

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РЕВМАТОЛОГИИ
ИМЕНИ В. А. НАСОНОВОЙ»

На правах рукописи

МЕСНЯНКИНА
Анна Александровна

**ДИНАМИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ
У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ
НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫМИ
БИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ**

Специальность 14.01.22 — Ревматология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор,
Соловьев Сергей Константинович

Москва — 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Характеристика больных, включенных в исследование.....	39
2.2. Методы исследования.....	44
2.3. Статистическая обработка результатов.....	50
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	51
3.1. Базальная оценка субпопуляций В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой и здоровых доноров.....	51
3.2. Влияние терапии ритуксимабом на субпопуляции В-лимфоцитов.....	62
3.3. Влияние терапии белимумабом на субпопуляции В-лимфоцитов.....	67
3.4. Влияние комбинированной терапии ритуксимабом и белимумабом на субпопуляции В-лимфоцитов.....	72
3.5. Особенности терапии при применении различных генно-инженерных биологических препаратов	78
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	80
ВЫВОДЫ.....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АНФ — антинуклеарный фактор
- БЛМ — белимумаб
- ВН — волчаночный нефрит
- ГИБП — генно-инженерные биологические препараты
- ГК — глюкокортикоиды
- ДН — двойные негативные
- дсДНК — двуспиральная дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИЛ — интерлейкин (-ы)
- ИФН — интерферон
- Ме — медиана
- ПБ — плазмобласты
- ПК — плазматические клетки
- ПТ — пульс-терапия
- РНП — рибонуклеопротеин
- РТМ — ритуксимаб
- СКВ — системная красная волчанка
- СКФ — скорость клубочковой фильтрации
- СРБ — С-реактивный белок
- ЦФ — циклофосфан
- APRIL — a proliferation-inducing ligand (индуцирующий пролиферацию лиганд)
- BLyS (BAFF) — B-lymphocyte stimulator (В-лимфоцитарный стимулятор)
- BILAG индекс — British Isles Lupus Assessment Group (Британская группа по оценке системной красной волчанки)
- Ig — иммуноглобулин (-ы)
- SLEDAI — Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (индекс активности системной красной волчанки)

SLICC — Systemic Lupus International Collaborating Clinics (Клиники международного партнерства по системной красной волчанке)

TACI — transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor (трансмембранный активатор и кальциевый модулятор и интерактор цитофилинового лиганд)

Th — Т-хелперы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Системная красная волчанка (СКВ) — мультисистемное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся гиперпродукцией органоспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра с развитием иммуновоспалительного повреждения тканей и внутренних органов [7, 157]. Заболеваемость СКВ среди женщин репродуктивного возраста выше в 9 раз, чем у мужчин. В детских и пожилых группах населения эта разница соответствует 6 к 1 и 8 к 1. По данным медицинской литературы, общая заболеваемость СКВ в США составляет 5,1 на 100 тыс. населения в год, распространенность — 52,2 на 100 тыс. населения, в Великобритании — 3,8 и 26,2, в Японии — 2,9 и 28,4 соответственно [87, 53].

В последние полвека значительно улучшилась пятилетняя выживаемость пациентов с СКВ (с 50 до 92–96%) [87, 37], что может быть связано с появлением новых препаратов и методов терапии (пульс-терапия (ПТ), применение цитостатических препаратов, высоких доз преднизолона, генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), плазмаферез и др.), а также с более глубоким пониманием патогенеза заболевания и ранней диагностикой. Однако несмотря на терапевтические достижения, больные СКВ имеют более высокий риск смертности (в 3 раза выше), чем население в целом, особенно больные, у которых заболевание дебютировало в молодом возрасте. Основными причинами этого являются тяжесть течения СКВ, осложнения на фоне лечения и их отсроченные последствия.

Среди причин ранних летальных исходов в течение первых лет наблюдения выделяют активность СКВ, инфекции (чаще сепсис) и тромбозы, более поздняя смертность обусловлена сердечно-сосудистыми причинами и повреждением органов [53, 29, 121, 35]. Кроме того, заболевание имеет волнообразный характер течения с периодами обострения и ремиссии, вследствие чего в воспалительный

процесс могут включаться новые органы и системы, возникают необратимые органические повреждения [53, 3].

В основе патогенеза заболевания лежат множественные нарушения врожденного и приобретенного иммунитета, в результате которых происходит патологическая активация В-лимфоцитов с последующим синтезом аутоантител к множеству антигенов, по некоторым данным их насчитывается более 180 [154]. Почти у 95% больных СКВ обнаруживаются антиядерные антитела [21]. Помимо этого, В-лимфоциты также участвуют в синтезе цитокинов и презентации антигена Т-лимфоцитам. В результате активированные лимфоциты и иммунные комплексы формируют воспалительный процесс в тканях [53, 115]. Эти данные подтверждают ведущую роль В-лимфоцитов в развитии СКВ.

Основой терапии СКВ является применение глюкокортикоидов (ГК) и цитостатиков. Они оказывают мощный противовоспалительный и иммуносупрессивный эффект неизбирательного действия. Применение терапии ГК, цитостатиками и их комбинации способствует уменьшению частоты рецидивов, увеличению продолжительности жизни и значительному снижению ранней и поздней летальности [115]. Однако назначение массивных доз ГК для купирования обострения и многолетнее применение средних доз с целью поддержания низкой активности заболевания приводит к необратимым органическим повреждениям, которые связаны с влиянием ГК на костно-мышечную систему, гомеостаз, эндокринную, сердечно-сосудистую систему и др., а также снижению качества жизни больных. Кроме того, применение этих препаратов ассоциировано с риском возникновения тяжелых бактериальных и вирусных инфекций [131, 42, 41, 135, 38]. Также у некоторых пациентов применение стандартной терапии не оказывает влияния на течение СКВ [81].

Повышение эффективности лечения СКВ стало доступным с внедрением в терапию ГИБП. В последние годы разработаны два ГИБП — ритуксимаб (РТМ) и белимуаб (БЛМ), которые активно применяются для лечения заболевания. Эти препараты тем или иным образом подавляют В-лимфоциты и, как следствие, синтез аутоантител. РТМ представляет собой химерные моноклональные антитела к

CD20, которые вызывают деплецию В-клеток. Хотя в рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях LUNAR и EXPLORER не было обнаружено различий в ответе в группах больных, получающих РТМ и плацебо, следует отметить, что в данных исследованиях терапия РТМ ассоциировалась с более высокой скоростью ответа — 57% [98, 120]. РТМ неоднократно доказывал свою эффективность в реальной клинической практике у больных с тяжелой, рефрактерной к стандартной терапии СКВ. Он малотоксичен и высокоэффективен [81, 12, 55, 103, 158].

В 2010 г. после клинических исследований BLISS-52 ($n=865$) [102] и BLISS-76 ($n=819$) [48] комиссией по пищевым продуктам и лекарственным препаратам США был зарегистрирован белимумаб (БЛМ) — первый ГИБП, разработанный для лечения СКВ. Он представляет собой человеческие рекомбинантные моноклональные антитела (IgG1 λ), которые предотвращают взаимодействие рBlyS (B-lymphocyte stimulator — В-лимфоцитарный стимулятор) с клеточными рецепторами аутореактивных В-лимфоцитов, тем самым уменьшая В-клеточную гиперреактивность, снижая выживаемость аутореактивных клонов В-лимфоцитов [102, 48, 133]. Терапия БЛМ обеспечивает не только подавление активности, но и стойкую ремиссию или низкую активность заболевания, а также возможность максимального снижения ежедневной дозы и даже отмены ГК [137, 51, 50]. Маркерами эффективности терапии ГИБП в настоящее время являются степень деплеции В-клеток, динамика клинических и лабораторных признаков активности заболевания, а обострения заболевания — репопуляция или сохранение остаточных В-лимфоцитов после применения ГИБП [158, 69, 146, 14]. Тем не менее при использовании одинаковых схем лечения у схожих по клиническому течению заболевания пациентов не всегда удается достигнуть эффекта от терапии и ремиссии заболевания [158]. Сохраняются проблемы в идентификации показателей, которые характеризовали бы прогноз СКВ, исходы и эффективность лечения у конкретного пациента, отсутствуют надежные биомаркеры волчанки для диагностики, мониторинга и прогнозирования реакции на терапию.

Таким образом, для современной ревматологии актуален поиск клинико-лабораторных показателей, способствующих прогнозированию будущего ответа, рецидива и течения заболевания. В этой связи закономерен интерес к изучению конкретных участников патогенеза заболевания. Поскольку В-клетки играют огромную роль в развитии СКВ, а современные методы терапии ГИБП ориентированы на их подавление, определение роли отдельных субпопуляций В-лимфоцитов у больных имеет большое значение в оценке прогнозов течения заболевания. Данных об исходном составе субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с СКВ и их динамике на фоне лечения ГИБП немного, однако накопленный исследователями материал позволяет выделить их как ценный инструмент для оценки течения СКВ и исходов терапии.

Степень разработанности проблемы

Несмотря на небольшое количество проводимых исследований, направленных на изучение субпопуляций В-лимфоцитов, выдвинут ряд значимых для прогноза и оценки активности СКВ теорий и положений о роли определенных В-клеток в развитии и поддержании СКВ. Так, изменение соотношения различных В-клеток памяти может быть связано со степенью активности волчаночного нефрита (ВН) [72, 150] или степенью активности СКВ [68, 16, 160]. Отсутствие ответа после курса РТМ или недостаточная эффективность терапии может быть связана с динамикой В-лимфоцитов памяти или количеством плазмобластов (ПБ) [80, 146, 14, 158]. Существующие клинические испытания в основном ориентированы либо на поиск ассоциации между клинико-лабораторной активностью СКВ и субпопуляциями В-лимфоцитов, либо на выявление среди В-клеток предиктора ответа, полной клеточной деплеции на фоне проведения ГИБП. Кроме того, в исследованиях отличались методы подбора пациентов и оценки данных, что может объяснить различия полученных результатов. Стоит отметить, что исследований, направленных на изучение субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии БЛМ среди больных СКВ и болезнью Шегрена, очень мало, а данные по описанию динамики В-клеток на фоне комбинированной терапии отсутствуют.

Поэтому в нашем исследовании мы сформировали группу больных СКВ, подобранную по определенным критериям, и проанализировали исходные данные субпопуляций В-лимфоцитов в сравнении со здоровыми донорами, проследили их динамику на фоне терапии ГИБП с целью выявления лабораторных маркеров активности СКВ, предикторов течения заболевания и ответа на терапию. Также мы провели подробную оценку субпопуляций В-клеток среди больных, получавших БЛМ и комбинированную терапию.

Цель исследования

Оценить совокупность изменений клинических, иммунологических показателей активности и субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с СКВ и их динамику под влиянием анти-В-клеточной и анти-BLyS терапии.

Задачи исследования

1. Оценить гомеостаз субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с СКВ при сопоставлении со здоровыми донорами.
2. Выявить взаимосвязь субпопуляций В-лимфоцитов с клиническими проявлениями СКВ, со степенью активности и длительности заболевания.
3. Проанализировать влияние анти-В-клеточной и анти-BLyS терапии на субпопуляции В-лимфоцитов.
4. По степени деплеции и репопуляции В-лимфоцитов определить предикторы ответа на терапию при динамическом наблюдении.
5. Определить влияние анти-В-клеточной и анти-BLyS терапии на иммунологические показатели (антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК), С3 и С4 компоненты комплемента, иммуноглобулины), характеризующие активность СКВ при длительном динамическом наблюдении, и выявить взаимосвязь с изменением количества определенных субпопуляций В-лимфоцитов.

Научная новизна исследования

Впервые в РФ проведено динамическое исследование субпопуляций В-лимфоцитов у больных СКВ с использованием высокотехнологического метода многоцветной проточной цитофлуориметрии.

Выявлено, что процентное соотношение субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ и у здоровых доноров различно. Существует взаимосвязь между количеством В-клеток различных субпопуляций с активностью и длительностью СКВ, предшествующей терапией, наличием ВН и параметрами иммунологической активности. Оценка динамики субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии ГИБП позволяет выделить возможные предикторы эффективности проводимого лечения.

Оценка эффективности комбинированной терапии РТМ и БЛМ у больных СКВ продемонстрировала хорошую клиническую эффективность. Применение двух ГИБП позволило контролировать общую популяцию В-лимфоцитов, способствовало более медленному их восстановлению у пациентов, которые достигли полной деплеции после курса РТМ, и дальнейшему сокращению В-клеток после подключения БЛМ у больных с отсутствием деплеции. Такая терапия поддерживала в низких концентрациях ПБ, плазматические клетки (ПК), общую популяцию В-клеток памяти и наивные В-лимфоциты.

Практическая значимость исследования

Полученные данные могут использоваться для дальнейших исследований роли субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ. Выявление низкого исходного количества переключенных и высокого — двойных негативных (ДН) В-клеток памяти и ПБ у пациентов с подозрением на СКВ может способствовать более ранней диагностике этого заболевания. Дополнительным критерием высокой активности СКВ может служить высокая процентная доля ДН В-клеток памяти при низком количестве наивных В-лимфоцитов.

