

ЛАБОРАТОРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

Е.Н. Александрова, А.А. Новиков, Г.В. Лукина

ГБУЗ "Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы", г. Москва, Россия

Резюме

Развитие инновационных технологий с использованием моно- и мультиплексных методов иммунного анализа способствовало увеличению чувствительности и специфичности лабораторных тестов и существенному расширению спектра лабораторных биомаркеров системной красной волчанки (СКВ). В статье представлены современные аспекты лабораторной диагностики СКВ. Подробно рассматриваются скрининговые и подтверждающие методы исследования антинуклеарных антител (АНА) — основного иммунологического маркера СКВ. Обсуждаются новые классификационные критерии СКВ (EULAR/ACR, 2019), впервые выделяющие «серопозитивность» по антинуклеарному фактору в качестве обязательного «входящего» критерия, позволяющего диагностировать заболевание как СКВ. Дана характеристика клинико-лабораторных субтипов СКВ, ассоциирующихся с выявлением различных аутоантител в сыворотке крови (антител к дсДНК, гистонам, нуклеосомам, антигенам Sm, Ro/SSA и La/SSB, U1 рибонуклеопротеину, рибосомальному белку Р, антифосфолипидных антител, антител к С1q). Указано диагностическое значение дефектов компонентов системы комплемента при СКВ. Описана взаимосвязь профилей АНА и цитокинов у больных СКВ при использовании мультиплексного иммунного анализа данных биомаркеров на основе микрочиповой технологии xMAP. Показано, что образование АНА и высокая активность СКВ ассоциируются с гиперэкспрессией хемокинов IP-10 и MCP-1, индуцируемых IFN. Отмечено клинико-патогенетическое значение субпопуляций В-лимфоцитов и CD4⁺ CD25^{high} FoxP3⁺ регуляторных Т-клеток (Трег) периферической крови при СКВ. Для СКВ характерно увеличение количества двойных негативных В-клеток памяти (CD19⁺ CD27⁻ IgD⁻) и плазмочитов, снижение уровней наивных и переходных В-клеток в крови. Выявлена положительная корреляция количества двойных негативных В-клеток с активностью СКВ и СОЭ. Проанализировано влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ритуксимаба и белимумаба) на субпопуляции В-клеток у больных СКВ. Снижение количества Трег наиболее выражено у пациентов с острым вариантом течения заболевания, высокой активностью патологического процесса, гиперпродукцией IgG и экспансией аутореактивных В-клеток. Исследование современных молекулярно-клеточных биомаркеров позволяет на качественно новом уровне осуществлять диагностику, оценку активности, характера течения, клинико-лабораторных субтипов СКВ, а также прогнозировать эффективность терапии данного заболевания.

Ключевые слова: системная красная волчанка; лабораторные биомаркеры; аутоантитела; антинуклеарные антитела; компоненты системы комплемента; цитокины; субпопуляции В-лимфоцитов; регуляторные Т-клетки; моно- и мультиплексные методы иммунного анализа; генно-инженерные биологические препараты..

DOI: 10.58953/15621790_2023_14_1-2_50

LABORATORY BIOMARKERS FOR SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

E.N. Aleksandrova, A.A. Novikov, G.V. Lukina

State Budgetary Institution of Healthcare of the city of Moscow " Moscow Clinical Scientific and Practical Center named after A. S. Loginov of the Department of Healthcare of the City of Moscow, Russia

Summary

The development of innovative technologies using mono- and multiplex methods of immune analysis contributed to an increase in the sensitivity and specificity of laboratory tests and a significant expansion of the range of laboratory biomarkers of systemic lupus erythematosus (SLE). The article presents modern aspects of laboratory diagnosis of SLE. Screening and confirmatory methods for the study of antinuclear antibodies (ANA), the main immunological marker of SLE, are considered in detail. New classification criteria for SLE are discussed (EULAR/ACR, 2019), which for the first time single out "seropositivity" for the antinuclear factor as a mandatory "incoming" criterion that allows diagnosing the disease as SLE. The characteristics of clinical and laboratory subtypes of SLE associated with the detection of various autoantibodies in serum (antibodies to dsDNA, histones, nucleosomes, Sm, Ro/SSA and La/SSB, U1 ribonucleoprotein, ribosomal protein P, antiphospholipid antibodies, antibodies to C1q) are given. The diagnostic value of defects in the components of the complement system in SLE is indicated. The relationship between ANA and cytokine profiles in SLE

patients using multiplex immunoassay of these biomarkers based on xMAP microarray technology is described. It has been shown that the formation of ANA and high activity of SLE are associated with overexpression of the IP-10 and MCP-1 chemokines induced by IFN. The clinical and pathogenetic significance of subpopulations of B-lymphocytes and CD4⁺ CD25^{high}⁺ FoxP3⁺ regulatory T-cells (Treg) of peripheral blood in SLE was noted. SLE is characterized by an increase in the number of double negative memory B cells (CD19⁺ CD27⁻IgD⁻) and plasma cells, a decrease in the levels of naive and transitional B cells in the blood. A positive correlation was found between the number of double negative B cells and the activity of SLE and ESR. The effect of therapy with genetically engineered biological agents (rituximab and belimumab) on B-cell subpopulations in patients with SLE was analyzed. The decrease in the number of Tregs is most pronounced in patients with an acute variant of the course of the disease, high activity of the pathological process, hyperproduction of IgG and expansion of autoreactive B-cells. The study of modern molecular-cellular biomarkers allows diagnosing, assessing activity, the nature of the course, clinical and laboratory subtypes of SLE, and predicting the effectiveness of therapy for this disease at a qualitatively new level.

Keywords: systemic lupus erythematosus; laboratory biomarkers; autoantibodies; antinuclear antibodies; components of the complement system; cytokines; subpopulations of B-lymphocytes; regulatory T cells; mono- and multiplex methods of immune analysis; genetically engineered biological preparations.

Системная красная волчанка (СКВ) — системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся гиперпродукцией органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра с развитием иммуновоспалительного повреждения тканей и внутренних органов [9]. Заболеваемость СКВ колеблется от 4 до 250 случаев на 100 000 населения. Пик заболеваемости приходится на 15-25 лет. Женщины страдают в 8-10 раз чаще мужчин. Смертность при СКВ в 3 раза выше, чем в популяции. СКВ отличается выраженной гетерогенностью групп пациентов, многообразием клинических проявлений и вариантов течения заболевания, а также наличием множества иммунологических субтипов, что затрудняет раннюю диагностику и персонализированную терапию данной патологии.

