ и ССД
Антитела к CADM-140/MDA-5 (clinically amyopathic dermatomyositis/anti-melanoma-differentiation-associated gene 5)	ПМ/ДМ	Редко	Амиопатический миозит (53%) в сочетании с интерстициальными заболеваниями легких
АНЦА	Системные некротизирующие васкулиты	50	Связь с активностью заболевания, риск развития обострения

Таблица 5. Диагностические характеристики входящих в МИРРА биомаркеров при раннем ревматоидном артрите

Параметры	ИЛ 6	СРБ	ГМ-КСФ	ИФН γ	ИБ 10	АЦЦП	МИРРА
ДЧ, %	64	75	47	50	69	64	97
ДС, %	99	99	99	99	94	94	94
ОППР	64	75	47	50	11,5	11	16,1
ОПОР	0,4	0,2	0,5	0,5	0,3	0,4	0,03
ППК (AUC)	0,9	0,9	0,85	0,98	0,88	0,87	0,98
95% ДИ	0,81–0,99	0,82–0,98	0,76–0,95	0,81–0,98	0,77–0,99	0,77–0,97	0,95–1,01

Примечание. ДЧ — диагностическая чувствительность, ДС — диагностическая специфичность, ОППР — отношение правдоподобия положительных результатов, ОПОР — отношение правдоподобия отрицательных результатов, ППК (AUC) — площадь под кривой (ROC-анализ), ДИ — доверительный интервал.

хемотаксиса (ИБ-10). При диагностике раннего РА МИРРА обладает высокой ДЧ и ДС (97 и 94%, соответственно), превосходя IgM РФ (59 и 79%, соответственно) по обоим параметрам, а АЦЦП (71 и 97%, соответственно) — по ДЧ (табл. 5). Таким образом, после валидации МИРРА может рассматриваться как высокоточный серологический тест для ранней диагностики РА. Очевидно, что мультипараметрический анализ протеомных биомаркеров позволяет более объективно охарактеризовать сложность и многообразие молекулярных механизмов патогенеза РА. Применение МДИ, обладающих более высокой клинической информативностью по сравнению с классическими методами иммунологических исследований, является качественно новым уровнем в ранней диагностике, определении активности и прогнозировании эффективности терапии ГИБП при РА.

Достижения молекулярной биологии, фармакогенетики и биоинформатики создали предпосылки для индивидуализации терапии РА в рамках концепции персонализированной (personalized) медицины [50]. Снижение стоимости определения биомаркеров воспаления и деструкции суставов и особенно генетических / геномных исследований дает возможность внедрить персонализированный подход к лечению пациентов в реальной клинической практике. Термин «персонализированная медицина» подразумевает своевременный выбор наиболее эффективного и безопасного препарата для каждого пациента с учетом преобладающих механизмов патогенеза, стадии (ранняя, развернутая, поздняя) и характера течения (быстро или медленно прогрессирующий) заболевания, особенностей коморбидной патологии, потенциальных лекарственных взаимодействий и др. Биомаркеры, привлекающие внимание в рамках проблемы

персонализированной медицины, включают характеристику генов-кандидатов, широкомасштабный скрининг генома, экспрессию генов цитокинов в клетках периферической крови и тканях, концентрацию цитокинов и других белков (протеомика) в периферической крови, изучение субпопуляций лимфоцитов в крови и биоптатах пораженных тканей [50]. Их подразделяют на 3 основные категории: диагностические биомаркеры, позволяющие проводить раннюю диагностику заболевания; прогностические биомаркеры, позволяющие оценить прогноз (например, скорость прогрессирования деструктивных изменений в суставах); фармакотерапевтические биомаркеры, позволяющие оценить динамику активности заболевания на фоне терапии, а также предсказать чувствительность (или резистентность) к данному препарату и риск развития нежелательных явлений. Согласно другой классификации, биомаркеры разделяют на 2 группы: описательные (descriptive), которые позволяют оценивать активность воспаления и токсические реакции лекарственных препаратов, и механистические (mechanistic), которые могут иметь патогенетическое значение в развитии заболеваний. К последним относятся аутоантитела, «автограф» экспрессии генов (gene-expression signature), цитокины, клетки иммунной системы и маркеры генетической предрасположенности [51]. Однако в настоящее время, отсутствуют убедительные данные о возможности использования базального уровня цитокинов (или других биомаркеров) в качестве предиктора эффективности терапии ГИБП при РА. На основании исследования широкого спектра биомаркеров нами выделены те из них, которые наиболее тесно связаны с наличием клинического ответа на терапию ГИБП (ИНФ, РТМ и ТЦЗ). Эти данные позволили создать МДИ, позволяющий с доста-