Высокое содержание ПК (>0,2%) в периферической крови у больных СКВ может быть предиктором неполной В-клеточной деплеции после курса РТМ. Дополняющие друг друга механизмы действия РТМ и БЛМ, приводящие к быстрому развитию деплеции В-лимфоцитов и поддержанию ее на низком уровне в течение длительного времени, обеспечивают высокую эффективность комбинированной терапии и обосновывают ее назначение больным СКВ с высокой и средней степенью активности заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Количественные параметры субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ отличаются от аналогичных показателей здоровых доноров. Существует зависимость между количеством В-клеток различных субпопуляций с активностью, длительностью, клинико-лабораторными данными СКВ.

2. Терапия РТМ приводит к снижению основных субпопуляций В-лимфоцитов. Неполная деплеция В-лимфоцитов после терапии РТМ наблюдается при повышенном базальном количестве ПК.

3. Особенностью начала репопуляции В-клеток после применения РТМ является увеличение либо непереклоченных, либо переключенных В-клеток памяти. Долгосрочным эффектом терапии ГИБП является сокращение и длительное сохранение малого количества общей популяции В-клеток памяти.

4. Терапия БЛМ способствует снижению клинико-лабораторной активности СКВ с 3-го мес. наблюдения, а иммунологических показателей — с 6-го мес. после инициации ГИБП, в то же время отмечается уменьшение количества ПК и ПБ. БЛМ может оказывать влияние на общее содержание CD19+ В-лимфоцитов и количество наивных В-лимфоцитов.

5. Применение комбинированной терапии у пациентов с СКВ высокоэффективно и способствует снижению количества ПК и ПБ. По сравнению с монотерапией РТМ комбинированная терапия РТМ и БЛМ замедляет

репопуляцию В-лимфоцитов и поддерживает низкие концентрации ПБ и ПК, общей популяции В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

Диссертантом освоена методика организации и проведения клинических исследований лекарственных средств, получен сертификат о повышении квалификации, также пройдено обучение по программе «Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматических заболеваний», получен сертификат о повышении квалификации. Автор освоила метод оценки активности СКВ (SLEDAI-2K и BILAG), индекса повреждения, изучила методику проведения иммунофенотипирования В-лимфоцитов периферической крови методом многоцветной проточной цитофлуорометрии.

Автором изучена и проанализирована литература по теме работы. Основные положения представлены в опубликованном литературном обзоре. На основе проведенного анализа сформулированы цели и задачи настоящего исследования, определены основные этапы контроля и объем обследований. Была разработана тематическая карта пациента для первичного и повторного визитов, а также электронная база данных. Автор осуществлял ведение пациентов с СКВ в стационаре и при динамическом наблюдении. Результаты обследования внесены в локальную электронную базу, а также в базу данных VLIPS международного регистра пациентов с СКВ Евразийской когорты (РЕНЕССАНС), заполнена первичная документация и тематические карты пациентов. Диссертантом проводился статистический анализ результатов наблюдения, на основе которого сформулированы выводы исследования, определены практические рекомендации.

Внедрение в практику

Материалы диссертации используются при чтении лекций, при проведении круглых столов и практических занятий для врачей и ординаторов.

Публикации и апробация работы

Основные положения и выводы диссертации изложены в 21 публикации, в том числе в 3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Результаты диссертационного исследования докладывались на школе «Перспективы развития ревматологии — вклад молодых ученых» (Москва, 2015), I Междисциплинарной научной конференции «Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания» (Москва, 2016), научной конференции молодых ученых «Молодое поколение ревматологов в науке» (Москва, 2016), заседании ревматологической секции научного общества терапевтов (Москва, 2017), VII Съезде ревматологов России с международным участием (Москва, 2017), на XXI форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2017), XVII Всероссийской школе ревматологов им. В. А. Насоновой с конференцией молодых ученых и совещанием экспертов-ревматологов (Москва, 2018).

Первичная экспертиза диссертации проведена на заседании ученого совета ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой 4 сентября 2018 г.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 112 страницах, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 12 отечественных и 148 зарубежных источников. Текст диссертации иллюстрирован 19 таблицами, 19 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

СКВ — мультисистемное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, патогенез которого заключается в нарушении активации Т- и В-лимфоцитов, гиперреактивности В-клеток с неконтролируемым синтезом широкого спектра аутоантител к ядерным антигенам и формированием иммунных комплексов, вызывающих иммуновоспалительное повреждение внутренних органов [7, 53, 18]. Является хроническим жизнеугрожающим заболеванием, влекущим развитие необратимых органических повреждений, ухудшение качества жизни больных, увеличение риска летальных исходов [87, 37, 29, 121, 25].

СКВ отличается многообразием вариантов течения и клинических проявлений, которые включают неврологические, почечные, кожно-слизистые, скелетно-мышечные, гематологические, респираторные и кардиоваскулярные проявления. Также для нее характерны слабость, утомляемость, потеря массы тела, лихорадка и др. Клиническая картина заболевания в дебюте часто бывает стерта и требует дифференциальной диагностики с многими другими заболеваниями ревматологического и не ревматологического профиля [53, 3, 41, 92]. Однако благодаря современным методам лабораторной диагностики с определением чувствительных маркеров заболевания, например, наиболее специфичных для СКВ антител дсДНК [157, 154, 115, 18] и анти-Smith (анти-Sm) антител [44], хорошей осведомленности врачей других специальностей заболевание удается диагностировать на более ранних сроках, что позволяет своевременно назначить патогенетическую терапию. Диагностика СКВ основывается на оценке клинических проявлений, лабораторных и иммунологических результатов исследований по критериям ACR (Американской коллегии ревматологов) 1997 г. или SLICC (The Systemic Lupus International Collaborating Clinics) 2012 г. [157, 110]. Последние обладают большей чувствительностью (>93%) и могут быть применены в детской практике и в дебюте заболевания [64, 123].

Патогенез СКВ характеризуется нарушением врожденного и приобретенного иммунитета. В развитии заболевания участвуют различные факторы: влияние внешней среды (ультрафиолет, курение, инфекции), генетическая предрасположенность, патология иммунитета [53, 33]. В основе нарушений механизмов врожденного иммунитета лежит персистирующая активация плазмоцитоидных дендритных клеток при взаимодействии мембранных Toll-подобных рецепторов и Fc γ RIIA с ядерными антигенами, образующимися в процессе нетоза, апоптоза и некроза клеток, а также с комплексами из собственных нуклеиновых кислот и других антигенов с аутоантителами, что приводит к гиперпродукции интерферона (ИФН) I типа, который обладает способностью прямо или через повышение синтеза BlyS усиливать выживаемость В-клеток и выработку аутоантител [53, 106, 76]. Дефекты приобретенного иммунитета при СКВ связаны с патологической активацией Т- и В-клеток, гиперпродукцией аутоантител и цитокинов.

Ведущую роль в развитии и поддержании активности СКВ играют В-лимфоциты. Контакт с антигеном приводит к образованию В-клеток памяти, а также ПК, которые, в свою очередь, секретируют антитела к аутоантигенам [115, 154, 69]. Последние являются неотъемлемым элементом распознавания аутоиммунного заболевания и диагностическими маркерами [157, 154, 115, 18, 49]. Кроме того, В-клетки замыкают круг воспалительных реакций путем представления аутоантигенов для Т-клеток и синтеза провоспалительных цитокинов [115, 85]. В активации, дифференцировке и выживаемости В-клеток участвуют 2 цитокина, относящиеся к семейству фактора некроза опухоли альфа: BlyS, который также называют BAFF и APRIL (a proliferation-inducing ligand — индуцирующий пролиферацию лиганд). Они экспрессируются активированными макрофагами, дендритными клетками, моноцитами, регулируют активацию и дифференцировку, а также повышают выживаемость аутореактивных клонов В-клеток [106].

Эти данные предопределили создание и применение таргетных препаратов, влияющих непосредственно на В-клетки и их функцию. Подавление В-клеточного

звена аутоиммунитета приводит к снижению активности заболевания и длительной ремиссии. Так, введение в терапию РТМ улучшило прогноз и выживаемость пациентов с тяжелыми и рефрактерными к стандартной терапии формами СКВ [81, 151]. РТМ, воздействуя на В-лимфоциты, имеющие на своей поверхности молекулярный маркер CD20, вызывает деплецию этих клеток, что достигается несколькими механизмами, включая комплементзависимую цитотоксичность, клеточную цитотоксичность и индукцию апоптоза [88]. Другим ГИБП является БЛМ, который предотвращает взаимодействие растворимых BlyS (pBlyS) с клеточными рецепторами аутореактивных В-клеток, что приводит к угнетению их функции и подавлению синтеза антител [130].

Однако несмотря на успешное применение ГИБП, нередко наблюдается недостаточная эффективность или отсутствие эффекта от терапии, что может приводить к рецидиву СКВ и даже к ухудшению течения и прогноза заболевания. Это частично объясняется неполным уничтожением аутореактивных клеток или недостаточным подавлением факторов их активации, в результате чего они продолжают синтезировать антитела [81].

Кроме того, различия по полу, возрасту, характеру дебюта СКВ, течению заболевания, лабораторно-иммунологическим параметрам и пр. не позволяют сформировать единый подход к лечению, осложняют оценку будущего ответа на терапию. И даже при применении одинаковых схем лечения ГИБП у схожих по клиническому течению больных не всегда удается достичь эффекта от терапии и ремиссии заболевания [158]. В связи с этим ведутся поиски клинико-лабораторных маркеров, которые могут служить для оценки течения заболевания, прогноза СКВ на фоне различных методов генно-инженерной биологической терапии. Наибольшее количество исследований посвящено изучению динамики лабораторно-иммунологических маркеров СКВ [87, 81, 147, 36, 26, 134].

Результаты исследований позволили выдвинуть предположения о таких биомаркерах. Среди предиктивных и прогностических факторов условно выделены 4 категории: социо-демографические (возраст, пол, раса), генетические, клинические и лабораторные (таблица 1, 2). Относительно генетических факторов

было отмечено, что частичный и полный клинический ответ чаще наблюдался при наличии полиморфизма в генах интерлейкина-2 (ИЛ-2)/ИЛ-21 (rs6822844G/T) и ИЛ-174 ИЛ-6 (rs 1800795) [95, 116]. У латиноамериканцев, афроамериканцев, метисов и азиатов чаще развивается ВН, который ассоциируется с худшим прогнозом [159, 112, 105, 46]. В исследовании EXPLORER афроамериканцы и латиноамериканцы достигли значительно более высоких показателей клинического ответа на РТМ, чем пациенты европеоидной расы. Также исследователи отметили, что эффект от терапии мог зависеть от возраста и пола [99]. В наблюдении S. Ryu и соавторов при наличии гемолитической анемии, протеинурии, лимфаденопатии и позитивности по антителам к Sm нарастал риск развития перикардита. Предикторами плеврита служили артрит, фиброз легких, низкая концентрация С4. Лихорадка, синдром Рейно и антитела к дсДНК являлись прогностическими факторами для развития плеврита и перикардита [122].

При оценке иммунологических показателей выявлено, что наличие антител к дсДНК ассоциировалось с высоким риском развития ВН и гемолитической анемии. Отсутствие антител к Ro и антител к La служит предиктором достижения на фоне ГИБП (РТМ) низкого уровня антител к дсДНК, увеличения концентрации С3 [134], а также связано с хорошим клиническим ответом на терапию [147]. В то же время их наличие ассоциировалось с развитием подострого поражения кожи [147], а сочетание этих антител с высоким базальным содержанием VLyS — с быстрым клиническим ответом. Среди пациентов с антителами к RNP чаще встречаются больные с явлениями миозита, лимфаденопатии, синдромом Рейно [87, 29]. Больные с поражением почек, имеющие небольшую длительность течения ВН без нарушения концентрационно-фильтрационной функции почек, имели хороший ответ на РТМ [84]. Нарастание количества VLyS было связано с обострением СКВ [119] и увеличением концентрации антител к дсДНК [28, 43, 108]. S. Dias и соавторы отметили, что наличие лимфопении может быть предиктором продолжительности В-клеточной деплеции и клинического ответа на терапию [36]. В двух исследованиях были получены противоречивые результаты о влиянии APRIL на течение и активность СКВ [100, 24].

Таблица 1. Возможные предикторы течения заболевания, ответа и эффективности терапии РТМ

Исследование	Количество пациентов	Дозировка, длительность наблюдения	Возможные предикторы	Клинический ответ
J. Merrill и др. (EXPLORER) [99]	257	1000 мг ($n=162$), 52 нед. или плацебо ($n=182$)	афроамериканцы, латиноамериканцы, возраст, пол	хороший
A. Márquez и др. [95]	84	375 мг/кг, 6 мес.	генетические факторы (rs6822844G/T в генах ИЛ-2/ИЛ-21)	хороший
G. Robledo и др. [116]	144	375 мг/кг, 6 мес.	генетические факторы (полиморфизм генов ИЛ-174, ИЛ-6 (rs 1800795))	хороший
G. Cambridge и др. [26]	25	–	высокая концентрация BLYS и позитивность по антителам к Ro, к RNP-70 и т.д.	короткосрочный
C. Lindholm и др. [84]	33	375 мг/кг, 22 мес.	короткий период наличия ВН, базальная СКФ >30 мл/мин, уровень креатинина	хороший
E. Vital и др. [147]	82	по 1000 мг 2 раза, 6 мес.	отсутствие антител к Ro, к RNP-70	хороший
			наличие антител к Ro, к RNP-70	обострение хронической формы кожной волчанки
			увеличение титра антител к дсДНК	обострение острой формы кожной волчанки
G. Tew и др. [134]	257	по 1000 мг ($n=169$) или плацебо ($n=88$)	отсутствие антител к Ro, к RNP-70	снижение антител к дсДНК, увеличение концентрации С3
S. Dias и др. [36]	98	по 1000 мг 2 раза, 12 мес.	лимфопения	клиническое улучшение, увеличение длительности деплеции В-лимфоцитов
L. Carter и др. [28]	35	по 1000 мг 2 раза, 66 нед.	увеличение концентрации BLYS (после терапии РТМ)	обострение, высокая концентрация антител к дсДНК, активность СКВ
D. Elbirt и др. [43]	41	–		

Примечание: СКФ — скорость клубочковой фильтрации.