Клинико-иммунологическая гетерогенность СКВ обусловлена сложным многофакторным патогенезом заболевания. В основе патогенеза СКВ лежат генетически детерминированные и индуцированные факторами внешней среды многообразные нарушения врожденного и адаптивного (приобретенного) иммунитета [15,30,39,44,47, 49,52]. Дисрегуляция механизмов врожденного иммунитета при СКВ включает:

- персистирующую активацию плазмоцитоидных дендритных клеток в результате взаимодействия мембранных Toll-подобных рецепторов (TLR) и Fcγ-рецепторов (FcγRIIa) с ядерными антигенами, образующимися в процессе некроза, апоптоза и некроза клеток, а также с комплексами из собственных нуклеиновых кислот и других антигенов с аутоантителами или нейтрофильными пептидами, что приводит к гиперпродукции интерферона-альфа (IFN-γ);
- способность IFN-γ индуцировать активацию моноцитов/макрофагов, миелоидных дендритных

клеток, нейтрофилов и естественных клеток-киллеров, стимулировать выработку цитокинов, усиливать выживаемость В-клеток и образование аутоантител (прямо или через повышение продукции В-клеточного активационного фактора BAFF/BLyS);

- дефекты фагоцитоза и клиренса иммунных комплексов и апоптотических клеток.

К нарушениям адаптивного иммунитета при СКВ относят:

- aberrantное распознавание и представление модифицированных аутоантигенов;
- потерю иммунологической толерантности к собственным антигенам;
- формирование аутоиммунитета с уменьшением супрессорной функции регуляторных Т-клеток и возрастанием патогенного потенциала эффекторных Т-хелперных клеток (Th1, Th17), вызывающих активацию В-клеток, созревание плазматических клеток, продукцию аутоантител и цитокинов (фактора некроза опухоли – TNF-γ, интерлейкинов – IL-6, 17, 21, 22, 23). Развитие патологического процесса при СКВ сопровождается образованием широкого спектра молекулярных и клеточных биомаркеров, включая аутоантитела, маркеры воспаления, цитокины и их рецепторы, иммуноглобулины, иммунные комплексы, компоненты комплемента, показатели повреждения сосудистого эндотелия, абзимы, TLR, FcγR, субпопуляции лейкоцитов, генетические, эпигенетические и транскриптомные маркеры (Табл. 1) [15,30,39,44,47,49,52].

Основными лабораторными биомаркерами СКВ являются циркулирующие органонеспецифические аутоантитела, в том числе антинуклеарные антитела (АНА), антифосфолипидные антитела (АФЛ), антитела

Таблица 1.

Молекулярные и клеточные биомаркеры СКВ

Аутоантитела	Антинуклеарные антитела (АНА) – антитела к двуспиральной (дс) ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам (Sm, SS-A/Ro, SS-B/La, U1RNP, RibP), PCNA; антифосфолипидные антитела (АФЛ) – IgG/IgM антитела к кадиолипину (аКЛ), IgG/IgM антитела к β2-гликопротеину I – (αβ2-ГПИ), волчаночный антикоагулянт (ВА); антитела к C1q; антитела к антигенам цитоплазмы нейтрофилов компонентам нейтрофильных внеклеточных ловушек – NETs (нейтрофильной эластазе, миелопероксидазе, лактоферрину, антимикробному пептиду LL37); др. аутоантитела
Маркеры воспаления	СОЭ, С-реактивный белок (СРБ), прокальцитонин, ферритин и др.
Цитокины и их рецепторы, хемокины, факторы роста	IFN-α, BAFF/BLyS, TNF-α, рTNFP, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IL-21, IFN-γ, IP-10 (CXCL10), MCP-1 (CCL2), MIP-3B (CCL19), CD40L
Иммуноглобулины Криоглобулины Иммунные комплексы	IgG, IgG4, IgM, IgA, IgE, IgD
Компоненты комплемента	C1q, C3, C4, C1-ингибитор, C5b-9, C3b, C4d
Маркеры повреждения сосудистого эндотелия	Растворимая (р) сосудистая молекула адгезии (VCAM-1), рР-селектин, рЕ-селектин, фактор Виллебранда, NO, тромбомодулин, матриксная металлопротеиназа-9
Абзимы (каталитические антитела)	ДНК-аза I
TLR	TLR7, TLR8, TLR9
FcγR	FcγRIIA
Субпопуляции лейкоцитов	Т-лимфоциты: CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , HLA DR ⁺ , CD4 ⁺ CD25 ⁺ , двойные негативные Т-клетки (CD4 ⁻ CD8 ⁻), CD28null, Т-регуляторные клетки (CD4 ⁺ CD25 ^{high} FoxP3 ⁺ CD127 ⁻) В-лимфоциты: CD19 ⁺ В-клетки, В-клетки памяти (CD19 ⁺ CD27 ⁺), непереключенные (CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁺)/ переключенные (CD19 ⁺ IgD ⁻ CD27 ⁺)/двойные негативные (CD19 ⁺ IgD ⁻ CD27 ⁻) В-клетки памяти, наивные (CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻), переходные (CD19 ⁺ IgD ⁺ CD10 ⁺ CD38 ⁺⁺ CD27 ⁻) В-клетки, плазмобласты (CD19 ⁺ CD38 ⁺⁺⁺ IgD ⁻ CD27 ⁻ CD20 ⁻), короткоживущие плазмоциты (CD19 ⁺ CD38 ⁺ CD27 ⁺), долгоживущие плазмоциты (CD19 ⁺ CD138 ⁺), активированные В-клетки (CD20 ⁺ CD69 ⁺), регуляторные В-клетки (CD24 ^{high} CD27 ⁺) NK-клетки (CD56 ⁺) Нейтрофилы низкой плотности (продуценты NETs) Дендритные клетки (миелоидные и плазмоцитоподобные)
Генетические маркеры: HLA класса II	DR3 (DRB1*03:01-DRB1*02:01); DR2 (DRB1*15:01-DRB1*06:02); DR8 (DRB1*08:01, DRB1*04:02); DR6(DRB1*13:02 и 14:03)
HLA класса III	TNF, C2, C4, SCIVaL, CFB, RDBP, DOM3Z, STK19C4A, C4B и др.
Эпигенетические маркеры	Гипометилирование ДНК (HLA, INS, IL-2RB, CD226); Ацетилирование (увеличение H3k9me2 в генах TGF-b, NF-kB, IL-6, HLA, CTLA4) МикроРНК: miR-146a, mir-125a, miR-155, miR-148a, miR-23b, miR-17[sim]92, miR-150, miR-375, miR-25, miR-326, miR-342, miR-19, miR-510, miR-21
Транскриптомные маркеры	Экспрессия генов, индуцированных IFN типа I («IFNsignature»)