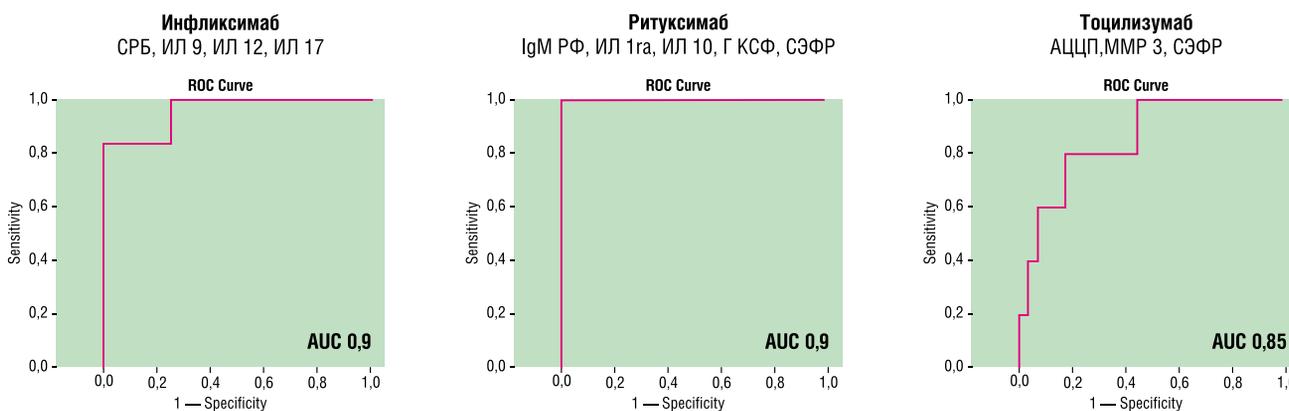


Рис. 2. Клинический ответ у пациентов с ревматоидным артритом на фоне терапии ГИБП.

Примечание. AUC — площадь под кривой (ROC-анализ)..

точной долей вероятности прогнозировать клинический ответ у пациентов с РА на фоне терапии ГИБП, что имеет большое значение для развития персонализированного направления лечения этого заболевания (рис. 2). Кроме того, была проанализирована динамика концентрации аутоантител у пациентов с ранним и развернутым РА на фоне терапии базисными противовоспалительными препаратами и ГИБП. В группе пациентов с ранним РА отмечено достоверное снижение уровня IgM РФ уже через 12 нед лечения МТ, а отрицательная сероконверсия по IgM РФ регистрировалась у 1/3 пациентов. При развернутом РА уровень IgM РФ на фоне применения МТ достоверно не изменялся. При использовании РТМ достоверное снижение уровня IgM РФ было зарегистрировано через 8 нед терапии и сохранялось на протяжении 24 нед. У 20% IgM РФ-положительных больных РА произошла отрицательная сероконверсия, и при повторном исследовании IgM РФ не выявлялся. Концентрация IgA РФ снижалась уже через 2 нед после первой инфузии РТМ. При использовании ТЦЗ достоверное уменьшение концентрации IgM РФ (реже IgA РФ) было зафиксировано очень рано — спустя 2 нед лечения. Только у небольшого числа больных (примерно 10%) произошла сероконверсия в IgM РФ-негативные результаты. Уровень АЦЦП оставался высоким на всем протяжении терапии всеми препаратами. Отрицательная сероконверсия по АЦЦП зарегистрирована только у 7% пациентов, получавших РТМ, и 5% больных, лечившихся ТЦЗ. Напротив, уровень другой разновидности АЦБ — АМЦВ в сыворотке крови — достоверно снижался через 8, 16 и 24 нед от начала применения как РТМ, так и ТЦЗ. При изучении взаимосвязи между титром аутоантител и клинической эффективностью терапии РТМ и ТЦЗ при РА установлено, что среди пациентов, достигших ремиссии ($\text{DAS 28} < 2,6$), имел место более высокий базальный уровень IgM РФ по сравнению с больными, у которых сохранялась активность заболевания ($p < 0,05$). При этом у пациентов с негативными / низкопозитивными значениями IgM РФ, базальным уровнем IgM менее 2,4 г/л, а также длительностью заболевания более 3 лет, ремиссия по DAS 28 достигалась реже, чем в группе больных с высокопозитивными титрами IgM РФ ($p = 0,035$), базальным уровнем IgM более 2,4 г/л ($p = 0,016$), и меньшей длительностью заболевания ($p = 0,001$). Кроме того, среди больных РА, достигших ремиссии (индекс CDAI), отмечен более высокий исходный уровень АМЦВ по сравнению с пациентами, у которых сохранялась активность патологического процесса ($p = 0,02$). Пациенты с

высокопозитивными результатами определения АМЦВ в сыворотке крови с большей вероятностью достигали ремиссии заболевания (индекс CDAI) на фоне терапии ТЦЗ, чем АМЦВ-негативные ($p = 0,03$). Обращает на себя внимание тот факт, что на фоне лечения как РТМ, так и ТЦЗ отмечено снижение концентрации основных классов иммуноглобулинов, что свидетельствует об определенных анти-В-клеточных эффектах не только РТМ, но и ТЦЗ. Это может иметь существенное значение для расшифровки механизмов действия препаратов, ингибирующих активность важного противовоспалительного цитокина — ИЛ 6.