Терапия БЛМ также имеет свои особенности, в частности хороший клинический ответ чаще наблюдался у темнокожих пациентов [61]. Высокая концентрация BLyS у больных, получавших такую терапию, служила маркером раннего обострения и чаще наблюдалась при позитивных показателях антител к Sm, низкой концентрации C3 компонента комплемента, высоком титре антител к dsДНК и наличии протеинурии [119], а также ассоциировалась с активностью заболевания [108]. Предиктором ответа на БЛМ чаще служит наличие полиартрита, нежели поражение кожи [62], и высокая иммунологическая активность [50, 128]. М. Petri и соавторы отметили, что быстрое снижение концентрации антител к dsДНК при терапии БЛМ была ассоциирована с низким риском обострения [109]. Взаимосвязь возраста и ответа на терапию практически не изучена, только в двух наблюдениях в группу исследуемых вошли пациенты в возрасте от 15 до 17 лет [28, 84].

Таблица 2. Возможные предикторы течения заболевания, ответа и эффективности терапии БЛМ

Исследование	Количество пациентов	Дозировка, длительность наблюдения	Возможные предикторы	Клинический ответ
М. Petri и др. [108]	245	–	увеличение концентрации BLyS	активность СКВ
J. Friebus-Kardash и др. [47]	178	–	увеличение концентрации BLyS	активность СКВ; поражение почек
J. Hui-Yuen и др. [61]	195	10 мг/кг	афроамериканцы	хороший
D. Roth и др. [119]	1684	10 мг/кг	высокая концентрация BLyS	раннее обострение
М. Petri и др. [109]	562	10 мг/кг	антитела к dsДНК	низкий риск обострения
L. Iaccarino и др. [62]	188	10 мг/кг	полиартрит, поражение кожи	хороший
W. Stohl и др. [128], М. Gatto и др. [50]	1684	10 мг/кг	иммунологическая активность	хороший

Таким образом, было предложено несколько возможных биомаркеров в качестве предикторов будущего обострения и клинического ответа, но их реальная способность прогнозировать течение заболевания на фоне лечения при СКВ остается спорной. Эти и другие подобные результаты исследований отражают возможность положительного или отрицательного исхода терапии ГИБП и вероятный клинический эффект, но не позволяют достоверно прогнозировать исход лечения и предсказать, в какой момент следует ожидать обострения, что не удовлетворяет современным требованиям мониторинга пациентов. Кроме того, с клинко-иммунологической точки зрения для оценки эффективности ГИБП требуется определенное время — от нескольких недель до нескольких месяцев [10]. Следовательно, раннее определение неэффективности или будущего ответа на фоне терапии поможет более качественно подобрать терапию, ограничить дозу пероральных ГК или своевременно усилить лечение. Поэтому важно выявить такой биомаркер, который мог бы предсказать течение заболевания на фоне терапии ГИБП. Такими маркерами могут быть различные субпопуляции В-лимфоцитов, что обусловлено их значимой ролью в развитии и поддержании воспаления при СКВ, а также тем, что ГИБП ориентированы на их подавление [98, 120, 158, 40]. Оценка их базального количества и динамики на фоне терапии имеет важное прогностическое и предиктивное значение для определения течения СКВ.

В-лимфоциты. Под субпопуляциями В-лимфоцитов подразумевают разновидности клеток определенного типа, характеризующиеся наличием устойчивых различий по функциям и связанным с ними молекулярным маркерам (CD). Выделяют 3 основных вида В-клеток: В1 (CD5+), В2 (CD5) и В-клетки маргинальной зоны (МЗВ) [15].

В-лимфоциты проходят несколько стадий развития, приобретая молекулы иммуноглобулинов различных классов и мембранные CD-антигены. Выделение поверхностных молекулярных маркеров CD19, CD20, CD38, CD27, IgD позволило определять и классифицировать отдельные субпопуляции В-лимфоцитов. Так, например, распознавание CD27 было полезным для того, чтобы отличить В-клетки

памяти от ПК и наивных В-лимфоцитов. В таблице представлены субпопуляции В-клеток [15, 1, 66, 117] (таблица 3).

Таблица 3. Субпопуляции В-лимфоцитов и молекулярные маркеры

В-лимфоциты	Молекулярные маркеры
Наивные В-клетки	CD19+, CD27-, IgD+
Общая популяция В-клеток памяти	CD19+, CD27+
Непереключенные В-клетки памяти	CD19+, CD27+, IgD+
Переключенные В-клетки памяти	CD19+, CD27+, IgD-
Транзиторные В-клетки	CD19+, CD38++, CD10+, IgD+, CD27-
Плазмобласты	CD19+, CD38+++, CD27+, IgD-, CD20-
Плазматические клетки	CD19+, CD38+
Двойные негативные В-клетки памяти	CD19+, CD27-, IgD-

Развитие В-лимфоцитов происходит из стволовой клетки с последующей дифференцировкой в общий лимфоидный предшественник — про-В-клетку (появление на поверхности CD19+), затем в пре-В-клетку (появление на поверхности CD20+), незрелую В-клетку, транзиторные В-лимфоциты и наконец зрелую (наивную) В-клетку. Контакт с антигеном приводит в последующем к образованию В-клеток памяти и ПК, которые, в свою очередь, подразделяются на короткоживущие и долгоживущие ПК. Транзиторные В-лимфоциты могут дифференцироваться в В-клетки маргинальной зоны либо в зрелые В-клетки [15].

В норме развитие В-лимфоцитов следует жестко регулируемому жизненному циклу, который обеспечивает формирование В-клеточной толерантности к аутоантигенам [57, 97]. По данным Н. Wardemann и соавторов, при исследовании В-лимфоцитов было обнаружено, что более 55% образующихся в организме клеток являются аутореактивными и в дальнейшем удаляются из популяции на стадии незрелой В-клетки [149]. Это достигается при помощи двух механизмов толерантности: «редактирование» В-клеточных рецепторов и клональная делеция (апоптоз) [57]. Нарушение толерантности, а также последующая активация поликлональной В-клетки, дисрегуляция идиотипической сети приводят к формированию аутореактивных клонов В-клеток, синтезирующих антитела к

множеству аутоантигенов, среди которых при СКВ доминируют антитела к дсДНК [154]. Они могут появляться и накапливаться в организме за несколько лет до развития клинических проявлений СКВ [17]. В итоге активированные лимфоциты и иммунные комплексы индуцируют воспалительный процесс в тканях.

Кроме того, В-лимфоциты участвуют в синтезе цитокинов и презентации антигена Т-лимфоцитам. Среди цитокинов и хемокинов, продуцируемых эффекторными и регуляторными В-лимфоцитами, выделяют ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, тканевый фактор роста β , лимфотоксин, фактор некроза опухоли альфа и многие другие [89]. Возможность презентации антигена В-клетками была доказана в экспериментальных исследованиях трансгенных MRL/lpr мышей, у которых количество В-лимфоцитов было в норме и они не синтезировали антитела, тем не менее у них развивался тяжелый нефрит, который характеризовался инфильтрацией почечной ткани активированным Т-клетками [27].

В-клетки памяти. Эти клетки подразделяются на IgD⁺/IgM⁺ (клетки памяти до переключения) и IgD⁻/IgG⁺, IgA⁺ (клетки памяти после переключения или post-switched). У пациентов с СКВ обнаружено увеличение числа В-клеток памяти в периферической крови. Пока остается неясным, отражает ли преобладание этих клеток потерю процессов периферической толерантности или это результат повышения активации наивных В-клеток. Независимо от этих соображений, увеличенный пул клеток памяти может способствовать развитию более высокой активности и неблагоприятного течения СКВ. Стимуляция этих клеток происходит по «облегченному» пути (имеют более низкие пороги активации и обладают гиперответом на различные раздражители, такие как Toll-подобные рецепторы, ИЛ-21, BlyS, ИЛ-10, а следовательно, приводит к дальнейшей продукции ПК, секретирующих аутоантитела [68]. В-лимфоциты памяти могут представлять антигены за счет экспрессии В-клеточных рецепторов, а также молекул главного комплекса гистосовместимости класса II [15, 73]. В исследовании J. Kosalka и соавторы отмечали более низкое количество непереключенных и высокое — переключенных В-клеток памяти у больных с ВН [72].

Двойные негативные В-клетки. Особый интерес вызывают ДН (CD27–, IgD–) В-лимфоциты, которые характеризуются как активированные В-клетки памяти. Происхождение этих клеток еще не до конца изучено, но, по имеющимся данным, они могут играть важную роль в развитии СКВ. Увеличение их числа коррелирует с развитием СКВ, и они часто представляют собой значительную часть всех В-клеток памяти. Эти данные были подтверждены в работе С. Wei и соавторов [150]. Они также пришли к заключению, что концентрация этих клеток в крови ассоциировалась с высокой активностью ВН и наличием аутоантител (к дсДНК, Sm, рибонуклеопротеину (РНП)). J. Kosalka и соавторами были получены схожие результаты при наблюдении за больными СКВ с активным нефритом, у которых также наблюдалось более высокое содержание В-клеток памяти [72]. А. Jacobі и соавторы отмечали повышение уровня ДН В-клеток у пациентов с СКВ, но корреляции с активностью заболевания не прослеживали [68]. Связи ДН В-лимфоцитов с инфекционными заболеваниями не обнаружено [15].

Плазматические клетки. ПК классифицируются на долгоживущие (CD19+, CD138+) и короткоживущие (CD19+, CD38+) и локализованы преимущественно в селезенке и костном мозге. Особенностью этих клеток является отсутствие на их поверхности рецептора CD20, который служит основной мишенью для РТМ. После активации часть наивных В-лимфоцитов дифференцируется в короткоживущие ПК (CD19+, CD38high+, CD20–, CD27high), которые секретируют при СКВ преимущественно антитела к дсДНК [69, 15].

Остальные наивные В-клетки развиваются в зародышевых центрах. Конечным результатом является продукция клеток памяти и долгоживущих ПК, которые секретируют антитела к Ro, La, Sm, антигенам [15]. Среди цитокинов в качестве ростового фактора для ПБ выступает преимущественно ИЛ-6 [68, 132]. Долгоживущие ПК попадают в костный мозг и персистируют в организме в течение длительного времени, они практически не чувствительны к анти-В-клеточной терапии. Это можно объяснить тем, что зрелые ПК полностью утрачивают подвижность, а также способность реагировать практически на все внешние стимулы, что обусловлено потерей характерных для В-клеток

мембранных молекул — иммуноглобулинов и других компонентов В-клеточных рецепторов, молекул МНС, костимулирующих молекул [19, 83, 58]. Клинические данные свидетельствуют, что у пациентов, которые были позитивны по антителам к Ro, La и Sm, отмечалось более высокое абсолютное число ПК по сравнению с серонегативными пациентами, а продолжительность СКВ коррелировала с процентным и абсолютным числом долгоживущих ПК. Количество короткоживущих ПК, а также антител к дсДНК коррелировало с активностью заболевания. Уровень циркулирующих субпопуляций В-лимфоцитов (наивные В-клетки, В-клетки памяти и ПК) не зависел от возраста или пола больных, но может быть связан с продолжительностью заболевания [69]. Также отмечено, что у пациентов с ювенильной СКВ и у взрослых больных отмечается значительное увеличение ПК [39].

Особенностью, которую следует учитывать при ведении пациентов с СКВ, является изменение В-клеточных субпопуляций при вакцинации или инфекционном заболевании, которое может стать причиной реактивации плазмцитоза [68]. В связи с этим важно отличать увеличение числа ПК за счет инфекционного агента и их гиперпродукцию, вызванную активностью СКВ, что требует дальнейшего изучения.

Т-лимфоциты. Нарушение функции Т-лимфоцитов имеет важное значение в патогенезе СКВ. Выделяют $\gamma\delta$ Т- и $\alpha\beta$ Т-клетки, последние подразделяются на 4 субпопуляции, различающиеся по экспрессии корецепторов CD. Две основные из них — CD4⁺ (преимущественно Т-хелперы) и CD8⁺ (цитотоксические) — Т-лимфоциты. Для выживания Т-лимфоцитов необходим цитокин ИЛ-17, а также сигналы от Т-клеточных рецепторов [94].