к С1q компоненту комплемента, антитела против эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов и др. [2,5,40,48]. Среди них ведущую роль в диагностике СКВ играют АНА – гетерогенная группа аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы (антитела к ДНК, гистонам, нуклеосомам, антигенам Sm, Ro/SSA и La/SSB, U1 рибонуклеопротеину – РНП, рибосомальному белку Р – RibP) [2,5,12,26,27,43]. АНА прямо или через формирование иммунных комплексов с ядерными антигенами, вызывают персистирующую стимуляцию мембранных рецепторов (TLR7 и TLR9; FcγRIIa) плазмоцитоподобных дендритных клеток, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, Т- и В-лимфоцитов, усиливают продукцию IFN-α, BAFF/BLyS и других провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1β, IL-12, IL-21, IL-22, IL-23, IL-17, IL-18, TNF-α), активируют систему комплемента, а также механизмы комплемент-зависимой и антителозависимой клеточной цитотоксичности, что приводит к воспалению и деструкции тканей организма [30,39,49,53]. Более правильное название АНА – антиклеточные антитела (“anti-cell”, AC) (используется в новой номенклатуре типов иммунофлуоресценции, разработанной международным консенсусом по паттернам АНА – “ICAP”) [12,22]. Рекомендуется двухэтапная стратегия определения АНА в сыворотке крови: на первом этапе осуществляется скрининг АНА в непрямой реакции иммунофлуоресценции (НРИФ) с использованием в качестве субстрата HEp-2 клеток (эпителиальных клеток рака гортани) (НРИФ-HEp-2) (при тестировании данным методом АНА традиционно обозначают как антинуклеарный фактор – АНФ); на втором этапе пациентам с положительными результатами НРИФ-HEp-2 проводятся подтверждающие тесты для выявления специфических антител к отдельным ядерным антигенам (двуспиральной – дс-ДНК, экстрагируемым ядерным антигенам – ЭЯА) с помощью твердофазных биоаналитических технологий – иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблота (ИБ), флуоресцентного, хемилуминисцентного, мультиплексного иммунного анализа (ФИА, ХЛИА, МИА) [3,12,22]. В то же время некоторые типы АНА при СКВ (антитела к комплексу Гольджи) обнаруживаются только методом НРИФ на HEp-2 клетках, что исключает необходимость их дальнейшего исследования с помощью подтверждающих тестов. С другой стороны, такие разновидности АНА как антитела к SS-A/Ro и Rib P, могут не выявляться методом НРИФ-HEp-2. При отрицательных результатах определения антител к SS-A/Ro и RibP в НРИФ-HEp-2, но высокой вероятности наличия у больного СКВ, следует использовать альтернативные методы идентификации данных аутоантител (ИФА, ИБ, ХЛИА

и др.). Выбор спектра подтверждающих исследований АНА зависит от типа ядерного/цитоплазматического свечения в НРИФ-HEp-2 и совокупности клинических факторов [3,12,22,45]. Типы свечения внутриклеточных структур при определении АНА в сыворотках крови больных СКВ методом НРИФ-HEp-2 и рекомендуемые подтверждающие тесты представлены в таблице 2. При СКВ наиболее частыми ядерными паттернами АНФ являются гомогенный (АС-1) (ассоциируется с антителами к дсДНК, нуклеосомам, гистонам), крупнокрапчатый (АС-5) (ассоциируется с антителами к Sm, U1РНП) и мелкокрапчатый (АС-4) (связан с антителами к Ro/La) типы свечения. Среди цитоплазматических паттернов чаще встречается плотное мелкокрапчатое свечение (АС-19), ассоциирующееся с антителами к Rib P. К более редким типам ядерного свечения при СКВ относятся ядерное мембранное гладкое (АС-11) (антитела к ламининам), единичные точки в ядре (АС-7) (антитела к p80-colin, SMN) и ядерному антигену пролиферирующих клеток – «proliferating cell nuclear antigen» (PCNA) (АС-13). Редкие типы цитоплазматического свечения включают дискретные точки (АС-18) (антитела к лизосомам, эндосомам, везикулам) и комплекс Гольджи (АС-22) (антитела к белкам-гольджинам).

В практике клинко-диагностических лабораторий широкое распространение получили скрининговые методы определения АНА на основе ИФА, ИБ, ФИА, ХЛИА и МИА. Эти методы твердофазного анализа не могут полностью заменить первичный скрининг АНА с помощью НРИФ-HEp-2, так как идентифицируют антитела к ограниченному количеству антигенов с измененными, либо утраченными эпитопами, что приводит к увеличению числа ложноотрицательных результатов до 35%. Среди больных СКВ диагностическая чувствительность ИФА (75,2%), ФИА (74,0%), ХЛИА (80,6%) и суспензионных мультиплексных технологий (74,0%) при скрининговом выявлении АНА ниже таковой у НРИФ-HEp-2 (90,7%) [3]. Международными рекомендациями допускается применение твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, ХЛИА, ФИА, ИБ, МИА) для скрининга АНА при условии обязательного проведения их повторного исследования с помощью НРИФ-HEp-2 в случае расхождении результатов измерения АНА с клиническими данными [12]. Новой эффективной диагностической стратегией является комбинация НРИФ-HEp-2 с одним из двух высокочувствительных скрининговых методов твердофазного иммунного анализа АНА – ФИА (EliA CTD Screen, Thermo Fisher, Германия) или ХЛИА (QUANTA Flash CTD Screen Plus, Inova Diagnostics, Испания) [19].

Таблица 2.

Типы свечения внутриклеточных структур при определении АНА в сыворотках крови больных СКВ методом НРИФ-HEp-2 и рекомендуемые подтверждающие тесты [3,12,22,45]

Тип свечения	Аутоантигены	Подтверждающие тесты
Частые типы свечения		
<i>Ядерное свечение</i>		
Гомогенное (АС-1)	дсДНК, гистоны, хроматин/нуклеосомы, HMG (highmobilitygroup)	Исследование антител к дсДНК, ЭЯА (Sm, U1PHП, Ro/SSA, La/SSB), гистонам, нуклеосомам
Крупнокрапчатое (АС-5)	Sm, U1 – рибонуклеопротеин (РНП), ядерный матрикс	Исследование антител к ЭЯА, дсДНК
Мелкокрапчатое (АС-4)	SS-A/Ro, SS-B/La, многие ядерные антигены	Исследование антител к ЭЯА, дсДНК
<i>Цитоплазматическое свечение</i>		
Плотное мелко-крапчатое свечение (АС-19)	Рибосомальный белок Р (RibP)	Исследование антител к ЭЯА, включая RibP
Редкие типы свечения		
<i>Ядерное свечение</i>		
Единичные точки (АС-7)	p80-colin, SMN	Отсутствуют
Ядерное мембранное гладкое (АС-11)	Ламинины (А, В, С), комплексные антигены ядерной оболочки	Отсутствуют
PCNA (АС-13)	Вспомогательный белок ядерного антигена клеточной пролиферации: фактор элонгации ДНК-полимеразы дельта	Исследование антител к PCNA
<i>Цитоплазматическое свечение</i>		
Дискретные точки (АС-18)	Эндосома (ранний эндосомальный антиген -1), глицин-триптофан (GW)/процессирующие тельца, мультивезикулярные тельца/лизосомы	Отсутствуют
Комплекс Гольджи (АС-22)	Белки Гольджи/гольджины: гиантин, гольджин 245, гольджин 110, гольджин 97, гольджин 95 и др.	Отсутствуют

В настоящее время разработан стандартный профиль иммунологических маркеров для диагностики, оценки прогноза и мониторинга активности СКВ, включающий исследование аутоантител (АНА, АФЛ, антител к С1q) и С3, С4 – компонентов комплемента [2,5,18,21,24]:

- Совокупность АНА скрининговым методом
- Антитела к дсДНК
- Антитела к Sm
- Антитела к Ro/SSA
- Антитела к La/SSB
- Антитела к РНП
- АФЛ
- Антитела к С1q
- С3/С4

Следует особо подчеркнуть, что LE-клетки и антитела к односпиральной ДНК, исследование которых до сих пор нередко назначается врачами общей практики, имеют низкую чувствительность и специфичность для диагностики СКВ, так как с высокой частотой встречаются при других ревматических заболеваниях, инфекциях, злокачественных новообразованиях и различных патологических состояниях.