Большой интерес представляют наши данные, касающиеся динамики уровня ММП-3 (стромелизин). Напомним, что ММП представляет собой группу более чем из 20 протеолитических ферментов, ответственных за расщепление белковых компонентов экстрацеллюлярного матрикса, однако именно ММП-3 рассматривается как один из ключевых медиаторов суставной деструкции, вызывает потерю протеогликанов, а также активацию проферментов других ММП. Полагают, что сывороточный уровень ММП-3 может являться полезным маркером активности заболевания и суставной деструкции [52]. По нашим данным [52], исходное содержание ММП-3 в группе пациентов с ранним РА было достоверно выше по сравнению с нормой. Выявлена положительная корреляция базального уровня ММП-3 с показателями активности заболевания (DAS 28, SDAI, CDAI), уровнем острофазовых показателей (СОЭ, СРБ), аутоантител (IgM РФ), провоспалительных цитокинов и факторов роста (ИЛ 6, VEGF). Достоверное снижение содержания ММП-3 отмечено на фоне лечения МТ, РТМ и ТЦЗ. Примечательно, что базальный уровень ММП-3 ассоциировался с клинической эффективностью подкожного МТ при раннем РА. По данным ROC-анализа, исходный уровень ММП-3 более 54,6 нг/мл, а также сохраняющийся повышенный уровень данного показателя через 12 нед лечения МТ (более 25,1 нг/мл) ассоциируется с отсутствием эффекта МТ через 52 нед и необходимостью назначения комбинированной терапии, включающей ГИБП (AUC 0,78; 95% ДИ 0,63–0,93 и AUC 0,96; 95% ДИ 0,54–0,86, соответственно; рис. 3). Определение содержания ММП-3 полезно для прогнозирования сохранения ремиссии / низкой активности болезни на фоне терапии ТЦЗ. По данным ROC-анализа, нормализация уровня ММП-3 у больных РА через 24 нед лечения (cut off $\leq 16,5$ нг/мл) ассоциировалась с сохранением ремиссии / низкой активности болезни (индексы

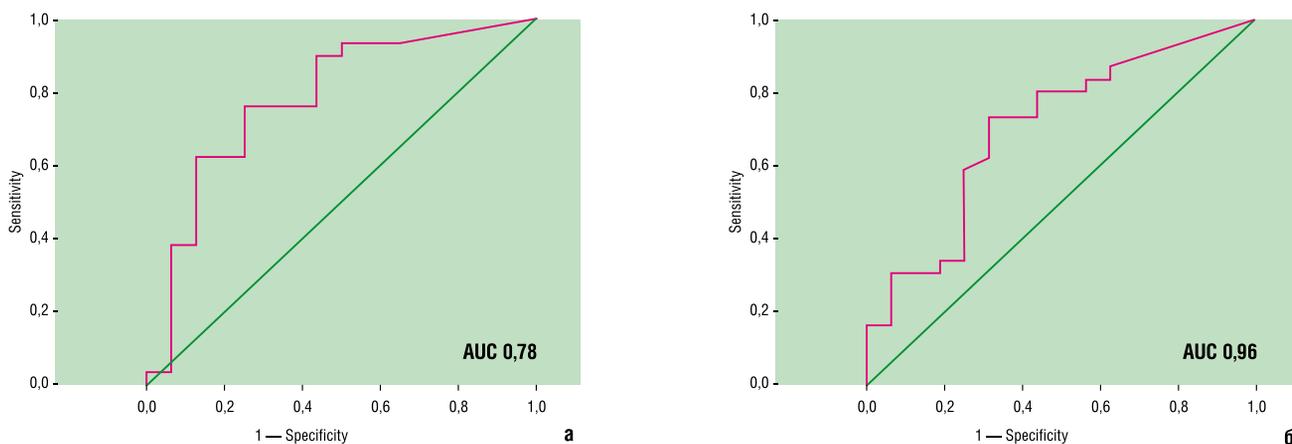


Рис. 3. ROC-кривая, отражающая взаимосвязь содержания ММП-3 исходно (а) и через 12 нед лечения (б), с клинической эффективностью метотрексата для подкожного введения.

Примечание. AUC — площадь под кривой (ROC-анализ).

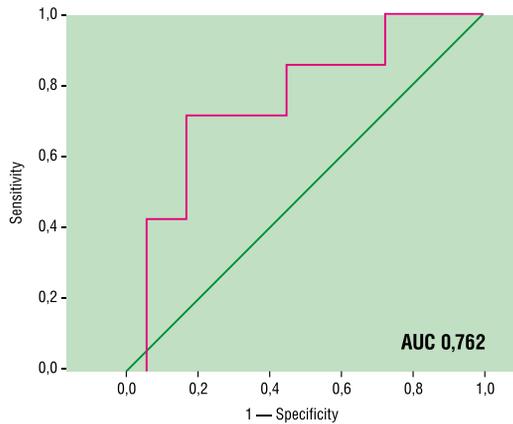


Рис. 4. ROC-кривая, отражающая клиническую информативность определения содержания ММП-3 на 24-й нед лечения тоцилизумабом для прогнозирования сохранения ремиссии/низкой активности болезни по SDAI и CDAI через 24 нед после окончания применения препарата.

Примечание. AUC — площадь под кривой (ROC-анализ).