Как и В-лимфоциты, аутореактивные Т-клетки в организме здорового человека подвергаются апоптозу, это происходит на этапе отрицательной селекции. Сбой этого механизма приводит к нарушению запрограммированной гибели клеток и, как следствие, накоплению аутореактивных клонов Т-лимфоцитов, способных распознавать органоспецифические антигены и непосредственно повреждать клетки, на которых они экспрессированы. Нарушение

аутоотолерантности также может формироваться в результате периферической анергии выживших Т-лимфоцитов и при снижении активности регуляторных CD4⁺ Т-клеток (Трег) [94, 125]. У больных СКВ обнаружено снижение процентного содержания CD4⁺ CD25^{low} Foxp3⁺ Трег, доказана корреляция этих изменений с активностью заболевания и их увеличение у пациентов с ремиссией, а также выявлена отрицательная корреляция с уровнем антител к дсДНК [153, 11]. В нескольких исследованиях также было продемонстрировано увеличение числа Трег после использования различных методов терапии, включая терапию ГК [96], цитостатиками [141], плазмаферез и РТМ [11].

Особую роль в патогенезе СКВ играют Т-хелперы (Th) 17, продуцирующие ИЛ-21, ИЛ-22, ИЛ-17. Последний является мощным провоспалительным цитокином [125]. Общее количество Th также положительно коррелирует с титром антител к дсДНК [153]. ИЛ-17 был выше у пациентов с ВН и ассоциировался с уровнем антител к дсДНК [152]. Согласно некоторым данным, больные СКВ с более высоким количеством Th хуже поддавались стандартной терапии [74].

BlyS (BAFF) и *APRIL* регулируют активацию и дифференцировку, а также повышают выживаемость аутореактивных клонов В-клеток. Они имеют три рецептора — BAFF-R, трансмембранный активатор, модулятор кальция и активатор лиганда циклофилина (TACI) и В-клеточный антиген созревания (BCMA) — каждый из которых по-разному экспрессируется В-клетками в процессе их онтогенеза. BAFF-R экспрессируется всеми зрелыми и В-клетками памяти, подавляется в зародышевых центрах и появляется на ПК [136]. BCMA в основном присутствуют на ПБ, но также обнаружены на небольшом количестве ДН В-клеток. TACI экспрессируется В-лимфоцитами после Т2 стадии, ПБ и ПК [45].

Выживаемость аутореактивных клонов достигается за счет следующих механизмов. BAFF-R является специфичным для BlyS и приводит к повышению выживаемости В-клеток путем положительной регуляции антиапоптотического белка, а также способствует росту клеток [45]. TACI и BCMA связываются как с BlyS, так и с APRIL, также противодействуют апоптозу и приводят к переключению классов иммуноглобулинов [90].

BLyS экспрессируется на поверхности моноцитов, нейтрофилов, дендритных, стромальных, активированных Т-клеток, его продукцию стимулируют ИФН альфа и ИЛ-10. BLyS существует в 2 формах: связанной с мембраной и свободной растворимой [140]. По данным многих исследований, BLyS является сильным костимулятором активации В-клеток, индуцирующим пролиферацию, дифференцировку В-клеток. Гиперпродукция BLyS может способствовать развитию аутоиммунных заболеваний за счет генерации ПБ из активированных В-клеток памяти путем повышения их выживаемости [8]. Увеличение или снижение синтеза BLyS может влиять на течение и активность СКВ. Так, у BAFF-дефицитных мышей и мышей, подвергнутых воздействию BAFF-нейтрализующими агентами, развитие В-клеток резко снижалось [91]. В тоже время у BAFF-трансгенных мышей развивалось аутоиммунное заболевание, напоминающее человеческую СКВ. Повышенная экспрессия BLyS привела к появлению аутоиммунных изменений, таких как производство аутоантител к ядерным антигенам, отложение иммунных комплексов в почках, также отмечалась протеинурия, увеличение селезенки, лимфатических узлов, гипергаммаглобулинемия [91, 71].

В клинических исследованиях было показано, что у пациентов с СКВ наблюдается увеличение концентрации BlyS в сыворотке крови [43], которое коррелировало с концентрацией антител к дсДНК и динамикой активности заболевания, по некоторым данным у больных с поражением почек также отмечалось его нарастание [108, 43, 47, 129]. Другие авторы корреляции между уровнем цитокина и индексом активности СКВ не находили [34].

BAFF-R экспрессируется на некоторых Т-клетках и может модулировать активацию Т-клеток и способствовать производству ИФН- γ и ИЛ-17. Исследования на мышах доказали, что отсутствие BAFF-R на Т-клетках непосредственно ингибирует их активацию и снижает секрецию ИФН- γ [124].

В работе A. Davidson установлен провоспалительный эффект BLyS при СКВ, реализуемый посредством стимуляции дендритных клеток, поддержания

выживания моноцитов, а также их дифференцировки в активированные макрофаги [34]. Активированные моноциты и дендритные клетки экспрессируют внутриклеточный TACI, но экспрессия TACI на клеточной поверхности может быть индуцирована и при воспалительных состояниях [30]. Это позволяет дендритным клеткам и моноцитам активировать и привлекать иммунные клетки, а также непосредственно повышает провоспалительную активность Т-клеток (BAFF костимулирует активированные Т-клетки). BLyS часто экспрессируется в органах-мишенях при аутоиммунных заболеваниях и может способствовать усилению тканевого воспаления.

Данные о роли и влиянии BLyS на развитие СКВ послужили обоснованием для выбора этого цитокина в качестве мишени для терапии. Несмотря на это, есть сложности в определении его влияния на развитие и течение СКВ, так как уровень BLyS может меняться под воздействием различных факторов в процессе лечения. Так, использование высоких доз ГК приводит к заметному снижению (до нормальных значений) уровня BLyS в сыворотке крови [129]. Это явление может быть обусловлено прямым воздействием ГК на транскрипцию генов этого цитокина или снижением повышенной экспрессии генов, индуцированных ИФН I типа, который увеличивает продукцию BlyS. При развитии гломерулонефрита может увеличиться выделение BLyS с мочой, что также приводит к снижению его уровня в плазме [108].

Роль APRIL в патогенезе ревматических заболеваний представляется менее значимой и ясной. Так, С. Jacob и соавторы отметили отсутствие существенного влияния APRIL на патогенез СКВ [67]. А комбинированное подавление APRIL и BLyS с помощью TACI-Ig сопровождалось усилением иммуносупрессии без повышения терапевтической эффективности препарата. В то же время W. Treamtrakapron и соавторы на основании выявленной корреляции между уровнем APRIL в сыворотке и степенью тяжести нефрита при СКВ сделали выводы, что повышение концентрации APRIL может быть потенциальным

биомаркером для прогнозирования тяжелых случаев ВН [139]. Однако другие авторы не обнаружили этой взаимосвязи [100]. В исследовании G. Boghdadi и соавторов уровень APRIL в сыворотке у пациентов с СКВ был значительно выше, чем у здоровых людей, причем у пациентов с артритом, поражением слизистых и протеинурией отмечались наиболее высокие уровни этого цитокина [24].

Влияние ГИБП на субпопуляции В-лимфоцитов. Главной задачей ведения пациентов с СКВ служит лечение до достижения цели: ремиссии или минимальной клинической активности заболевания, а также пролонгирование достигнутого положительного эффекта. Современные стратегии управления течением СКВ в значительной степени опираются на неспецифические иммуносупрессоры.

Использование ГК произвело революцию в лечении СКВ в 1950-х гг. и по-прежнему остается в основе лечения заболевания. Применение ГК привело к увеличению выживаемости и радикальному снижению ранней летальности у больных СКВ [148]. С патогенетической точки зрения кортикостероиды оказывают мощный противовоспалительный и иммуносупрессивный эффект неизбирательного действия, влияют как на врожденный, так и приобретенный иммунитет [128]. ГК снижают экспрессию цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6, простагландинов) и молекул адгезии, которые подавляют лейкоциты, фибробласты и эндотелиальные функции клеток [41], Т-лимфоциты [32].

Тем не менее их применение имеет краткосрочные и долгосрочные побочные эффекты. Длительное использование ГК может сопровождаться серьезными неблагоприятными реакциями, которые связаны с влиянием этих препаратов на костно-мышечную систему, гомеостаз, эндокринные железы, сердечно-сосудистую систему и др. [21, 131, 41]. Даже небольшие дозы, принимаемые в течение длительного времени, приводят к росту необратимых органических изменений, и риск повреждения органов и тканей увеличивается по мере эскалации дозы ГК [135, 38]. M. Thamer и соавторы отмечали, что риск развития необратимых органических повреждений у больных увеличивается на 50% при применении средних

доз преднизолона (>6–12 мг в сут.) по сравнению с пациентами, находящимися на терапии низкими дозами ГК [135]. Исследователи сходятся в том, что в современной ревматологии необходимо минимизировать дозу и продолжительность воздействия кортикостероидов [21, 135, 77], что осуществимо при более раннем назначении таргетной терапии.

Назначение иммуносупрессантов, таких как циклофосфан (ЦФ), микофенолат мофетила, азатиоприн и др., а также применение ПТ ЦФ и ГК уменьшило частоту обострений заболевания, улучшило отдаленную выживаемость и позволило эффективно купировать угрожающие состояния, развивающиеся у больных СКВ [144]. В то же время применение высоких доз ГК и ЦФ ассоциируется с повышением риска возникновения тяжелых вирусных и бактериальных инфекций, что ограничивает их назначение при СКВ [114].

Наибольшее влияние иммуносупрессивная терапия (азатиоприн, ЦФ) оказывает на наивные В-клетки, а степень их снижения зависит от интенсивности проводимого лечения [69]. Менее восприимчивы долгоживущие ПК [58, 59]. Кроме того, такой метод терапии может привести к нарастанию В-лимфоцитов памяти [68, 160]. Не до конца ясно, связано это с потерей периферической толерантности или такая реакция является следствием повышенной их активации и дифференцировки из наивных В-клеток. Независимо от этих соображений, увеличенный пул В-клеток памяти представляет большой риск при аутоиммунном заболевании, поскольку они имеют более низкий порог активации [68]. Также сохраняются проблемы среди пациентов, у которых стандартная терапия оказывается неэффективной [21]. Для решения этих вопросов используются новые подходы в терапии с внедрением ГИБП.

Применение ГИБП, направленное на подавление конкретных участников патогенеза, повышает эффективность лечения аутоиммунных ревматических заболеваний, позволяет применять более «мягкие» методы терапии, тем самым способствуя ограничению неблагоприятного действия ГК и цитостатиков,

обеспечивает стероидсберегающий эффект [88]. Условно можно выделить два класса ГИБП: препараты, ориентированные на подавление В-лимфоцитов, и препараты, целью которых являются другие участники врожденного и приобретенного иммунитета. К последним относятся разрабатываемые или уже применяемые при других заболеваниях ГИБП, например, препараты, влияющие на Т-лимфоциты (абатацепт, избирательно блокирующий костимуляцию Т-клеток, не затрагивая другие пути, играющие важную роль в обеспечении протективного иммунного ответа) и цитокины, а именно ИЛ-6 (тоцилизумаб), блокирование ИФН I типа (сифалимумаб) и др., однако степень их эффективности еще предстоит выяснить [79, 75, 2, 6, 107].

Терапевтический эффект анти-В-клеточных препаратов обусловлен деплецией аутореактивных В-клеток, продуцирующих аутоантитела к собственным антигенам. Существуют различные механизмы действия анти-В-клеточных препаратов: нейтрализация факторов выживания BAFF и APRIL (БЛМ, табалумаб), деплеция В-клеток с использованием моноклональных антител, направленных на CD19 (MEDI-551, MDX-1342), CD20 (РТМ, окрелизумаб), CD22 (эпратузумаб) [16, 4]. Определение влияния ГИБП на различные субпопуляции В-лимфоцитов имеет важное значение для подбора терапии и раннего прогнозирования течения заболевания. Учитывая ведущую роль В-лимфоцитов в развитии СКВ, В-клеточная деплеция кажется наиболее привлекательным средством для подавления активности болезни.

Ритуксимаб. Впервые CD20 появляется на стадии пре-В-клетки, далее экспрессируется на мембране зрелых (наивных) В-клеток и В-клеток памяти. На ПК и ПБ CD20 отсутствует [138]. Таким образом, применение РТМ приводит к деплеции зрелых В-клеток, но регенерация и синтез иммуноглобулинов резидуальными ПК сохраняется. По данным литературы, РТМ вызывает практически полную деплецию В-клеток в крови, частичную в костном мозге и лимфатических узлах [138, 118]. Ее продолжительность при СКВ после

стандартного курса терапии составляет в среднем 4–6 мес. [1]. Остаточными CD19+ клетками в момент их более выраженной деплеции являются преимущественно ПК и В-клетки памяти, что может объяснять периодически сохраняющиеся повышенные титры аутоантител после терапии ГИБП [16]. У некоторых пациентов с длительным подавлением ПБ и клиническим ответом также сохранялись высокие титры антител к дсДНК, что, возможно, указывает также на важность В-Т-клеточного взаимодействия [146].

На фоне терапии РТМ наблюдается снижение уровня антител к дсДНК, к кардиолипину IgG и IgM, к C1q за счет подавления В-клеток памяти и зрелых В-лимфоцитов, продуцирующих короткоживущие ПК. Долгоживущие ПК, являющиеся источниками антител к Ro, La, Sm, РНП, длительно персистируют в организме и менее чувствительны к анти-В-клеточной терапии [19].