Новые международные классификационные критерии (EULAR/ACR, 2019), используемые для диагностики СКВ, отличаются от предыдущих (ACR, 1997 и SLICC, 2012) оценкой критериев в баллах и выделением «серопозитивности» по АНФ в качестве основного, «входящего» критерия, позволяющего классифицировать СКВ как системное аутоиммунное заболевание [14].

Подчеркивается, что отрицательные результаты исследования АНФ «исключают» диагноз СКВ. Обязательным критерием включения является хотя бы однократный положительный результат скринингового определения совокупности АНА в сыворотке крови методом НРИФ на HEp-2 клетках в титре $\geq 1:80$ или методом твердофазного иммунного анализа (ИФА, ФИА, ХЛИА, МИА) с эквивалентной по отношению к НРИФ-HEp-2 диагностической чувствительностью. При обнаружении АНФ используются дополнительные критерии, которые подразделяются на 7 клинических (конституциональный, кожно-слизистый, суставной, психоневрологический, серозный, гематологический, почечный) и 3 иммунологических домена. В критерии гематологического домена входят лейкопения (3 балла), тромбоцитопения (4 балла) и аутоиммунный гемолиз, ассоциирующийся с гемолитической анемией (положительная прямая проба Кумбса) (4 балла). Почечные лабораторные критерии включают протеинурию $> 0,5$ г за 24 часа (4 балла). К иммунологическим доменам относят:

- Обнаружение антифосфолипидных антител – IgA, IgG или IgM антител к кардиолипину (АКЛ) (в средних и высоких титрах >40 APL/GPL/MPL либо >99 перцентиля) (2 балла)

ИЛИ

– IgA, IgG или IgM антител к $\beta 2$ -гликопротеину I ($\alpha 2$ ГПИ) (2 балла)

ИЛИ

- волчаночного антикоагулянта (ВА) (2 балла)
- Гипокомплементемия
- низкие уровни С3 или С4 (3 балла)
- низкие уровни С3 и С4 (4 балла)
- Обнаружение антител, высокоспецифичных для СКВ:
- антител к двуспиральной-дс-ДНК (6 баллов)

(в иммунологических тестах со специфичностью $\geq 90\%$)

ИЛИ

– антител к Sm антигену (6 баллов)

Согласно новым классификационным критериям СКВ 2019 года:

- Каждому критерию в зависимости от его удельного веса присваивается от 2 до 10 баллов
- Достаточно хотя бы однократного обнаружения критериев
- Достаточно хотя бы одного клинического критерия
- Критерии не обязательно должны присутствовать одновременно
- В рамках каждого домена учитывается критерий с наибольшим количеством баллов
- Для постановки диагноза СКВ необходимо набрать ≥ 10 баллов из предлагаемых критериев

Обнаружение аутоантител в сыворотках/плазме больных СКВ ассоциируется с определенными клиническими проявлениями (субтипами) заболевания (Табл. 3) [2,5,6,18,21,24]. Как следует из таблицы, положительные результаты скринингового определения совокупности АНА входят в число диагностических критериев СКВ, выявляются у 100% больных с люпус-нефритом; наличие антител к дсДНК является диагностическим критерием СКВ, коррелирует с активностью патологического процесса, развитием люпус-нефрита и нейропсихических проявлений; антитела к гистонам в большей степени ассоциируются с лекарственной волчанкой; выявление антител к нуклесомам коррелирует с активностью СКВ, развитием волчаночного нефрита и лекарственной волчанки; антитела к Sm – высокоспецифичный диагностический критерий СКВ, не связанный с особым клиническим субтипом заболевания; обнаружение антител к U1RNP – предиктор

Таблица 3.

Клиническое значение аутоантител при СКВ [2, 5, 6, 18, 21, 24]

Антитела	Метод определения	Диагностическое и прогностическое значение*	Ассоциация с субтипами СКВ (частота обнаружения)
Антинуклеарные антитела (АНА)	НРИФ-HEp-2 ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 93-98%, ДС: 49-78% Диагностический критерий СКВ	Волчаночный нефрит (100%) Лекарственная волчанка (50-100%) Дискоидная волчанка (35%)
Антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК)	ИФА НРИФ на Crithidialuciliae РИА (тест Farr) ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 57%, ДС: 97% Диагностический критерий СКВ Связь с активностью заболевания	Волчаночный нефрит (65-70%) Нейропсихические проявления (4-81%)

Антитела к гистонам	ИФА ИБ МИА	ДЧ: 50-80%, ДС: 86%	Лекарственная волчанка (50-100%) Волчаночный нефрит (37%)
Антитела к нуклеосомам	ИФА ИБ МИА	ДЧ: 46-81%, ДС: 95-100% Связь с активностью заболевания	Волчаночный нефрит (60-90%) Лекарственная волчанка (77%)
Антитела к Sm	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 10-30%, ДС: 90-99% Диагностический критерий СКВ	-
Антитела к U1RNP	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 20-30% ДС: низкая Предиктор неблагоприятного течения СКВ с развитием синдрома Рейно и тяжелого поражения внутренних органов	СЗСТ/перекрестный синдром (100%)
Антитела к SSA/Ro (60/52 kDa)	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 22-50% ДС: 99% Предиктор развития неонатальной волчанки Предиктор врожденной полной поперечной блокады сердца (SSA/Ro-52 kDa)	красная волчанка (70-80%) Неонатальная волчанка и полная поперечная блокада сердца (90%) Гематологические нарушения Волчаночный нефрит (31%)
Антитела к SSB/La	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 10-20% ДС: 99% Предиктор развития неонатальной волчанки новорожденных и врожденной полной поперечной блокады сердца	Низкая частота развития волчаночного нефрита (14%) Неонатальная волчанка, полная поперечная блокада сердца (90%) Подострая кожная красная волчанка (30%)
Антитела к RibP	ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 13-40% ДС: высокая	Нейропсихические проявления (психозы, депрессия) (21%)
АКЛ, аβ2-ГП3, ВА	ИФА Фосфолипид-зависимые коагуляционные тесты	ДЧ: 54%, ДС: 86% Диагностический критерий СКВ Фактор риска тромбозов и акушерской патологии Связь с активностью заболевания	Тромбозы, акушерская патология (25-60%)
Антитела к С1q	ИФА	ДЧ: 17-46% Связь с активностью заболевания Предиктор неблагоприятного прогноза с развитием волчаночного нефрита	Волчаночный нефрит (40-100%)
Антитела к PCNA	НРИФ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ: 5-10% ДС: 95%	Артрит, гипокомплементемия
Антитела к Ku	ИБ ХЛИА МИА	ДЧ: 5-20%	СКВ/ ПМ/ССД перекрестный синдром Миозит, артрит

Примечание.