SDAI и CDAI) через 24 нед после прекращения применения препарата (AUC 0,762; 95% ДИ 0,548–0,976; рис. 4). В других наших исследованиях показано, что среди пациентов с ранним РА на фоне монотерапии подкожным МТ через 12 нед лечения имело место снижение концентрации провоспалительных (ИЛ 6 и 17, ФНО α), противовоспалительных (ИЛ 4, 5, 9, 13) цитокинов, хемокинов (ИП-10) и факторов роста (ФРФ) ($p < 0,05$); к 24-й нед происходило снижение содержания ИЛ 6 и 9, ИП-10, PDGF-bb, а также повышение концентрации ИЛ 10 ($p < 0,05$). Через 12 нед среди «ответчиков» на терапию МТ выявлено достоверное снижение концентрации ИЛ-1РА, ИЛ 2, 4, 6, 7, 9, 13, а также IP-10, ФНО α и VEGF [53]. Таким образом, отсутствие динамики уровня некоторых цитокинов через 12 нед лечения МТ можно рассматривать в качестве возможного предиктора недостаточной эффективности препарата, и оно, вероятно, позволит выделить группу пациентов с тяжелым течением заболевания, нуждающихся в более агрессивной комбинированной терапии с применением ГИБП. Продолжаются исследования, касающиеся ранних предикторов эффективности терапии ГИБП, что имеет существенное значение для разработки подходов к персонализированной терапии РА.

В настоящее время показано, что ГИБП обладают потенциальной иммуногенностью, характеризующейся способностью индуцировать у пациента нежелательный иммунный ответ с образованием антител, направленных против новых чужеродных эпитопов [54]. При лечении АРЗ иммуногенность ГИБП ассоциируется с изменением фармакокинетики и уменьшением сывороточной концентрации данной группы лекарственных средств до субоптимального уровня; снижением клинического ответа на проводимую терапию; развитием тяжелых инфузионных реакций. В ряде случаев перекрестная реактивность антител к ГИБП может вызывать аутоиммунные нарушения. Снижение терапевтической эффективности ГИБП при связывании с антителами опосредуется двумя основными механизмами: нейтрализацией функционально активных участков молекул лекарственного продукта и усилением его клиренса через образование иммунных комплексов, что уменьшает биодоступность препарата. Иммуногенность ГИБП зависит от их структуры, способа применения, а также совокупности клинических факторов, связанных с особенностями заболевания у пациента. Лабораторная оценка иммуногенности ГИБП

включает измерение сывороточной концентрации самих препаратов ГИБП и антител к ним при помощи ИФА и радиоиммуноанализа (РИА). Нами была изучена оптимальная терапевтическая концентрация человеческих моноклональных антител к ФНО α — АДА, ассоциирующаяся с эффективностью терапии этим препаратом при РА. Показано, что ответ на лечение (критерии EULAR) через 12 нед ассоциировался с уровнем АДА в сыровотке крови $\geq 2,85$ мкг/мл (AUC 0,87 с чувствительностью 80% и специфичностью около 100%); уровень АДА $> 4,9$ мкг/мл к 24-й нед ассоциировался с достижением ремиссии/низкой активности болезни по SDAI (AUC 0,66; 95% ДИ 0,4–0,9). Отмечено также, что у пациентов с низким уровнем АДА имела тенденция к более высокой активности заболевания (DAS 28) по сравнению с больными с адекватным уровнем препарата ($p = 0,08$). Через 24 нед терапии в группе больных с низким уровнем АДА отмечены более высокие значения DAS 28, СОЭ и СРБ, чем у пациентов с адекватным уровнем АДА в сыровотке крови ($p < 0,05$). Выявлена отрицательная корреляция между уровнем АДА и DAS 28 ($r = -0,46$; $p = 0,04$), СРБ ($r = -0,54$; $p = 0,02$) и СОЭ ($r = -0,5$; $p = 0,02$). При изучении концентрации античеловеческих антител (АЧА) установлено, что через 24 нед лечения у больных, позитивных по АЧА, наблюдалось отсутствие клинического эффекта (Δ DAS28: $-3,08$ и $0,12$), уровень АДА у пациентов этой группы составил 1,02 и 14,8 мкг/мл. При отсутствии АЧА лечение было неэффективным только у 2 из 18 (11%) больных. Эти данные свидетельствуют о перспективах фармакокинетических исследований ГИБП для прогнозирования их эффективности и в целом совершенствования подходов к персонализированной терапии АРЗ.

По современным представлениям, В лимфоциты принимают участие в развитии и поддержании аутоиммунных нарушений не только в качестве эффекторных клеток, являясь предшественниками аутоантителопродуцирующих плазматических клеток или В клеток памяти, но и как иммунорегуляторные клетки, способные презентировать антигены Т лимфоцитам, индуцировать активацию Т клеток, дифференцировку фолликулярных дендритных клеток, эктопический лимфонеогенез и синтез цитокинов (ФНО α , ИЛ 1, 6, 10, лимфотоксина и др.) [9]. В процессе созревания от клеток-предшественников до секретирующих антитела плазматических клеток В лимфоциты проходят несколько последовательных стадий, каждая из которых фенотипически характеризуется экспрессией на поверхности клеток молекул иммуноглобулинов различных классов и определенным набором мембранных CD-антигенов. Основными поверхностными маркерами, используемыми для современной классификации периферических В клеток человека, являются мембранные антигены CD19, IgD, CD38 и CD27. Нами разработана методика многоцветной проточной цитофлуориметрии с использованием панели моноклональных антител к поверхностным мембранным маркерам В лимфоцитов для определения CD19+ В клеток, общей популяции В клеток памяти (CD19+CD27+), непереклоченных (CD19+IgD+CD27+) и переклоченных (CD19+IgD-CD27+) В клеток памяти, наивных (CD19+IgD+CD27-) и транзитных (CD19+IgD+CD10+CD38++CD27-) В клеток, плазмобластов (CD19+CD38+++ IgD-CD27+CD20-) и долгоживущих плазматических клеток (CD19+CD138+) периферической крови. По нашим данным, у больных РА процентное содержание общей популяции В клеток памяти было ниже, чем у доноров. При СКВ отмечено уменьшение числа наивных В клеток и увеличение по-