С иммунологической точки зрения эффективность анти-В-клеточной терапии оценивается по уровню и длительности В-клеточной деплеции [158, 1, 80]. Во многих исследованиях было доказано, что изначальное отсутствие ответа у пациентов с СКВ связано с неполным удалением В-лимфоцитов [88, 13, 145], в то время как полная деплеция после одного или нескольких курсов приводила к стойкому клиническому эффекту [134, 63, 126]. Более короткий период В-клеточной деплеции наблюдается у пациентов с высоким базальным уровнем аутореактивных В-лимфоцитов [143]. В исследовании М. Yusof и соавторов продемонстрировано, что полная деплеция на фоне терапии РТМ достигнута у тех пациентов, которые имели изначальное низкий уровень ПК при высоких титрах антител к дсДНК и нормальных показателях С3 и С4 компонентов комплемента [158]. Любопытной особенностью являлось отсутствие различий в группах с полным и неполным удалением В-лимфоцитов и частотой тяжелой инфекции.

Сроки, в течение которых происходит рецидив СКВ, могут быть предсказаны по уровню субпопуляций В-клеток памяти и ПБ после инфузии РТМ. Е. Vital и соавторы обратили внимание, что рецидив заболевания не происходил вплоть до

начала их репопуляции [146]. Обострение СКВ ассоциировалось при нарастании количества ПК выше $0,0008 \times 10^9/\text{л}$ в течение 6 мес., а больные с низким их содержанием имели стойкий клинический ответ. Эти результаты были подтверждены позже М. Yusof и соавторами [158]. J. Anolik и соавторы продемонстрировали результаты исследований, в которых клинический ответ был связан с неполным восстановлением В-клеток памяти [14]. Эти лимфоциты могли сохраняться на низком уровне в течение нескольких лет, что приводило к уменьшению количества ПК, синтезирующих аутоантитела. При дальнейшем наблюдении, через 1 год после инфузии РТМ, происходило нарастание доли наивных В-клеток [16]. Отсутствие деплеции и ответа при повторных курсах РТМ может быть связано с более высоким содержанием ПК до введения ГИБП, а также отсутствием сопутствующей иммуносупрессивной терапии [158].

Таким образом, клиническая эффективность РТМ во многом зависит от изначального уровня В-лимфоцитов, степени и длительности деплеции, скорости восстановления В-клеток памяти и ПБ.

Белимумаб. БЛМ — полностью человеческие рекомбинантные моноклональные антитела (IgG1 λ), предотвращающие взаимодействие BlyS с клеточными рецепторами аутореактивных В-лимфоцитов. Показаниями для назначения БЛМ при СКВ являются высокая или умеренная активность заболевания, наличие выраженных иммунологических нарушений (положительные результаты определения антинуклеарного фактора (АНФ) и/или антител к дсДНК, снижение С3, С4 компонентов комплемента) и недостаточная эффективность стандартной терапии [102, 48, 133]. Отмечено, что наилучший ответ на терапию достигается у пациентов с выраженной гипокомплементемией и высокими титрами антител к дсДНК [128].

Лечение БЛМ приводит к снижению числа наивных и переходных В-клеток с умеренным снижением количества ПК [70], что подавляет характерную для СКВ В-клеточную гиперреактивность, в частности синтез аутоантител [20]. В

экспериментальных исследованиях было показано, что максимальное снижение числа плазмоцитов достигается на 13–26-й нед. лечения, однако эти явления были обратимыми (через 5 мес. после отмены препарата) [56]. Кроме того, блокада BlyS может приводить к снижению выживаемости В-клеток в ростковых центрах лимфоидных органов, снижению дифференцировки В-клеток памяти в аутоантителопродуцирующие клетки и синтеза провоспалительных цитокинов: ИЛ-21, ИЛ-17 и др., которые играют важную роль в иммунопатогенезе СКВ. В наблюдении W. Stohl и соавторов отмечено сокращение количества наивных, активированных В-клеток, ПК, в то время как концентрация популяций В- и Т-клеток памяти не изменялась [128]. В этом же исследовании было упомянуто, что терапия БЛМ существенно не влияла на содержание антипневмококковых антител и антител к столбнячному анатоксину.

Лечение высокими дозами ГК приводит к сокращению (до нормальных значений) уровня BAFF в сыворотке крови. Попытки снижения дозы препарата у части больных могут привести к рецидиву СКВ за счет увеличения уровня BlyS. Таким образом, назначение ингибиторов BlyS позволяет постепенно снизить дозу ГК с минимальным риском обострения заболевания, а также способствует предотвращению нежелательных явлений, обусловленных системным действием последних [5]. Эти данные были подтверждены в исследованиях, где группе пациентов, получавших БЛМ, удалось уменьшить дозу преднизолона без проявлений рецидива заболевания на 60–96% по сравнению с плацебо [129].

Результаты исследований на нескольких различных аутореактивных В-клеточных трансгенных моделях свидетельствуют о том, что эффект избыточной продукции BAFF на селекцию наивных В-клеток может быть вариабельным, и не все аутореактивные В-клетки одинаково чувствительны к ингибированию BlyS [60, 104]. Помимо этого, уровень BlyS в крови может изменяться в зависимости от различных факторов, которые были описаны выше. Таким образом, БЛМ в ряде

случаев может быть неэффективным, сохраняется проблема выявления пациентов, которые будут наиболее чувствительны к анти-BlyS терапии.

Комбинированная терапия ГИБП. Предпосылками для комбинации ГИБП у больных СКВ служат различные механизмы действия РТМ и БЛМ, в частности их взаимодействие с определенными субпопуляциями В-клеток. К РТМ чувствительны преимущественно наивные В-клетки и В-клетки памяти [101], но не ПК; в свою очередь, БЛМ, блокируя BlyS, воздействует на транзиторные, наивные В-клетки и ПК, а также на В-клетки маргинальной зоны [22]. Терапия РТМ приводит к деплеции В-клеток, однако одновременно с этим через 3–4 мес. в плазме в несколько раз увеличивается уровень BlyS, а по некоторым данным, его концентрация в периферической крови превосходила исходные значения (до применения ГИБП) [28, 142]. Такое увеличение цитокина после деплеции В-клеток может быть связано с уменьшением рецепторов связывания BAFF или замедлением обратной регуляции транскрипции генов BAFF [78].

Различные перекрывающие друг друга механизмы способствуют более эффективному подавлению аутореактивных В-клеток. Применение комбинированной терапии способствует не только эффективной деплеции В-клеток с момента подключения РТМ [138, 118], но и подавляет формирование новых аутореактивных клеток после присоединении БЛМ, благодаря снижению выживаемости, а также дифференцировки В-клеток памяти в аутоантитело-продуцирующие клетки [128], тем самым приводя к терапевтическому эффекту, и последующему достижению и поддержанию ремиссии.

В экспериментах на (NZB/NZW) F1 мышах лечение коротким курсом (в 4 нед.) комбинацией антител к CD20 и BlyS обеспечивает лучший эффект по сравнению с монотерапией [83, 22]. Так, W. Lin и соавторы сделали выводы, что двойная анти-В-клеточная терапия обеспечивает значительное улучшение течения и выживаемости при СКВ; достигается наиболее эффективная деплеция тканевых и циркулирующих аутореактивных В-клеток, включая В-клетки маргинальной

зоны, ПБ и ПК; снижается содержание широкого спектра аутоантител, включая несколько изотипов IgG; уменьшается инфильтрация почек активированными Т-клетками [83].

Т. Kraaij и Т. Huizinga представили два клинических случая, где пациентам с высокой активностью СКВ и превалированием ВН (суточная протеинурия 8 и 9,8 г в сут. соответственно) была выполнена инфузия РТМ (1000 мг) с последующим ведением больного на терапии БЛМ (в дозе 10 мг/кг 1 раз в 2 нед. 3 инфузии, далее 1 раз в мес.) [73]. На фоне проведенного лечения достигнуто уменьшение протеинурии (0,9 и 1,5 г в сут.), увеличение содержания С3, С4 компонентов комплемента, снижение уровня антител к дсДНК и поддержание количества аутореактивных В-клеток на низком уровне. На протяжении 12 мес. наблюдения сохранялась минимальная активность заболевания (SLEDAI 6–4). В наблюдении F. Simonetta и соавторов также было отмечено, что последовательное применение РТМ и БЛМ у пациентки с ВН способствовало более эффективному подавлению активности СКВ, что обосновывалось ингибированием pBlyS на фоне лечения БЛМ после достижения В-клеточной деплеции, достигнутой после введения РТМ [127]. В другом исследовании S. De Vita и соавторы продемонстрировали высокую эффективность комбинации последовательных курсов РТМ (375 мг/м² 1 раз в нед. № 4) и БЛМ (10 мг/кг 1 раз в мес.) у больного с синдромом Шегрена, осложненного лимфомой и криоглобулинемическим язвенно-некротическим васкулитом [35]. Стойкая регрессия лимфомы и полное купирование васкулита сохранялось в течение 3,5 лет наблюдения, отмечено исчезновение криоглобулинов, нормализация уровня РФ, С4 компонента комплемента и ВАФФ в сыворотке крови. Комбинированная терапия у этой пациентки не сопровождалась неблагоприятными реакциями. В настоящий момент ведутся два перспективных клинических исследования (NCT02260934; NCT02284984), целью которых является определение эффективности последовательного сочетания РТМ и БЛМ у больных СКВ [127].

Таким образом, при подробном анализе клеточных субпопуляций получены позитивные результаты, на основании которых определены возможные предикторы эффективности терапии и обострения СКВ. Эти данные могут помочь в более раннем прогнозировании течения заболевания, что позволит предупредить рецидив СКВ, а также способствовать более глубокому пониманию патогенеза заболевания и роли определенных субпопуляций В-клеток при различных субтипах СКВ. Однако исследований, ориентированных на выявление В-лимфоцитов и их гомеостаз, крайне мало, и лишь отдельные теории получили подтверждение в виде единичных результатов [146, 158, 68, 160, 16]. В этой связи требуется дальнейшее изучение динамики субпопуляций В-лимфоцитов с целью выявления надежных биомаркеров течения СКВ, с определением предикторов неэффективности терапии, а также возможным уточнением и подтверждением выдвинутых ранее гипотез (таблицы 4, 5).

Таблица 4. Особенности гомеостаза субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ

Автор	Количество пациентов	CD19+ В-лимфоциты и субпопуляции	Вывод
J. Kosalka и др. [72]	32 с СКВ, 23 — здоровые доноры	низкие непереключенные В-клетки памяти, высокие переключенные В-клетки памяти, высокие ДН В-клетки памяти	ВН
C. Wei и др. [150]	—	высокие ДН В-клетки памяти	ВН, антитела к дсДНК, антитела к Sm, РНП
A. Jacobi и др. [68]	122	ДН В-клетки памяти	высокое содержание ДН В-клеток при СКВ
J. Anolik [16]	49	ДН В-клетки памяти	высокое содержание при СКВ
L. Zhu и др. [160]	150 СКВ, 50 ЗД	ДН В-клетки памяти	высокое содержание при СКВ
A. Jacobi и др. [69]	60	высокое содержание ПК	антитела к Ro, к La, к Sm, активность СКВ
		CD19+	нет зависимости от возраста/пола или длительности течения СКВ

Таблица 5. Возможные предикторы ответа и эффективности терапии ГИБП среди субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ

Автор	Количество пациентов	Дозировка, длительность наблюдения	CD19+ В-лимфоциты и субпопуляции	Вывод
T. Vallerskog и др. [143]	11	4 инфузии — 375 мг/м ² в нед., 6–30 мес.	высокое базальное содержание В-клеток	короткий период клеточной деплеции
S. Dias и др. [36]	98	РТМ по 1000 мг × 2 раза, 12 мес.	длительная деплеция В-лимфоцитов	клиническое улучшение
M. Lazarus и др. [80]	61	РТМ по 1000 мг × 2 раза, 12 мес.	быстрая репопуляция В-лимфоцитов; высокое содержание ПБ и ДН В-клеток	обострение СКВ; обострение при высоком количестве антител к дсДНК, при низком количестве антител к дсДНК
E. Vital и др. [146]	39	РТМ по 1000 мг × 2 раза, 6 мес.	восстановление В-клеток памяти и ПБ до 26 нед.	раннее обострение
M. Yusof и др. [158]	117	РТМ по 1000 мг × 2 раза, 6 мес.	низкое содержание ПК / высокие антитела к дсДНК / нормальные значения С3, С4 компонентов комплемента	полная деплеция В-клеток
			высокое содержание ПК	отсутствие деплеции В-клеток
J. Anolik и др. [14]	15	РТМ: 1 инфузия 100 мг/м ² ; 1 инфузия 375 мг/м ² ; 4 инфузии 375 мг/м ² в нед., 41 мес.	неполное восстановление В-клеток памяти	хороший клинический ответ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в лаборатории интенсивных методов терапии ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (зав. лабораторией — докт. мед. наук проф. С. К. Соловьев). Программа исследования одобрена локальным этическим комитетом, тема диссертации — ученым советом ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой». В исследование включены 75 больных с достоверным диагнозом СКВ, удовлетворявших диагностическим критериям SLICC 2012 г. Пациенты, вошедшие в исследование, прошли консультацию и госпитализацию в ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой в период с 2014 по 2017 г. Пациенты до 18 лет находились на стационарном лечении в детском ревматологическом отделении, где врачами-педиатрами осуществлялся осмотр, оценка активности, подбор терапии, последующее наблюдение. С лечащими врачами обсуждались результаты обследования. Остальные больные наблюдались в 4-м и 5-м ревматологических отделениях. Решение о назначении анти-В-клеточной и анти-BLyS терапии больным СКВ принималось на медицинской комиссии ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой по назначению ГИБП. Все больные подписали информированное согласие. Группа контроля состояла из 20 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу.