РИА – радиоиммунный анализ, ДИД – двойная иммунодиффузия,
КИЭФ – контриммуноэлектрофорез, ДЧ – диагностическая чувствительность,
ДС – диагностическая специфичность

неблагоприятного течения СКВ, сопровождающегося синдромом Рейно, тяжелым поражением внутренних органов, перекрестным синдромом; антитела к SSA/Ro (60/52 kDa) ассоциируются с фотосенсибилизацией, подострой кожной красной волчанкой, неонатальной волчанкой и полной поперечной блокадой сердца у плода, гематологическими нарушениями, волчаночным нефритом; антитела к SSB/La имеют сходное клиническое значение с антителами к SSA/Ro, однако реже выявляются при подострой кожной волчанке и волчаночном нефрите; антитела к рибосомальному белку Р – высокоспецифичный маркер нейropsychических проявлений СКВ; АФЛ (АКЛ, α 2-ГП1, ВА) служат диагностическим критерием и показателем клинико-лабораторной активности СКВ, маркером антифосфолипидного синдрома (АФС); антитела к С1q коррелируют с активностью заболевания и поражением почек; антитела к PCNA встречаются при артритах и гипокплементемии; антитела к Ku идентифицируют у пациентов с перекрестным синдромом, миозитом, артритом.

Важную роль в патогенезе СКВ играет генетический дефицит компонентов, отвечающих за ранние этапы классического пути активации системы комплемента. Так, дефицит С1q может подавлять эффективный фагоцитоз иммунных комплексов, состоящих из ядерных антигенов, образующихся в процессе апоптоза, некроза и нетоза, и антител к ним, препятствуя тем самым их выведению из организма. С другой стороны, при СКВ под действием аутоантител, иммунных комплексов и других белков сыворотки крови происходит активация классического и альтернативного путей активации комплемента с расщеплением С4, С2 и С3 и образованием продуктов их активации, вызывающих лизис клеток, усиливающих проницаемость сосудов, фагоцитоз и местное воспаление [23]. Клиническое значение системы комплемента при СКВ определяется следующими факторами:

- уменьшение концентрации С3 и С4 в сыворотке крови входит в число диагностических критериев СКВ;
- персистирующее снижение уровней СН50, С3 и С4 в сыворотке крови ассоциируется с:
 - а. увеличением активности патологического процесса, обострением заболевания;
 - б. развитием волчаночного нефрита (С3);
- врожденный дефицит компонентов комплемента (С1q, С2, С4) предрасполагает к развитию СКВ;
- повышение уровней продуктов активации комплемента в сыворотке крови (С3d, С3а, С4а, С5а, iС3, С4d, Bb, С5b-9) отмечается при высокой активности заболевания.

К патогенетически значимым цитокинам при СКВ относят BlyS, IFN- α , IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, TNF- α , IFN- γ -индуцибельный белок (IP-10), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), которые усиливают продукцию аутоантител, поддерживают воспалительный процесс и могут быть использованы в качестве мишеней для терапии генно-инженерными биологическими препаратами [30,39,44,51,52]. Увеличение в сыворотке крови концентрации хемокинов CXCL10 (IP-10), CCL2 (моноцитарного хемоаттрактного белка-1 – MCP-1) и CCL19 (макрофагального белка воспаления-3В – MIP-3В), регулируемых IFN, тесно коррелирует с активностью волчаночного нефрита и обострением заболевания [17]. К потенциальным биомаркерам активности СКВ относят также BlyS [37], другие цитокины (TNF- α , антагонист рецептора IL-1 – IL-1ra, IFN- α , IL-6, IL-10, IL-18, CD40L) [20,25,30]. У больных активной формой СКВ или неполным волчаночным синдромом с риском прогрессирования заболевания регистрируется высокий уровень экспрессии генов, индуцируемых IFN I типа (type I IFN gen signature), который коррелирует с увеличением концентрации IgG антител к дсДНК, нуклеосомам, U1 РНП, SS-A/Ro, SS-B/La, в то время как низкий уровень экспрессии данных генов сопровождается продукцией менее патогенных АНА класса IgM [29]. Обнаружение за три с половиной года и более до клинической манифестации СКВ профиля биомаркеров, включающего АНА (антитела к дсДНК, нуклеосомам, SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, Sm/РНП, РНП), цитокины (IL-5, IL-6) и монокин из семейства СХС хемокинов, индуцированный IFN- γ (MIG), прогнозирует развитие данного заболевания с точностью 92% [31].

Перспективным направлением диагностики СКВ является МИА лабораторных биомаркеров с использованием микрочипов [33,35,42,46]. Применение мультиплексных технологий, обладающих более высокой аналитической чувствительностью по сравнению с классическим моноплексным методом ИФА и возможностью одновременного определения большого количества показателей в сыворотке крови, позволяет идентифицировать профили аутоантител, цитокинов и других иммунологических маркеров, ассоциированные с различными субфенотипами СКВ, расширить представления о патогенетическом и предиктивном значении исследуемых биомаркеров [35,38,42,50,53].

У 94 больных СКВ и 28 здоровых доноров нами проведено одновременное определение профилей АНА к 7 ядерным антигенам (антител к дсДНК, Sm, SS-A/Ro, SS-B/La антигенам, нуклеосомам, RibP и РНП-70) и 27 цитокинов в сыворотке крови методом МИА на биочипах с использованием полистироловых