Таблица 6. Субпопуляции В лимфоцитов периферической крови у здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой

Показатели	Me (ИР: 25–75), %		
	Доноры (n =27)	РА (n =16)	СКВ (n =9)
CD19+В клетки	9,1 (6,6–11,6)	5,7 (3,1–10,7)	4,9 (3,3–10,3)
В клетки памяти (общая популяция) CD19+CD27+	2,2 (1,6–3,3)	1,6 (1,00 – 2,3)*	1,8 (1,3–2,4)
Непереключенные В клетки памяти CD19+CD27+IgD+	10 (6,4–12,7)	7,4 (3,5–10,4)	6,3 (1,6–10,5)
Переключенные В клетки памяти CD19+CD27+IgD-	17,7 (14,9–27,0)	22,9 (16,4–42,3)	34,2 (21,0–52,7)*
Наивные В клетки CD19+CD27-IgD+	65,8 (55,1–73,4)	58,7 (39,7–68,7)	40,2(19,7–58,2)*
Транзиторные В клетки CD19+CD38+++CD10+ IgD+ CD27-	0,1 (0,1–0,3)	0,1 (0,05–0,2)	0,2 (0,1–0,3)
Плазмобласты CD19+CD38+++ CD27+ IgD- CD20-	7,0 (5,0–9,4)	4,3 (2,9–9,7)	3,0 (2,3–9,4)
Долгоживущие плазмциты CD19+ CD138+++	0,0–0,0	0,0–0,0	0,0–0,0

Примечание. Me — медиана, ИР — интерквартильный размах, РА — ревматоидный артрит, СКВ — системная красная волчанка. * — $p < 0,003$ по сравнению с донорами.

пуляции переключенных В клеток памяти по сравнению с донорами (в обоих случаях $p = 0,003$; табл. 6). Все применяемые в ревматологии ГИБП потенциально могут оказывать влияние на В-клеточный гомеостаз у больных РА, СКВ и другими АРЗ, однако в целом эффективность терапии во многом зависит от степени подавления В клеток памяти и скорости их восстановления/репопуляции в крови [55]. По нашим данным, одним из общих свойств ГИБП разных классов является восстановление В-клеточного гомеостаза: нормализация содержания периферических В клеток памяти, увеличение пула наивных В клеток и уменьшение продукции аутоантител. Так, у больных РА на фоне лечения РТМ отмечается полная деплеция CD19+ клеток, а через 24 нед происходит репопуляция переключенных / непереключенных В клеток памяти и наивных В лимфоцитов; на фоне терапии ТЦЗ обнаружено уменьшение числа транзиторных В клеток (рис. 5). Прогностическое значение динамики субпопуляций В клеток на фоне лечения требует дальнейшего изучения.

Важными факторами, контролирующими рост, выживание и дифференцировку аутореактивных В клеток, являются 2 цитокина, относящиеся к семейству ФНО α : BAFF / BLYS (B-cell activation factor — В-клеточный акти-

вационный фактор/B-lymphocyte stimulator — В-лимфоцитарный стимулятор) и APRIL (a proliferation-inducing ligand — индуцирующий пролиферацию лиганд) [56]. Данные о клиническом значении BAFF / BLYS и APRIL при АРЗ противоречивы. По нашим данным, увеличение сывороточной концентрации факторов активации В клеток BAFF и APRIL имеет место примерно у 20% больных РА. При этом увеличение концентрации APRIL умеренно коррелировало с активностью заболевания ($p = 0,054$). Напротив, при СКВ повышение уровня APRIL четко ассоциировалось с высокой активностью патологического процесса (SLEDAI 2K ≥ 8), концентрацией СРБ ($p < 0,01$), антител к дсДНК ($p < 0,05$), креатинина ($p < 0,05$), абсолютным числом CD19+ В лимфоцитов ($p < 0,05$) в крови. Очевидно, что определение концентрации APRIL может иметь значение для совершенствования подходов к оценке активности СКВ.