Критериями включения в исследование являлись:

1. Достоверный диагноз СКВ согласно критериям SLICC (2012 г).
2. Активность заболевания не менее II степени (В. А. Насонова), по критериям SLEDAI-2K — не менее 6 баллов.

3. Исследование базального уровня В-лимфоцитов и иммунологических показателей крови до проведения терапии ГИБП.

4. Показания для назначения терапии ГИБП.

5. Информированное согласие пациента

Критериями исключения являлись:

1. Заболевание, соответствующее I степени активности по В. А. Насоновой и критериям SLEDAI-2K (менее 6 баллов) или ремиссия СКВ.

2. Беременность или лактация.
3. Низкие базальные уровни В-лимфоцитов (<1%).
4. Противопоказания для назначения ГИБП.
5. Некомплаентность пациента.
6. Отсутствие подписанного информированного согласия.

2.1. Характеристика больных, включенных в исследование

Общая характеристика. Группа больных СКВ состояла из 75 больных: 70 женщин (93%) и 5 мужчин (7%). Из них 67 пациентов в возрасте от 18 до 68 лет, 8 пациентов до 18 лет, медиана (Me) возраста всей группы составляла 33 [25; 40] лет. Основная часть больных — пациенты от 18 до 39 лет (62%). Длительность заболевания к моменту включения в исследование варьировала от 2 мес. до 38 лет. Интервал с манифестации СКВ до включения в исследование составлял до 1 года у 10 человек, от 1 до 9 лет — у 48, более 10 лет — у 17. У большего числа больных (78%) наблюдалось тяжелое обострение, активность заболевания соответствовала III степени по классификации В. А. Насоновой, индекс активности по SLEDAI-2K соответствовал 14 [10; 18], по BILAG — 17 [13; 22]. Больше чем у трети пациентов к моменту включения в исследование имелись необратимые органические повреждения (минимальный балл — 1, максимальный — 6) (таблица 6).

Таблица 6. Общая характеристика пациентов, включенных в наблюдение ($n=75$)

Параметры	Количество больных	
	<i>n</i>	%
Пол:		
- женский	70	93
- мужской	5	7
Возраст на момент включения в исследование:		
- 11–17 лет	8	11
- 18–29 лет	17	22
- 30–39 лет	29	39
- 40–49 лет	12	16
- 50 лет и более	9	12

Параметры	Количество больных	
	<i>n</i>	%
Возраст в дебюте СКВ:		
- до 18 лет	19	25
- более 18 лет	56	75
Длительность заболевания:		
- 0–11 мес.	10	13
- 1–5 лет	32	43
- более 5 лет	33	44
Течение заболевания:		
- острое	19	25
- подострое	20	27
- хроническое	36	48
Степень активности по В. А. Насоновой:		
- II	17	22
- III	58	78
SLICC индекс повреждения ≥ 1 балла	29	40
Степень активности, баллы Me [25-й; 75-й перцентили]:		
- SLEDAI-2K	14 [10; 18]	
- BILAG	17 [13; 22]	
Антифосфолипидный синдром	4	5
Синдром Шегрена	10	13

Клинические проявления СКВ. Наиболее часто наблюдались поражение суставов (44%), кожи (39%), почек (36%). Среди пациентов с поражением почек у 6 из 27 человек был нефротический синдром с протеинурией более 3 г в сут., гипопроteinемией и гипоальбуминемией, гиперлипидемией (холестерин более 6,5 ммоль/л), у 5 из которых выявлялись отеки. У 10 больных (12%) проявления со стороны нервной системы характеризовались органическими мозговыми синдромами (нарушение памяти, ориентации), психозами (алогичное мышление), мигреноподобными головными болями, неподдающимися купированию анальгетиками, интеллектуально-мнестическими нарушениями, а также явлениями полинейропатии. Пациенты с явлениями васкулита чаще имели язвенно-некротические изменения кожи, в меньшей степени криоваскулит. Перикардит, подтвержденный инструментальными методами исследования, встречался у 28%, тогда как плеврит — только у 16% больных (таблица 7).

Таблица 7. Клинические проявления СКВ до начала терапии ГИБП ($n=75$)

Симптомы	Количество больных	
	<i>n</i>	%
Поражение кожи	29	39
Язвы слизистой рта и/или носа	24	32
Алопеция	19	25
Артрит	33	44
Лихорадка	8	11
Перикардит	21	28
Плеврит	12	16
Нефрит (протеинурия $\geq 0,5$ г в сут. и/или эритроцитурия и/или цилиндрурия)	27	36
Поражение нервной системы:		
- центральная нервная система	6	8
- полинейропатия	4	5
Васкулит	7	9

Лабораторные данные. До начала терапии ГИБП ведущим гематологическим нарушением выступала анемия, которая выявлялась у 56% больных (гемоглобин от 6,7 до 11,8 г/л, Ме 10,2 [8,7; 10,9] г/л). У 39% зарегистрировано увеличение скорости оседания эритроцитов, уровень которой колебался от 20 до 110 мм/ч (Ме 37 [30; 50] мм/ч). Лимфопения отмечалась у 29% больных (Ме 0,62 [0,55; 0,8] $\times 10^9$ /л), у меньшего процента — лейкопения (количество варьировало от 1,7 до 3,2 $\times 10^9$ /л, Ме 2,3 [2; 2,9] $\times 10^9$ /л) и тромбоцитопения (минимальные значения — 23 $\times 10^9$ /л, максимальные — 88 $\times 10^9$ /л, Ме 64 [58; 78] $\times 10^9$ /л). Среди пациентов с поражением почек протеинурия с изменением мочевого осадка отмечалась у 14 (19%) (от 0,6 до 4,2 г в сут., Ме 0,9 г в сут.). Изолированной протеинурии не было ни у одного больного. У других 12 (16%) человек выявлялось только изменение мочевого осадка, связанное с активностью СКВ. Снижение СКФ (ниже 70 мл/мин), нарушение азотовыделительной функции зарегистрировано у 5 (7%) больных (от 21 до 66 мл/мин, Ме 45,3) (таблица 8).

Таблица 8. Лабораторные показатели крови и мочи до терапии ГИБП, $n=75$

Гематологические показатели	Количество больных	
	<i>n</i>	%
Анемия (Hb<120 г/л)	42	56
Прямая проба Кумбса ($n=47$):		
- изолированная положительная проба Кумбса	11	14
- гемолитическая анемия	2	2,5
Лейкопения ($<3 \times 10^9/\text{л}$)	10	13
Лимфопения ($<1 \times 10^9/\text{л}$)	22	29
Тромбоцитопения ($<100 \times 10^9/\text{л}$)	5	6
Увеличение скорости оседания эритроцитов (>20 мм/ч)	28	37
Креатинин крови (>100 мкмоль/л)	5	6
Изменения в анализах мочи, связанные с активным ВН:		
- протеинурия	14	19
- эритроцитурия	23	31
- пиурия	22	29
- цилиндрурия	13	17
- снижение СКФ менее 70 мл/мин	5	6

Высокая иммунологическая активность наблюдалась у большинства пациентов. Положительный АНФ her-2 определялся у 99%, а высокий титр антител к dsДНК — у 91% (Me 258 [92; 300] Ед/мл). Снижение С3 (71%) и С4 (60%) компонентов комплемента также отмечалось у значительного количества пациентов и медиана значений составляла 0,61 [0,48; 0,73] г/л и 0,06 [0,037; 0,075] г/л соответственно. Позитивные антитела к Sm обнаружены у 13 из 29 больных. В трети случаев отмечено нарастание С-реактивного белка (СРБ), не связанное с инфекционным процессом от 6,4, Me 12 [9; 19,8] Мг/л. Превалирующими клиническими проявлениями у таких пациентов был артрит (52%) и/или поражение почек (52%), был один пациент с поражением легких.

Среди 42 больных антитела к Ro антигенам выявлены у 20 пациентов, антитела к La — у 7 пациентов, из них с достоверным синдромом Шегрена были 10 больных. Нарастание антикардиолипидных антител, антител к β 2-ГП отмечено у 7 больных, у 4 из которых диагностирован антифосфолипидный синдром. У 7 больных отмечено снижение иммуноглобулинов (Ig) различных классов, преимущественно IgG (6,25%), у одного больного наблюдался дефицит IgG и IgA,

тем не менее признаков инфекции у него не было зафиксировано. У других 16 регистрировалось увеличение IgG выше референсных значений, Me 21,4 [19,1; 26,5] г/л (таблица 9).

Таблица 9. Иммунологические показатели крови у 75 больных СКВ

Иммунологические показатели	Количество больных	
	<i>n</i>	%
АНФ Нер2 (<1/160), <i>n</i> =75	73	99
Антитела к дсДНК (0-20 Ед/мл), <i>n</i> =75	68	91
Снижение С3 (0,9–1,8 г/л), <i>n</i> =74	58	71
Снижение С4 (0,1–0,4 г/л), <i>n</i> =74	43	60
СРБ (0–5 Мг/л), <i>n</i> =72	24	33
Анти-Ro антитела (0–25 Ед/мл), <i>n</i> =39	20	51
Анти-La антитела (0–25 Ед/мл), <i>n</i> =37	7	18
Антикардиолипидные антитела (0–23 Ед/Мл), <i>n</i> =35	6	24
Антитела к β 2-ГП (0–9,0 Ед/Мл), <i>n</i> =25	6	24
Криоглобулинемия, <i>n</i> =10	6	60
IgG (7–16 г/л), <i>n</i> =61:		
- повышение IgG	16	26
- снижение IgG	4	7
Снижение IgM (0,4–2,3 г/л), <i>n</i> =43	1	2
Снижение IgA (0,7–4,0 г/л), <i>n</i> = 41	3	7

Примечание: *n* — количество больных, которым было выполнено исследование.

Терапия больных СКВ. В анамнезе 13 пациентов ранее не получали терапию по основному заболеванию. Остальные 62 больных находились на лечении с применением ГК *per os*, из них более 64% — в высоких и сверхвысоких дозах (≥ 30 мг в сут., Me 40 [30; 50] мг в сут.), остальные — в средних и низких (<30 мг в сут., Me 20 [12,5; 20] мг в сут.). Более чем у половины пациентов ввиду активности СКВ проводилась ПТ 6-метилпреднизолоном (Me 4 [2; 6] г), и у трети такая терапия сопровождалась комбинацией с ЦФ (Me 2,4 [1; 6] г). Часть больных (46%) получала иную терапию с применением микофенолата мофетила, азатиоприна, метотрексата. 10 пациентам за 1–6 лет до начала исследования вводился РТМ от 1000 до 5000 мг суммарно. К включению в исследование у последних активность СКВ по SLEDAI-2К — Me 9 [8; 12] баллов, из них только у

2 выявлялся активный ВН, у остальных — преимущественно кожно-суставные проявления СКВ.

К моменту включения в исследование все пациенты получали ГК *per os*, из них 80% — средние и низкие дозы (Ме 10 [7,5; 16]), и только 20% — высокие дозы (Ме 42 [32; 50] мг в сут.). Половина больных получала иммуносупрессивную терапию. При инициации ГИБП 55 пациентам (73%) в качестве премедикации вводился 6-метилпреднизолон, по показаниям у 18 проводилась трехдневная ПТ метилпреднизолоном (от 0,25 до 3 г) и у 12 такая терапия сопровождалась синхронным введением ЦФ (таблица 10).

Таблица 10. Терапия больных СКВ, $n=75$

Препарат	Предшествующая терапия		Терапия на момент включения в исследование	
	n	%	n	%
ГК:				
<7,5 мг в сут.	1	1	15	20
7,5 — 30 мг в сут.	13	18	45	60
≥ 30 мг в сут.	48	64	15	20
ПТ метилпреднизолоном	42	56	55	73
ПТ ЦФ	23	31	12	16
Микофенолата мофетила	11	14	15	20
Азатиоприн	21	28	8	10
Метотрексат	14	18	4	5
Противомалярийные препараты	38	51	45	60
Внутривенный иммуноглобулин	9	12	7	9
РТМ	10	13	—	—

Примечание: предшествующая терапия не проводилась у 13 (17%) пациентов.

2.2. Методы исследования

Длительность наблюдения составляла 12 мес., в течение которых было осуществлено 4 контрольных визита на 3, 6, 9 и 12-м мес. Во время каждого визита больным проводилась оценка активности заболевания, стандартное обследование,

принятое при ведении пациентов с СКВ: клинический, биохимический анализ крови, анализы мочи и иммунологический анализ крови (антитела к дсДНК, С3, С4 компоненты комплемента, АНФ, IgG, IgA, IgM). При необходимости проводилась рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эхокардиографическое исследование сердца. До введения ГИБП и во время каждого визита был осуществлен забор крови с целью определения процентного и абсолютного содержания субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови.