микросфер (технология xMAP) (BioPlex® 2200 ANA Screen и Bio-Plex® 200 Human Grp I Cytokine 27-plex panel; Laboratories Inc. Hercules, CA, США) [4]. Среди пациентов с СКВ наиболее часто выявлялись антитела к дсДНК (52,1%), нуклеосомам (54,3%) и SS-A/Ro (37,2%), реже антитела к Sm (28,7%), RibP (14,9%), РНП-70 (13,8%) и SS-B/La (11,7%). При МИА антитела к дсДНК, Sm и RibP демонстрируют высокую ДС (95-99%) и отношение правдоподобия положительных результатов исследования (ОППР) (9,67-15,0), т.е. являются наиболее «полезными» диагностическими тестами, а антитела к РНП-70, SS-A/Ro и нуклеосомам относятся к категории «полезных» тестов для диагностики СКВ (ДС: 84-95%, ОППР>2,0). Определение профилей из 3 и более антиген-специфических АНА с помощью МИА повышает ДС метода до 98-100%, а ОППР – до максимальных значений. Профили из 7 субпопуляций АНА (антител к дсДНК, Sm, RibP, SS-A/Ro, SS-B/La, нуклеосомам и РНП-70; 57,9%, 71,9%, 82,5%, 61,4%, 84,2%, 50,9%, 84,2%) обнаружены при хроническом варианте течения СКВ. При остром течении заболевания одновременно выявляется 4 субпопуляции АНА (антитела к дсДНК, Sm, SS-A/Ro и нуклеосомам; 77,3%, 45,5%, 40,9% и 72,7%); при подостром течении – 2 субпопуляции АНА (антитела к дсДНК и нуклеосомам; 53,3% и 46,7%). Активность заболевания (SLEDAI-2K) положительно коррелирует с концентрацией антител к дсДНК ($r = 0,6$), нуклеосомам ($r = 0,7$), Sm ($r = 0,4$) и RibP ($r = 0,3$) в крови ($p < 0,05$). Поражение кожи и слизистых оболочек, почек, ЦНС наиболее часто ассоциируется с обнаружением антител к дсДНК (53,2-64%), нуклеосомам (55,3-66%), SS-A/Ro (38-40,4%) и Sm (27,8-36,2%). В сыворотках крови больных СКВ идентифицировано повышение уровней IL-4, -6, -8, -12, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 β , RANTES и снижение содержания IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-9, IL-10, эотаксина, G-CSF, IFN- γ , MIP-1 α , TNF- α , FGF, PDGF-BB, VEGF по сравнению с донорами ($p < 0,05$). Увеличение концентрации IP-10 и MCP-1 ассоциировалось с высокой активностью заболевания ($r = 0,4$; $r = 0,3$; $p < 0,05$), гиперпродукцией антител к дсДНК ($r = 0,3$), нуклеосомам ($r = 0,5$), Sm ($r = 0,5$), SS-B/La ($r = 0,3$), RibP ($r = 0,4$) ($p < 0,05$) и антител к Sm ($r = 0,3$), SS-B/La ($r = 0,3$), RibP ($r = 0,3$) ($p < 0,05$) соответственно. Таким образом, образование АНА и высокая активность СКВ ассоциируются с гиперэкспрессией хемокинов IP-10 и MCP-1, индуцируемых IFN. Сходные результаты при одновременном определении профилей АНА и цитокинов у больных СКВ с использованием мультиплексных технологий получены другими авторами [36,41]. Y. Pacheco и соавт. [36] выявили повышенные средние уровни

IFN- α , IL-6, -8, -10, -12/23p40, -17A, TNF α , G-CSF и нормальные концентрации IL-1 β , -2, -4, -5, -9, -13, IFN- α в сыворотках крови у 67 больных СКВ. В работе были проанализированы три кластера аутоантител:

1 – нейтральный с преобладанием АНА и низкой частотой обнаружения других аутоантител;

2 – с преобладанием антифосфолипидных антител;

3 – с преобладанием антител к дсДНК и экстрагируемыми ядерным антигенам) и четыре кластера цитокинов:

1 – нейтральный с низкими уровнями цитокинов;

2 – хемокиновый с доминированием IL-8;

3 – с доминированием G-CSF;

4 – провоспалительный с доминированием IFN- α и в меньшей степени IL-12/23p40, TNF- α , IL-17A, G-CSF, IL-10).

У пациентов с активной СКВ было выделено три интегративных кластера аутоантител и цитокинов, при этом первый кластер характеризовался низкими уровнями цитокинов и преобладанием АНА, второй – доминированием хемокина IL-8 и антифосфолипидных антител, третий – высокими уровнями IFN- α и антител к дсДНК. J. A. Reynolds и соавт. [41] распределили больных СКВ ($n = 96$) на три группы, две из которых характеризовались высокой активностью заболевания (по индексам SLEDAI-2K и BILAG-2004) и высокими уровнями IFN- α , BlyS (I группа) или CXCL10 (IP-10), CXCL13 (B-лимфоцитарного хемоаттрактанта BLC) (II группа), в то время как III группа имела низкую активность заболевания и низкие уровни цитокинов в сыворотке крови. В I группе доминирование IFN- α и BlyS сочеталось с возрастанием IL-10, -17, -21; во II группе гиперпродукция хемокинов сопровождалась увеличением концентрации антител к дсДНК, гипокомплементемией и развитием артритов, что подтверждается нашими данными о положительной корреляции хемокинов IP-10 и MCP-1 с индексом активности SLEDAI-2K и уровнями антител к дсДНК, нуклеосомам, Sm, RibP. Другими исследователями также обнаружена взаимосвязь между увеличением концентрации в сыворотке крови хемокинов MCP-1 (CCL2), RANTES (CCL5), MIP-3B (CCL19), IP-10 (CXCL10), SIGLEC-1, CXCL1, CXCL16, индуцируемых IFN, повышением активности СКВ и гиперпродукцией АНА [16,28,30]. Полученные результаты указывают на важное значение МИА профилей АНА и цитокинов как эффективного инструмента для реализации персонализированного подхода к оценке иммунологических субтипов СКВ.

В последние годы значительно возрос интерес к изучению роли В-клеток в патогенезе СКВ, что во многом связано с успешным применением анти-

В-клеточной терапии при данном заболевании. Развитие СКВ характеризуется потерей В-клеточной толерантности, что приводит к выживанию аутореактивных клонов В-клеток и их дифференцировке в плазматические клетки, синтезирующие широкий спектр аутоантител. Поликлональная активация В-клеток у больных СКВ сопровождается выраженной экспансией CD27⁺ В-клеток памяти периферической крови. Генно-инженерные биологические препараты (ГИБП) оказывают различное воздействие на субпопуляции В-клеток при СКВ — от полной деплеции до изменения функциональной активности [1,8]. У 64 больных СКВ и 20 ЗД был проведен анализ CD19⁺В-клеток, общей популяции В-клеток памяти (CD19⁺CD27⁺), непереключенных (CD19⁺IgD⁺CD27⁺) и переключенных (CD19⁺IgD⁻CD27⁺) В-клеток памяти, наивных (CD19⁺IgD⁺CD27⁻) и транзиторных (CD19⁺IgD⁺CD10⁺CD38⁺⁺CD27⁻) В-клеток, плазмобластов (CD19⁺CD38⁺⁺⁺IgD⁻CD27⁺CD20⁻) и плазматических клеток (CD19⁺CD138⁺) периферической крови проводился методом многоцветной проточной цитофлуорометрии с использованием панели моноклональных антител к поверхностным мембранным маркерам В-лимфоцитов [10,11]. При СКВ обнаружено увеличение абсолютного и относительного количества активированных В-клеток памяти — двойных негативных В-клеток (CD19⁺CD27⁻IgD⁻) (29,6;20,9-41,3% и 0,03;0,02-0,04x10⁹/л) и плазмоцитов (8;3,5-10,1% и 0,006;0,003-0,02x10⁹/л) на фоне снижения процента наивных В-клеток (58,2;40,2-66,9%) и абсолютного числа транзиторных В-клеток (0,0;0-0,00005x10⁹/л) по сравнению с ЗД (13,3;7,1-19,3% и 0,02;0,01-0,02x10⁹/л, p<0,0001; 0,1;0,05-0,1% и 0,0001;0,00-0,0002x10⁹/л, p<0,0001; 64,7;57,6-72,4%, p<0,05; 0,0001;0-0,0003x10⁹/л, p<0,05). Отмечена положительная корреляция относительного количества двойных негативных В-клеток с активностью СКВ по индексам SLEDAI-2К и BILAG (r=0,55), СОЭ (r=0,60). У больных СКВ, получавших ритуксимаб (РТМ) (моноклональные антитела к мембранному CD20 антигену В-лимфоцитов), деплеция CD19⁺ В-клеток различной степени достигалась к третьему месяцу терапии. После курса РТМ установлена преимущественная деплеция наивных и двойных негативных В-клеток; процентное распределение остаточных наивных В-клеток и субпопуляций В-клеток памяти зависело от степени деплеции. Через год после инициации терапии РТМ процентное соотношение субпопуляций В-лимфоцитов восстанавливалось практически до исходных значений, за исключением сокращения общей популяции В-клеток памяти. Применение белимумаба (БЛМ) (моноклональных антител к фак-