Таким образом, прогресс лабораторной диагностики АРЗ обусловлен все более широким внедрением в клиническую практику новых высокопроизводительных методов иммунного анализа с использованием автоматизированных систем и мультиплексных протеомных технологий. Актуальной проблемой лабораторной диагностики САРЗ является стандартизация современных методов выявления аутоантител, в т.ч. создание международных референтных материалов для калибровки и внешней оценки качества иммунологических тестов. Применение комплексных диагностических индексов, основанных на многопараметрическом анализе лабораторных биомаркеров в сыворотке крови, позволяет наиболее полно и объективно оценить сложные молекулярные механизмы патогенеза АРЗ и тем самым радикально улучшить раннюю диагностику, оценку активности и тяжести заболевания, прогнозирование исходов патологического процесса и ответа на проводимое лечение, в рамках концепции персонализированной таргетной терапии этих заболеваний.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

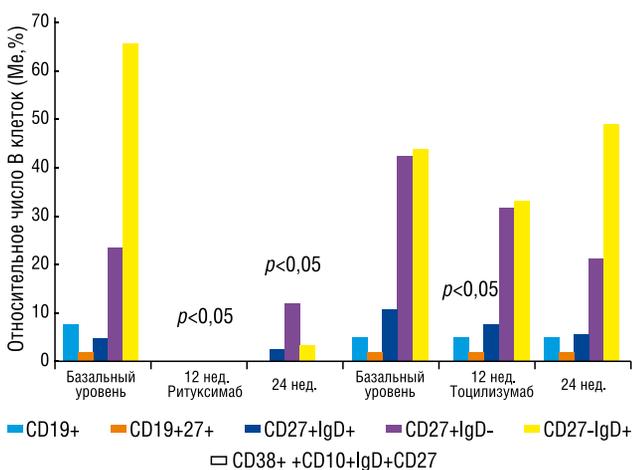


Рис. 5. Субпопуляции В лимфоцитов периферической крови человека на фоне лечения ритуксимабом и и тоцилизумабом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cho J.H., Gregersen P.K. Genomics and the multifactorial nature of human autoimmune disease. *New Engl. J. Med.* 2011; 365: 1612–1623.
2. Wahren-Herlenius M., Dorner T. Immunopathogenetic mechanisms of systemic autoimmune diseases. *Lancet.* 2013; 382: 819–831.
3. McInnes I.B., Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New Engl. J. Med.* 2011; 365: 2205–2219.
4. Lopalco G., Cantini L., Vatale A., Iannone F., Anelli M.G., Andreozzi L., Lapadula G., Galeazzi M., Rigante D. Interleukin-1 as a common denomination from autoinflammatory to autoimmune disorders: premises, perils, and perspectives. *Mediators Inflamm.* 2015; ID 194864.
5. McGonagle D., McDermott M.F. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med.* 2006; 3: 1242–1248.
6. Насонов Е.Л., Насонова В.А. Ревматология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. С. 290–331.
7. Goldblatt F., O'Neill S.G. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet.* 2013; 382: 797–808.
8. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Рубцов Ю.П. Т-регуляторные клетки при ревматических заболеваниях. *Научно-практическая ревматология.* 2014; 52: 430–437.
9. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ИМА-ПРЕСС. 2012. 344 с.
10. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ИМА-Пресс. 2013. 552 с.
11. Murphy G., Lisnevskaja L., Isenberg D. Systemic lupus erythematosus and other autoimmune rheumatic diseases: challenges to treatment. *Lancet.* 2013; 382: 809–818.
12. Chatzidionysiou K., Lie E., Nasonov E., Lukina G., Hetland M.L., Tarp U., Ancuta I., Pavelka K., Nordström D.C., Gabay C., Canhão H., Tomsic M., van Riel P.L., Gomez-Reino J., Kvien T.K., van Vollenhoven R.F. Highest clinical effectiveness of Rituximab in autoantibody-positive patients with rheumatoid arthritis and in those for whom no more than one previous TNF antagonist has failed: pooled data from 10 European registries. *Ann. Rheum. Dis.* 2011; 70: 1575–1580.
13. Chatzidionysiou K., Lie E., Nasonov E., Lukina G., Hetland M.L., Tarp U., van Riel P.L., Nordström D.C., Gomez-Reino J., Pavelka K., Tomsic M., Kvien T.K., van Vollenhoven R.F., Gabay C. Effectiveness of disease-modifying antirheumatic drug co-therapy with methotrexate and leflunomide in Rituximab treated rheumatoid arthritis patients: results of a 1 year follow-up study from the CERERRA collaboration. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71: 374–377.
14. Панасюк Е.Ю., Амирджанова В.Н., Авдеева А.С., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Опыт применения тоцилизумаба у больных ревматоидным артритом (по данным многоцентрового исследования ЛОР-НЕТ). *Научно-практическая ревматология.* 2013; 21 (5): 104–110.
15. Пчелинцева А.О., Панасюк Е.Ю., Рябицева О.Ф., Мазуров В.И., Салихов Ш.Г., Сизиков А.Э., Иванова О.Н., Сороцкая В.Н., Семагина О.В., Виноградова И.Б., Куликов А.И., Денисов Л.Н., Насонов Е.Л. Применение этанерцепта у больных ревматоидным артритом (результаты российского многоцентрового исследования ЭТАЛОН). *Научно-практическая ревматология.* 2013; 51: 639–645.