Определение активности заболевания было осуществлено с применением индекса активности SLEDAI-2K [52], где низкая степень активности соответствовала 1–5 баллам, средняя — 6–10, высокая — 11–19, очень высокая — 20 баллам и больше. Также при помощи индекса активности BILAG-2004 (модификация Yee Chee Seng 2009 г.) осуществляли оценку по 9 органам и системам, после подсчета баллов присваивали соответствующую кодировку: класс D/E=0, C=1, B=8 A=12 баллов, а также производился общий счет по баллам [155, 156].

Эффективность терапии оценивалась с применением таких понятий, как частичный ответ, полный ответ или обострение. Полный ответ — SLEDAI-2K составлял менее 4 баллов, доза ГК не более 0,1 мг/кг, отмена цитостатиков, отсутствие поражения органа, соответствующее классу A/B BILAG, частичный ответ — снижение индекса SLEDAI-2K ≥ 4 балла, снижение дозы ГК более чем на 25% от исходной, наличие не более 2 BILAG B счета, отсутствие нового поражения органа, соответствующее классу A BILAG [158, 111]. Обострение оценивалось при помощи индекса обострения СКВ как умеренное и тяжелое [111].

Клинический анализ, биохимический анализ крови и анализ мочи проводились в биохимической лаборатории ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (зав. лабораторией — канд. биол. наук Л. Н. Кашникова). Иммунологический анализ периферической крови и определение субпопуляций В-лимфоцитов выполнялись в лаборатории клинической иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (зав. лабораторией — докт. мед. наук Е. Н. Александрова). АНФ определяли методом непрямой

иммунофлюоресценции с использованием в качестве субстрата Hep2 клеток человека (ImmcoDiagnostics, США). Нормой считался уровень $<1/160$ согласно рекомендациям фирмы производителя. Антитела к дсДНК, Sm, Ro и La, РНП, антикардиолипиновые антитела (IgG и IgM) и антитела к β 2ГП1 (IgG и IgM) определяли с использованием коммерческих тест-систем (Orgentec Diagnostica, Германия) методом иммуноферментного анализа. Референсные значения соответствовали для антител к дсДНК от 0 до 20 Ед/мл, для антител к Sm, Ro, La антигенам и РНП — от 0 до 25 Ед/мл. Результаты антикардиолипиновых антител IgG и IgM выражались в международных единицах концентрации GPL и MPL соответственно, верхняя граница нормы составляла 23 и 26 соответственно. Для антител к β 2ГП1 IgG/IgM норма составляла до 9 Ед/мл. IgG/IgA/IgM, C3, C4 компоненты комплемента, СРБ определяли иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия). Для определения СРБ использовался высокочувствительный тест с латексным усилением (чувствительность 0,175 мг/л), верхняя граница нормы составляла 5,0. Референсные значения для C3 и C4 компонентов комплемента соответствовали 0,9–1,8 г/л и 0,1–0,4 г/л, для IgG — 7,0–16,0 г/л, IgM — 0,4–2,3 г/л, IgA — 0,7–4,0 г/л согласно данным фирмы производителя.

Субпопуляции В-лимфоцитов определялись в периферической крови методом многоцветной проточной цитофлуориметрии с использованием панели моноклональных антител к поверхностным мембранным маркерам В-лимфоцитов. Оценку результатов четырехцветного окрашивания В-лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре Beckman Coulter NAVIOS™ (Beckman Coulter, США). Для каждого анализа подсчитано 50 000 событий. В-клеточные популяции идентифицировали с помощью программного обеспечения СХР (Beckman Coulter, США). При гейтировании по горизонтальной и вертикальной осям определяли процентное содержание лимфоцитов (CD45+) и В-клеток (CD19+), а на основании экспрессии поверхностных мембранных маркеров IgD, CD20, CD27, CD38, CD10 и CD138 проводили количественное определение субпопуляций В-клеток. Исследовали абсолютное количество CD19+ В-клеток, В-клеток памяти (CD19+, CD27+), непереключенных (CD19+, IgD+, CD27+) и переключенных (CD19+,

IgD⁻, CD27⁺) В-клеток памяти, наивных (CD19⁺, IgD⁺, CD27⁻), транзиторных (CD19⁺, IgD⁺, CD10⁺, CD38⁺⁺, CD27⁻) В-клеток, плазмобластов (CD19⁺, CD38⁺⁺⁺, IgD⁻, CD27⁺, CD20⁻), плазматических клеток (CD19⁺, CD38⁺), ДН В-клеток (CD19⁺, CD27⁻, IgD⁻) [1, 9]. Согласно рекомендациям фирмы-изготовителя нижняя граница нормы CD19⁺ В-клеток составляла 6%.

Рентгенография грудной клетки выполнялась в рентгенологическом отделении ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (руководитель — докт. мед. наук Л. А. Божьева). Электрокардиографическое, эхокардиографическое и ультразвуковое исследование внутренних органов проводилось в лаборатории функциональной диагностики ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (руководитель — канд. мед. наук А. В. Волков).

Схема терапии ГИБП. После проведенного обследования пациенты получали ГИБП. Терапия проводилась в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии с применением инфузомата под контролем медицинского персонала (руководитель — канд. мед. наук Е. В. Николаева). Назначение ГИБП (РТМ) 13 больным, ранее не получавшим терапию ГК, было обусловлено высокой активностью СКВ, наличием сопутствующих заболеваний, ограничивающих возможность применения стандартной терапии в полном объеме, неблагоприятным жизненным прогнозом. Причиной терапии ГИБП у остальных 62 человек была неэффективность высоких доз ГК и цитостатиков.

Выбор и тактика назначения ГИБП осуществлялись согласно клиническим рекомендациям. В дальнейшем динамически наблюдались 64 пациента (таблица 11), из них РТМ получали 47 пациентов в дозе от 500 до 2000 мг внутривенно капельно (доза 500 мг у 10 больных, 1000 мг — у 34, 2000 мг — у 3). При повторных визитах (через 3, 6, 9 и 12 мес.) 21 пациенту повторно ввели РТМ в дозе от 500 до 1000 мг внутривенно капельно (таблица 12). 10 больным назначался БЛМ в дозе 10 мг/кг массы тела. Другим 7 пациентам проводилась комбинированная терапия РТМ и БЛМ. Им вводился РТМ в дозе 500 (2 больных) или 1000 мг (5 больных), а через 3 мес. назначался БЛМ по стандартной схеме 10 мг/кг 1 раз в мес. в течение 8 мес. (рисунок 1).

Выбор ГИБП обосновывался степенью и тяжестью течения СКВ. РТМ получали больные с поражением почек, нервной системы, глубокой тромбоцитопенией. Индекс активности по SLEDAI-2K у них составлял Me 16 [11; 20], по BILAG — Me 18 [14; 25] баллов, а доза пероральных ГК — Me 15 [10; 29] мг/кг. БЛМ применялся у больных с кожно-слизистыми, суставными поражениями, имеющих гематологические нарушения и высокую иммунологическую активность. Исходный индекс активности был по SLEDAI-2K Me 10 [8; 11], BILAG Me 16 [12; 17] баллов, они получали средние дозы пероральных ГК — 15 [5; 20] мг в сут. Пациентам, получавшим комбинированную терапию РТМ и БЛМ, назначались низкие и средние дозы ГК от 5 до 20 мг в сут. (Me 10 [5; 15] мг в сут.). В половине случаев они имели высокую степень активности заболевания (по SLEDAI-2K — Me 10 [9; 16], BILAG — Me 17 [10; 18]), из них 1 больной с поражением почек, 2 — с явлениями васкулита. Повторные курсы РТМ в период наблюдения не проводились.

В-клеточная деплеция CD19+ В-лимфоцитов после курса РТМ оценивалась через 3 мес., где 0% — полная деплеция, от 0,1 до 0,5% — частичная деплеция, >0,5% — отсутствие деплеции. Репопуляцией В-лимфоцитов считалось их восстановление более 1% у больных, которые достигли полной или частичной деплеции.

Таблица 11. Исходные и повторные визиты, количество пациентов

Визит	РТМ	БЛМ	РТМ и БЛМ	Всего
Исходно	47	10	7	64
3 мес.	47	10	7	64
6 мес.	42	7	7	56
9 мес.	31	5	7	43
12 мес.	34	5	5	44

Таблица 12. Повторные инфузии РТМ

Визит	Повторные инфузии РТМ	
	500 мг	1000 мг
3 мес.	2	1
6 мес.	5	6
9 мес.	3	5
12 мес.	2	1

Схема терапии ГИБП и основные этапы контроля

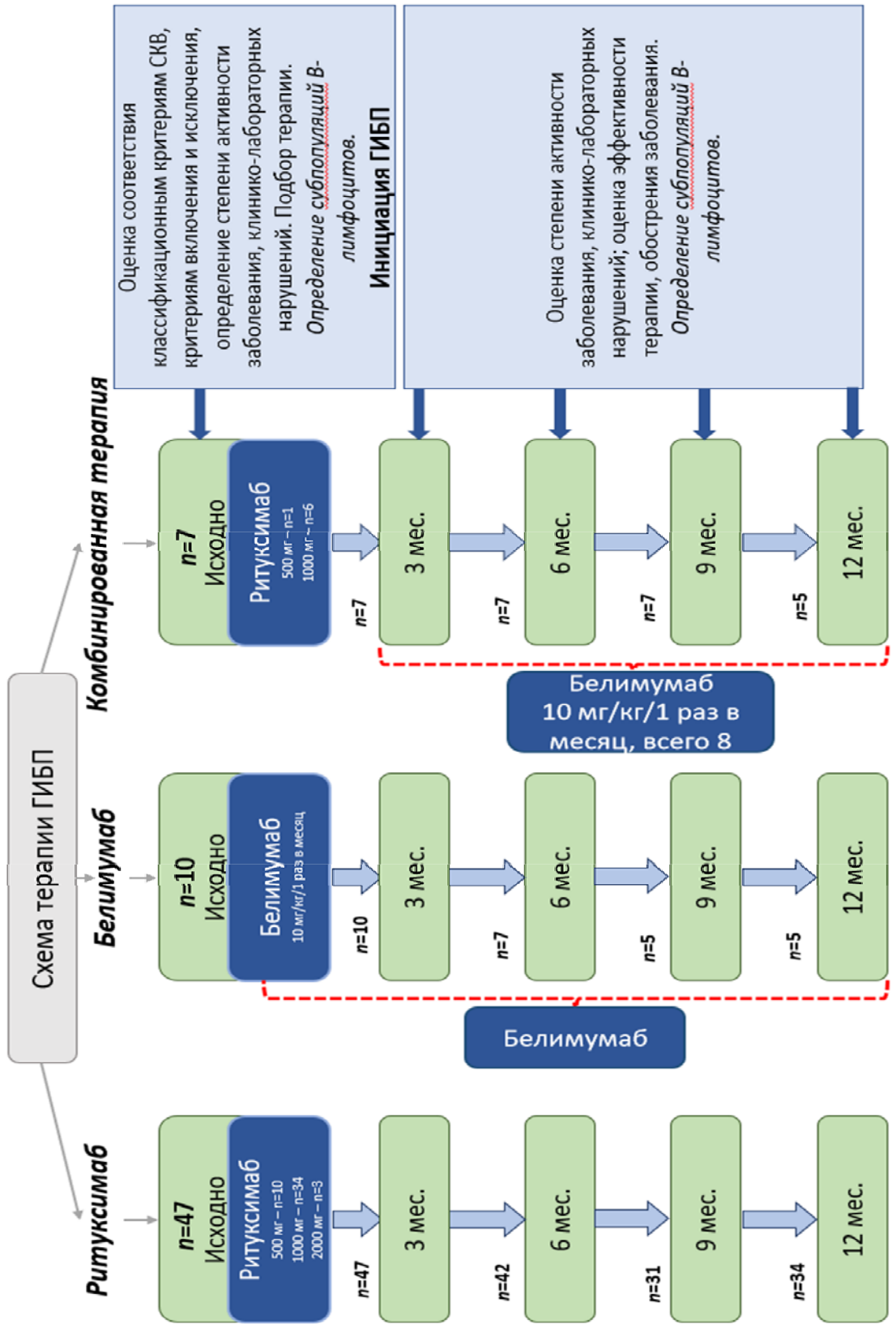


Рисунок 1. Схема терапии ГИБП и основные этапы контроля

2.3. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов проводилась с применением программы Statistica 7.0 (StatSoft, США), включая методы непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовался U критерий Манна — Уитни, при сравнении трех групп использовались критерии Краскела — Уоллиса, результаты представлены в виде медианы [Me] [25; 75 перцентили]. Применялись также методы описательной статистики. Корреляционный анализ проводился с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая значимость определялась как $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При оценке гомеостаза субпопуляций В-лимфоцитов пациенты с СКВ были разделены на группы в зависимости от предшествующей терапии, длительности заболевания, активности СКВ и другим параметрам. В связи с тем, что лечение ГИБП (РТМ) отдаленно могло влиять на определенные субпопуляции В-лимфоцитов, 10 из 75 пациентов, ранее получавшие РТМ, были отнесены в отдельную группу, которая в последующем была сопоставлена со здоровыми донорами и 65 больными СКВ, получавшими стандартную терапию.