тору активации В-лимфоцитов BLyS) индуцировало уменьшение количества плазмоцитов и плазмобластов (вплоть до полной деплеции), уровней CD19⁺ В-лимфоцитов и наивных В-лимфоцитов в крови. Применение РТМ в сочетании с БЛМ способствовало более медленной репопуляции основных групп В-лимфоцитов, поддержанию низких уровней наивных В-лимфоцитов, В-клеток памяти, плазмоцитов и плазмобластов, препятствуя тем самым синтезу аутоантител [7]. Таким образом, иммунофенотипический анализ субпопуляций В-лимфоцитов является новым полезным инструментом для расшифровки механизмов анти В-клеточного действия различных ГИБП, разработки персонализированного подхода к ранней диагностике, оценке активности, прогноза и эффективности терапии при СКВ.

Ключевым звеном в нарушении периферической толерантности к собственным аутоантигенам с развитием аутоиммунных реакций и воспаления при СКВ служит снижение количества и супрессорной активности CD4⁺ CD25^{high}+FoxP3⁺ регуляторных Т-клеток (Трег) периферической крови, осуществляющих негативную регуляцию Th1-, Th2- и Th17-лимфоцитов [32]. Методом многоцветной проточной цитофлуорометрии нами изучено количество CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Трег периферической крови у 20 больных СКВ и 21 ЗД [13]. При СКВ абсолютное количество Трег периферической крови было ниже, чем у ЗД (0,05; 0,04-0,06 vs 0,03;0,02-0,05x10⁹/L, p<0,036) [13]. У пациентов с острым течением СКВ отмечено более низкое процентное содержание Трег по сравнению с данным показателем при хроническом течении заболевания (9,0;8,3-9,9 vs 13,5;12,7-18,7%, p<0,02). Выявлена отрицательная корреляция между относительным уровнем Трег и активностью болезни (r= -0,52, p<0,05). Дефицит абсолютного количества Трег ассоциировался с повышением уровня IgG в крови (r= -0,52, p<0,05). Абсолютное количество Трег отрицательно коррелировало с относительным и абсолютным уровнем переходных В-клеток (CD19⁺IgD⁺CD10⁺CD38⁺⁺CD27⁻) (r= -0,66 and r= -0,63, p<0,05). Таким образом, при СКВ снижение количества Трег наиболее выражено у пациентов с острым вариантом течения заболевания, высокой активностью патологического процесса, гиперпродукцией IgG и экспансией аутореактивных В-клеток. В настоящее время активно обсуждается новая опция в лечении аутоиммунных заболеваний — толерогенная клеточная терапия, включающая использование мезенхимальных стромальных клеток, толерогенных дендритных клеток и регуляторных Т-клеток. Перспективное направление толерогенной клеточной терапии при СКВ — восстановление иммунологической

толерантности на стадии обратимого аутоиммунитета («окно возможности») с помощью увеличения количества и восстановления функциональной активности Трег путем их генерации ex vivo (введение расширенной популяции аутологичных CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Трег, выделенных из цельной крови и подвергнутых экспансии в кондиционированной культуральной среде) и in vivo (назначение низких доз IL-2) [34].

Развитие инновационных технологий с использованием моно- и мультиплексных методов иммунного анализа способствовало увеличению чувствительности и специфичности лабораторных тестов и существенному расширению спектра лабораторных биомаркеров СКВ. Исследование современных молекулярно-клеточных биомаркеров позволяет на качественно новом уровне осуществлять диагностику, оценку активности, характера течения, клинико-лабораторных субтипов СКВ, а также прогнозировать эффективность терапии данного заболевания.

Список литературы:

1. Александрова Е.Н. В-клетки при аутоиммунных ревматических заболеваниях// Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. - Под ред Насонова Е.Л. - Москва: ИМА-ПРЕСС, 2012. - С. 8 - 45.
2. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний (клинические рекомендации). Лабораторная служба. -2015. №2. - С.44-58.
3. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Верижникова Ж.Г., Лукина Г.В. Современный взгляд на проблемы исследования антинуклеарных антител при системной красной волчанке// Клиническая лабораторная диагностика. - 2018. - №6. - С.340-348. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-340-348>
4. Александрова Е.Н., Верижникова Ж.Г., Новиков А.А., Панафидина Т.А., Попкова Т.В., Лукина Г.В. Клиническое значение мультиплексного иммунного анализа антинуклеарных антител при системной красной волчанке//Клиническая лабораторная диагностика. -2018. - №7. - С.434-438. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-434-438>
5. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Лабораторная диагностика ревматических болезней// Российские клинические рекомендации. Ревматология. - Под. ред. Насонова Е.Л. - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2019. - С.302-320.
6. Клюквина Н.Г. Клиническое значение лабораторных нарушений при системной красной

волчанке// Современная ревматология. - 2014. - №2. - С. 41-47.

7. Меснянкина А.А., Соловьев С.К., Александрова Е.Н. и др. Динамика субпопуляции В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами// Научно-практическая ревматология. - 2017. - №3. - С.252-260.

8. Насонов Е.Л. Перспективы анти-В-клеточной терапии в ревматологии// Научно-практическая ревматология. - 2018. - №5. - 539-548.

9. Соловьев С.К. Системная красная волчанка// Российские клинические рекомендации. Ревматология Под. ред. Насонова Е.Л. - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2019. - С.113-136.

10. Супоницкая Е.В., Алексанкин А.П., Александрова Е.Н. и др. Определение субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуорометрии у здоровых лиц и больных ревматическими заболеваниями//Клиническая лабораторная диагностика. - 2015. - №6 - С.30-33.

11. Супоницкая Е.В., Алексанкин А.П., Меснянкина А.А. и др. Характеристика субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови у больных активной системной красной волчанкой// Клиническая лабораторная диагностика. - 2017. - №7. - С. 418-422. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-7-418-422>

12. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C. et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies// Ann Rheum Dis.- 2014. - V. 73. - P.17-23.

13. Aleksandrova E., Mesnyankina A., Novikov A. et al. FRI0219 CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in systemic lupus erythematosus patients: the negative association with disease activity, acute course, transitional B cells and IGG levels// Ann Rheum Dis. - 2019. V. 78(Suppl 2). P. A789.

14. Aringer M., Costenbader K., Daikh D., et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus// Arthritis Rheumatol. - 2019. - V.71. P.1400-1412.

15. Arriens C., Wren J., Munroe M., Mohan C. Systemic lupus erythematosus biomarkers: the challenging quest// Rheumatology (Oxford). - 2017. - V. 56 (suppl. 1). - P. i32-i45.