16. Pavelka K., Szekanecz Z., Damjanov N., Majdan M., Nasonov E., Mazurov V., Fabo T., Bananis E., Jones H., Szumski A., Koenig A.S., Tang B., Kotak S., Vasilescu R. Induction of response with etanercept methotrexate therapy in patients with moderate active rheumatoid arthritis in Central and Eastern Europe in the preserve study. *Clinical Rheumatology.* 2013; 32: 1275–1281.
17. Smolen J.S., Nash P., Durez P., Hall S., Ilivanova E. Maintenance, reduction or withdrawal of Etanercept: a randomized controlled trial in moderate rheumatoid arthritis patients achieving low disease activity with etanercept methotrexate therapy. *Lancet.* 2013; 381 (91): 918–929.
18. Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л., Денисов Л.Н., Мазуров В.И., Арутюнов Г.П., Жугрова Е.С., Иливанова Е.П., Жилиев Е.В., Лыткина К.А., Коршунов Н.И., Станислав М.Л., Успенский Ю.П., Андрианова И.А., Белоусова Л.Н., Мацеевская Г.К., Сайковский Р.С., Ардашев В.Н. Новые возможности терапии ревматоидного артрита: российский опыт применения цертолизумаба пэгол. *Научно-практическая ревматология.* 2011; 2: 104–110.
19. Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л., Лучихина Е.Л., Мазуров В.И., Салихов И.Г., Шмидт Е.И., Шостак Н.А. Эффективность и безопасность лечения адалимумабом больных активным ревматоидным артритом с резистентностью к стандартной терапии: результаты Российского национального исследования. *Терапевтический архив.* 2012; 8: 22–28.
20. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Лукина Г.В. Фармакотерапия ревматоидного артрита в начале 21 века: российский и международный опыт. *Терапевтический архив.* 2013; 8: 20–28.
21. Ананьева Л.П., Соловьев С.К., Бекетова Т.В., Васильев В.И., Антелава О.А., Александрова Е.Н., Конева О.А., Цанян М.Э., Десинова О.Б., Логвиненко О.А., Волков А.В., Хелковская-Сергеева А.Н., Новиков А.А., Алксанкин А.А., Насонов Е.Л. Анти-В-клеточная терапия при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: эффективность и переносимость у 229 больных. *Научно-практическая ревматология.* 2014; 52: 495–507.
22. Genovese M.C., McKay J.G., Nasonov E.L., Mysler E.F., da Silva N.A., Alecock E., Woodworth T., Gomez-Reino J.J. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease modifying antirheumatic drugs. The tocilizumab in combination with traditional disease modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthritis Rheum.* 2008; 58: 2968–2980.
23. Genovese M.C., Covarrubias A., Leon G., Mysler E., Keiserman M., Valente R., Nash P., Simon-Campos J.A., Porawska W., Box J., Legerton C., Nasonov E., Durez P., Aranda R., Pappu R., Delaet I., Teng J., Alten R. Subcutaneous abatacept versus intravenous abatacept. A phase IIIb non inferiority study in patients with inadequate response to methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2011; 63: 2854–2864.
24. Genovese M.C., Pachero Tena C., Covarrubias A., Leon G., Mysler E., Keiserman M., Valente R., Nash P., Simon-Campos J.A., Box J., Legerton C.W., Nasonov E., Durez P., Aranda R., Pappu R., Delaet I., Teng J., Alten R. Subcutaneous abatacept for the treatment of rheumatoid arthritis: longterm Data from the ACQUIRE trial. *J. Rheumatol.* 2014; 41: 629–639.
25. Navarra S.V., Guzman R.M., Gallacher A.E., Hall S., Levy R.A., Jimenez R.E., Li K.M., Thomas M., Kim H.O., Lron M.G., Tanasescu C., Nasonov E.L., Lan J.L., Pineda L., Zhong Z.J., Freimuth W., Petri M.A. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomized, placebo controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2011; 377: 721–731.
26. Smolen J.S., Aletaha D., Bijlma J.W.J., Breedveld F.C., Boumpas D., Burmester G., Combe B., Cutolo M., de Wit M., Dougados M., Emery P., Gibofsky A., Gomez-Reino J.J., Heijde D. For the T2T Expert Committee. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69: 631–637.
27. Smolen J.S., Landewe R., Breedveld F.C., Buch M., Burmester G., Dougados M., Emery P., Gaujoux-Viala C., Gossec L., Nam J., Ramiro S., Winthrop K., de Wit M., Aletaha D., Betteridge N., Bijlma J.W., Boers M., Buttgerit F., Combe B., Cutolo M., Damjanov N., Hazes J.M., Kouloumas M., Kvien T.K., Mariette X., Pavelka K., van Riel P.L., Rubbert-Roth A., Scholte-Voshaar M.,