16. Bauer J., Baechler E., Petri M. et al. Elevated serum levels of interferon-regulated chemokines are biomarkers for active human system-

ic lupus erythematosus// *PLoS Med.* - 2006. - V. 3. - P. e 491.

17. Bauer J., Petri M., Batliwalla F. et al. Interferon-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study// *Arthritis Rheum.* -2009. - V.60. - P.3098-3107.

18. Bertsias G., Ioannidis J., Boletis J., et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a task force of the EULAR standing committee for international clinical studies including therapeutics// *Ann Rheum Dis.* -2008. - V.67. - P.195-205.

19. Bossuyt X., Fieuids S. Detection of anti-nuclear antibodies: added value of solid phase assay? // *Ann Rheum Dis.* - 2013. - V. 73. - P. e10.

20. Chun H., Chung J., Kim H. et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus// *J Clin Immunol.* - 2007. - V. 27. - P. 461-466.

21. Cozzani E., Drosera M., Gasparini G., Parodi A. Serology of lupus erythematosus: correlation between immunopathological features and clinical aspects// *Autoimmune Dis.* - 2014; 2014:321359.

22. Damoiseaux J., Andrade L., Carballo O. et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective// *Ann Rheum Dis.* - 2019. - V. - P.879-889.

23. Giles B., Boackle S. Linking complement and anti-dsDNA antibodies in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus// *Immunol Res.* - 2013. - V. 55. - P.10-21.

24. Hahn B. McMahon M., Wilkinson A. et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis// *Arthritis Care Res (Hoboken).* - 2012. - V.64. - P.797-808.

25. Illei G., Tackey E., Lapteva L., Lipsky P. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: II. Markers of disease activity// *Arthritis Rheum.* - 2004. - V. 50. - P. 2048-2065.

26. Kavanaugh A., Solomon D. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests// *Arthritis Rheum.* - 2002. - V. 47. - P. 546-555.

27. Kavanaugh A., Tomar R., Reveille J. et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies

to nuclear antigens. American College of Pathologists// *Arch Pathol Lab Med.* - 2000. - V. 124. - P. 71-81.

28. Kirou K., Lee C., George S. et al. Activation of the interferon-alpha pathway identifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease// *Arthritis Rheum.* - 2005. - V. 52. - P. 1491-1503.

29. Li Q., Zhou J., Lian Y. et al. Interferon signature gene expression is correlated with autoantibody profiles in patients with incomplete lupus syndromes// *Clin Exp Immunol.* - 2010. - V. 159. - P. 281-291.

30. Liu C., Kao A., Manzi S., Ahearn J. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future// *Ther Adv Musculoskeletal Dis.* - 2013. - V. 5. - P.210- 233.

31. Lu R., Munroe M., Guthridge J. et al. Dysregulation of innate and adaptive serum mediators precedes systemic lupus erythematosus classification and improves prognostic accuracy of autoantibodies// *J Autoimmun.* - 2016. - V. 74. - P. 182-193.

32. Lyssuk E., Torgashina A., Soloviev S. et al. Reduced number and function of CD4+CD25high-FoxP3+ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus.// *AdvExpMedBiol.* - 2007. - V.601. - P. 113 -119.

33. Mahler M., Meroni P., Bossuyt X., Fritzler M. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies// *J Immunol Res.* 2014; 2014: 315179.

34. Mosanya C., Isaacs J. Tolerising cellular therapies: what is their promise for autoimmune disease?// *AnnRheumDis.* - 2019. - V.78. - P.297-310. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214024.

35. Olsen N., Choi M., Fritzler M. Emerging technologies in autoantibody testing for rheumatic diseases// *Arthritis Res Ther.* - 2017. - V. 19. - P. 172.

36. Pacheco Y., Barahona-Correa J., Monsalve D. et al. Cytokine and autoantibody clusters interaction in systemic lupus erythematosus// *J Transl Med.* - 2017. - V. 15. - P. 239.

37. Petri M., Stohl W., Chatham W. et al. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus// *Arthritis Rheum.* - 2008. - V. 58. - P. 2453-2459.

38. Pisetsky D. Antinuclear antibody testing -

- misunderstood or misbegotten? // Nat Rev Rheumatol.* - 2017. - V. 13. - P. 495-502.
39. Podolska M., Biermann M., Maueröder C. et al. *Inflammatory etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: an update// J Inflamm Res.* - 2015. - V. 8. - P. 161-171.
40. Rahman A, Isenberg DA. *Systemic lupus erythematosus// N Engl J Med.* -2008. - V.358. - P.929-939.
41. Reynolds J., McCarthy E., Haque S. et al. *Cytokine profiling in active and quiescent SLE reveals distinct patient subpopulations// Arthritis Res Ther.* - 2018. - V. 20. - P. 173.
42. Satoh M., Tanaka S., Chan E. *The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmune rheumatic diseases// Front. Immunol.* - 2015. - V 6. - P. 181.
43. Solomon D., Kavanaugh A., Schur P. *American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anti-nuclear antibody testing// Arthritis Rheum.* -2002. - V. 47. - P. 434-444.
44. Squatrito D., Emmi G., Silvestri E. et al. *Pathogenesis and potential therapeutic targets in systemic lupus erythematosus: from bench to bedside// Auto Immun Highlights.* - 2014. - V.5. - P.33-45.
45. Tonutti E., Bizzaro N., Morozzi G. et al. *Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine. The ANA-reflex test as a model for improving clinical appropriateness in autoimmune diagnostics.// Auto Immun Highlights.* - 2016 D. - V. 7. - P. 9.
46. Tozzoli R., Bonaguri C., Melegari A. Et al. *Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory// Clin Chem Lab Med.* - 2013. - V. 51. - P.129-138.
47. Tsokos G. *Autoimmunity and organ damage in systemic lupus erythematosus.// Nat Immunol.* - 2020. - V.21. - P.605-614. doi: 10.1038/s41590-020-0677-6.
48. Tsokos G. *Systemic lupus erythematosus// N Engl J Med.* - 2011. - V.365. - P.2110-2121.
49. Wahren-Herlenius M., Dörner T. *Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease// Lancet.* - 2013. - V.382. - P.819-831. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60954-X.
50. Wang L., Mohan C., Li Q. *Arraying autoantibodies in SLE - Lessons Learned// Curr Mol Med.* -2015. - V. 15. - P.456-461.
51. Yap D., Lai K. *The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus - from bench to bedside// Nephrology.* - 2013. - V. 18. - P. 243-255.
52. Zharkova O., Celhar T., Cravens P. et al. *Pathways leading to an immunological disease: systemic lupus erythematosus// Rheumatology (Oxford).* - 2017. - V. 56 (suppl. 1). - P. i55-i66.
53. Zhu H., Luo H., Yan M., Zuo X., Li Q. *Autoantigen microarray for high-throughput autoantibody profiling in Systemic Lupus Erythematosus// Genomics Proteomics Bioinformatics.* - 2015. - V.13. - P.210-218.