- Scott D.L., Sokka-Isler T., Wong J.B., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 492–509.
28. Nasonov E.L., Karateev D.E. Does Russia need a treat-to-target initiative? Adopting a global strategy to improve outcome locally. *Rheumatology (Oxford)*. 2015; 54: 381–382.
 29. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Чичасова Н.В. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита — 2013: общая характеристика и дискуссионные проблемы. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 609–622.
 30. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Чичасова Н.В. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита — 2013: место метотрексата. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52 (1): 8–26.
 31. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Муравьев Ю.В., Насонов Е.Л., Смирнов А.В., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Лукина Г.В., Волков А.В., Новиков А.А., Новикова Д.С., Авдеева А.С., Демидова Н.В., Попкова Т.В., Олюнин Ю.А., Гринева Г.И., Лопарева Е.В. Первое Российское стратегическое исследование фармакотерапии ревматоидного артрита (РЕМАРКА). *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 117–125.
 32. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Демидова Н.В., Муравьев Ю.В., Насонов Е.Л., Канонирова М.А., Касумова К.А., Смирнов А.В., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Лукина Г.В., Волков А.В., Новиков А.А., Новикова Д.С., Авдеева А.С., Демидова Н.В., Попкова Т.В., Олюнин Ю.А., Гринева Г.И. Первое российское стратегическое исследование фармакотерапии ревматоидного артрита (РЕМАРКА): результаты лечения 130 больных в течение 12 месяцев. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 607–614.
 33. Насонов Е.Л., Мазуров В.И., Каратеев Д.Е., Лукина Г.В., Жилев Е.В., Амирджанова В.Н., Муравьев Ю.В., Чичасова Н.В. Проект рекомендаций по лечению ревматоидного артрита Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России 2014 (часть 1)». *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 477–494.
 34. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. Современные технологии и перспективы лабораторной диагностики ревматических заболеваний. *Терапевтический архив*. 2010; 5: 5–9.
 35. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний и их применение в реальной клинической практике. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 368–376.
 36. Tozzoli R., Bonaguri C., Melegari A., Antico A., Bassetti D., Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51: 129–138.
 37. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Протеомные исследования в ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2012; 50: 19–24.
 38. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Создание и применение диагностического индекса, основанного на многопараметрическом анализе биомаркеров для определения активности ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52 (1): 72–78.
 39. Satoh M., Tanaka S., Chan E.K.L. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Frontiers Immunol.* 2015; 6: 1–4. Doi:10.3389/fimmu.2015.00181.
 40. Meroni P.L., Biggioggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10: 35–42.
 41. Bizzaro N., Tozzoli R., Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 1736–1744.
 42. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M., Bossuyt X., Musset L., Cervera R., Plaza-Lopez A., Dias C., Sousa M.J., Radice A., Eriksson C., Hultgren O., Viander M., Khamashta M., Regenass S., Andrade L.E., Wiik A., Tincani A., Rönnelid J., Bloch D.B., Fritzler M.J., Chan E.K., Garcia-De La Torre I., Konstantinov K.N., Lahita R., Wilson M., Vainio O., Fabien N., Sinico R.A., Meroni P., Shoenfeld Y. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 17–23.
 43. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69: 1420–1422.
 44. Willitzki A., Hiemann R., Peters V., Guttek K., Goihl A., Hartig R., Conrad K., Bogdanos D.P., Reinhold D., Roggenbuck D. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases. *Clin. Dev. Immunol.* 2012; 2012: 284740. Doi: 10.1155/2012/284740.
 45. Avdeeva A.S., Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Smirnov A.V., Cherkasova M.V., Nasonov E.L. The relationship of antibodies to modified citrullinated vimentin and markers of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheumatol.* 2014; ID464585.
 46. Shi J., van Veelen P.A., Machler M., Janssen G.M., Drijfhout J.W., Huizinga T.W., Toes R.E., Trouw L.A. Carbamylation and antibodies against carbamylated proteins in autoimmunity and other pathologies. *Autoimmune Rev.* 2014; 13: 225–230.
 47. Maksymowych W.P., van der Heijde D., Allaart C.F. 14–3–3 η is a novel mediator associated with the pathogenesis of rheumatoid arthritis and joint damage. *Arthritis Res. & Ther.* 2014; 16: 99.
 48. Centola M., Cavet G., Shen Y., Ramanujan S., Knowlton N., Swan K.A., Turner M., Sutton C., Smith D.R., Haney D.J., Chernoff D., Hesterberg L.K., Carulli J.P., Taylor P.C., Shadick N.A., Weinblatt M.E., Curtis J.R. Development of a multi biomarker disease activity test for rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2013; 8: 60635.
 49. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Герасимов А.Н., Черкасова М.В., Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Насонов Е.Л. Многопараметрический анализ биомаркеров в лабораторной диагностике раннего ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 111–116.
 50. Насонов Е.Л. Ревматоидный артрит: проблемы и значение персонализированной медицины. *Терапевтический архив*. 2012; 5: 5–9.
 51. Robinson W.H., Lindstrom T.M., Cheung R.K., Sokolove J. Mechanistic biomarkers for clinical decision making in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013; 9: 267–276.
 52. Авдеева А.С., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при ревматоидном артрите. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 79–84.
 53. Авдеева А.С., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Насонов Е.Л. Динамика уровней цитокинов на фоне терапии метотрексатом и адалимумабом у пациентов с ранним ревматоидным артритом. (Исследование РЕМАРКА). *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 254–262.
 54. Van Schouwenburg R.A., Rispens T., Wolbink G.J. Immunogenicity of anti-TNF biologics therapy for rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013; 9: 164–172.
 55. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Александркин А.П., Насонов Е.Л. Влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами на субпопуляции В-лимфоцитов. *Научно-практическая ревматология*. 2015; 53: 78–83.
 56. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение BAFF/BLyS и APRIL при системной красной волчанке. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 545–5523.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Насонов Евгений Львович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

Адрес: 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499) 614-44-90, **e-mail:** sokrat@iramn.ru

Александрова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

Адрес: 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499) 614-09-33, **e-mail:** iramnlab@rambler.ru

Новиков Александр Александрович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

Адрес: 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499)-614-09-33, **e-mail:** iramnlab@rambler.ru