3.1. Базальная оценка субпопуляций В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой и здоровых доноров

При оценке общего исходного содержания CD19+ В-лимфоцитов у 75 пациентов с СКВ и здоровых доноров достоверных различий не было. Тем не менее следует учесть, что у больных СКВ процентное содержание CD19+ В-лимфоцитов варьировало от 2,3 до 39,4%, тогда как у здоровых доноров такой разброс составлял от 3,4 до 14,3%. Уровень циркулирующих субпопуляций В-лимфоцитов не зависел от возраста больных. В таблице 13 представлено абсолютное и процентное содержание различных субпопуляций В-лимфоцитов у 75 больных СКВ и 20 здоровых доноров на момент включения.

Таблица 13. Субпопуляции В-лимфоцитов у больных СКВ и здоровых доноров

В-лимфоциты	Молекулярные маркеры	Относительное (%) / абсолютное ($\times 10^9/\text{л}$) количество В-клеток, Me [25; 75 перцентиль]		<i>p</i>
		больные СКВ, <i>n</i> =75	здоровые доноры, <i>n</i> =20	
Общая популяция В-лимфоцитов	CD19+ В-клетки	8,85 [6; 13,8] / 0,1 [0,08; 0,25]	8,5 [7,2; 11,0] / 0,2 [0,09; 0,2]	0,65/ 0,66
Наивные В-клетки	CD19+, CD27-, IgD+	70,1 [60,7; 78,95] / 0,086 [0,04; 0,13]	64,7 [57,6; 72,4] / 0,1 [0,06; 0,1]	0,15/ 0,44

В-лимфоциты	Молекулярные маркеры	Относительное (%) / абсолютное ($\times 10^9/\text{л}$) количество В-клеток, Me [25; 75 перцентиль]		<i>p</i>
		больные СКВ, <i>n</i> =75	здоровые доноры, <i>n</i> =20	
В-клетки памяти (общая популяция)	CD19+, CD27+	1,2 [0,8; 1,8] / 0,001 [0,0006; 0,004]	2,2 [1,1; 3,0] / 0,003 [0,001; 0,007]	0,036 / 0,09
Непереключенные В-клетки памяти	CD19+, CD27+, IgD+	5,55 [2,65; 8,75] / 0,006 [0,003; 0,015]	7,4 [3,7; 11,1] / 0,01 [0,005; 0,02]	0,13 / 0,06
Переключенные В-клетки памяти	CD19+, CD27+, IgD-	4,2 [1,95; 9,7] / 0,006 [0,003; 0,01]	12,8 [9,3; 17,0] / 0,02 [0,01; 0,04]	0,00006 / 0,0002
Транзиторные В-клетки	CD19+, CD38++, CD10+, IgD+, CD27-	0 [0; 0,1] / 0 [0; 0,0001]	0,1 [0; 0,1] / 0,0001 [0; 0,0003]	0,17 / 0,051
ПБ	CD19+, CD38+++, CD27+, IgD-, CD20-	0,3 [0,1; 0,4] / 0,0003 [0,0001; 0,00077]	0,1 [0,1; 0,2] / 0,0002 [0,0001; 0,0004]	0,002 / 0,097
ПК	CD19+, CD38+	0,1 [0,1; 0,2] / 0,00014 [0,00006; 0,0003]	0,1 [0,05; 0,1] / 0,0001 [0,00; 0,0002]	0,06 / 0,2
Двойные негативные В-клетки памяти	CD19+, CD27-, IgD-	18 [11,2; 24,85] / 0,02 [0,01; 0,04]	13,3 [7,1; 19,3] / 0,02 [0,01; 0,02]	0,03 / 0,21

Оценка субпопуляций В-лимфоцитов у 65 больных СКВ в зависимости от активности заболевания. С целью определения маркеров активности СКВ среди популяций лимфоцитов проведена оценка В-клеток у больных с высокой и средней степенью активности СКВ без предшествующей терапии ГИБП.

У 53 больных с высокой степенью активности заболевания (SLEDAI-2K>10 баллов) при сравнении с 12 больными, имеющими среднюю степень, выявлена высокая процентная доля ДН (20,8 [14; 29]% и 13,5 [9,8; 16,5]%, $p<0,015$), непереключенных В-клеток памяти ([6,4 [3,3; 8,9]% и 2,9 [1,3; 6,4]%, $p<0,02$), в то время как количество наивных В-лимфоцитов было низким (66 [49; 72]% и 78 [74; 83]%, $p<0,0018$, $r=-0,48$) (рисунок 2). Кроме того, была выявлена положительная корреляция между процентным количеством ДН В-лимфоцитов памяти и активности СКВ по SLEDAI-2K ($r=0,52$, $p<0,05$) (рисунок 3).

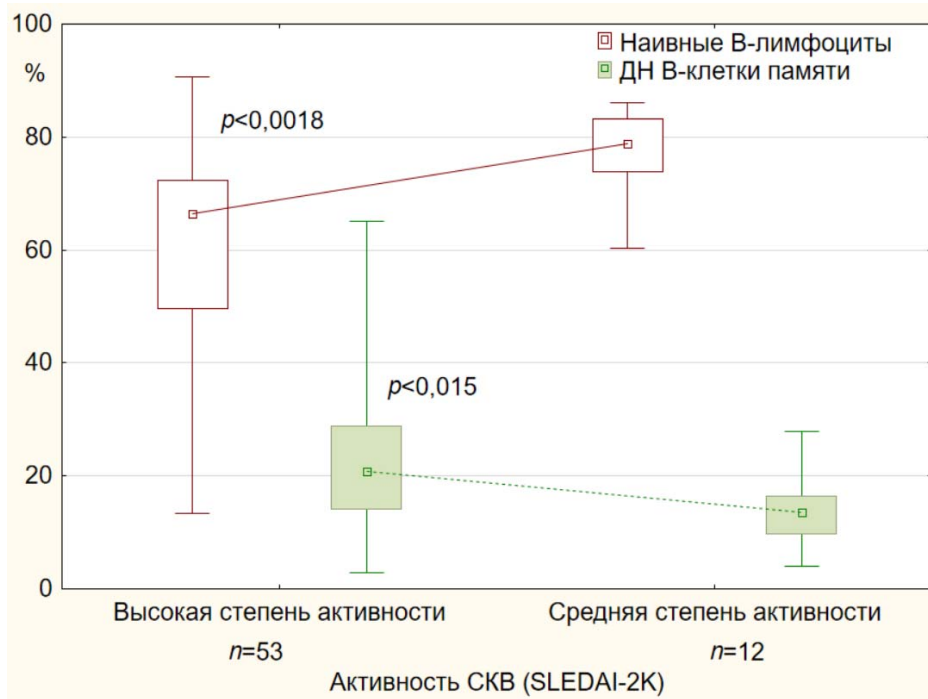


Рисунок 2. Процентное соотношение ДН В-лимфоцитов памяти и наивных В-лимфоцитов у 65 пациентов с высокой и средней степенью активности СКВ



Рисунок 3. Корреляция ДН В-лимфоцитов памяти с активностью СКВ по SLEDAI-2K ($r=0,52$, $p < 0,05$)

В связи с полученными данными был проведен анализ ДН В-клеток памяти у 65 пациентов с СКВ, результаты которых были сопоставлены со здоровыми донорами. Такие субпопуляции в периферической крови выявлялись в обеих группах, однако у больных СКВ процентная доля этих клеток была значимо выше ($p<0,01$), и если среди здоровых доноров их количество не превышало 29%, у части больных СКВ их значения превосходили 40%.

Пациенты, обладавшие более высоким содержанием ДН В-клеток, чаще имели поражение почек. Среди 25 больных с ВН у 15 человек процентное количество ДН В-клеток составляло более 18%, из них у 7 человек их доля превосходила отметку 40%. У таких больных отмечалось наличие протеинурии с изменением мочевого осадка (8 человек), у части пациентов подобные изменения сопровождалось нарушением концентрационно-фильтрационной функции почек (2 человека), у остальных выявлялось изолированное нарушение мочевого осадка в виде комплекса — эритроцитурия, лейкоцитурия и цилиндрурия (5 человек). У других 10 больных с ВН процентное количество ДН В-клеток было ниже 18%. У 3 из них зарегистрировано наличие длительно текущей хронической почечной недостаточности с протеинурией от 1,4 до 3,2 г в сут., у 7 человек выявлялось изолированное изменение мочевого осадка в виде только эритроцитурии и/или лейкоцитурии.

Исходя из вышеприведенных данных, наличие протеинурии, связанной с активным ВН, в большей степени регистрировалось у больных, имевших более высокое процентное содержание ДН В-лимфоцитов памяти, что было подтверждено при проведении корреляционного анализа зависимости количества ДН В-клеток памяти и уровня протеинурии у 20 пациентов с активным ВН без признаков нарушения концентрационно-фильтрационной функции почек ($r=0,72$, $p<0,05$) (рисунок 4). Помимо этого, процентная доля ПК у них также была выше ($r=0,52$, $p<0,05$), в то время как процентное и абсолютное количество наивных В-лимфоцитов ($r=-0,71$, $p<0,05$) и общей популяции CD19+ В-лимфоцитов ниже ($r=-0,61$ и $r=-0,52$, $p<0,05$ для процентного и абсолютного количества соответственно).

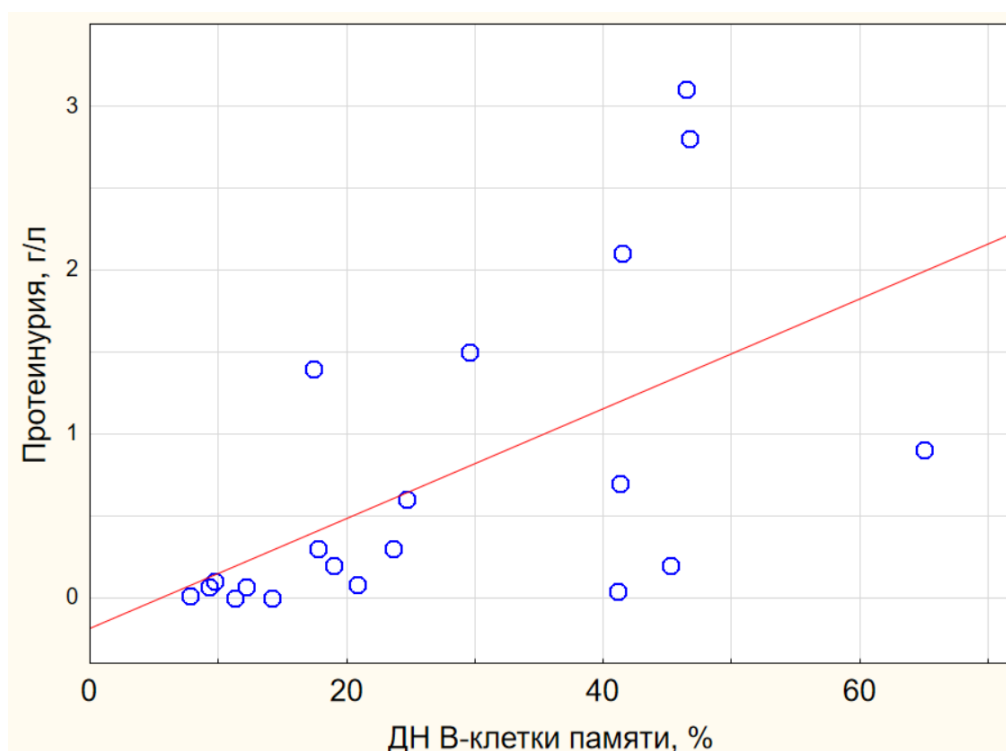


Рисунок 4. Корреляция ДН В-лимфоцитов памяти и уровень протеинурии у 20 больных с ВН ($r=0,72$, $p<0,05$)

Принципиальной особенностью являлось повышенное процентное и абсолютное количество ДН В-клеток у больных с высокой степенью активности заболевания ($p<0,008$), в то время как у больных со средней степенью их уровень в целом не отличался от здоровых доноров. В то же время у группы больных со средней степенью активности заболевания процентное содержание непереключенных В-клеток памяти было значимо ниже, чем у здоровых доноров ($p<0,02$), однако корреляции этих субпопуляций с активностью СКВ не обнаружено. Абсолютное и процентное количество переключенных В-клеток памяти было одинаково низким при высокой и средней степени активности СКВ по сравнению со здоровыми донорами ($p<0,006$; $p<0,009$) (таблица 14). У больных СКВ вне зависимости от степени активности заболевания отмечалась высокая процентная доля ПБ ($p<0,01$). Корреляции этих субпопуляций с активностью СКВ также не обнаружено.

Таблица 14. Относительное (%) и абсолютное ($\times 10^9/\text{л}$) количество В-клеток у пациентов с СКВ со II и III степенью активности заболевания в сопоставлении с данными здоровых доноров

В-лимфоциты	Больные СКВ		Здоровые доноры, $n=20$
	III степень активности, $n=53$	II степень активности, $n=12$	
Непереключенные В-клетки памяти	6,4 [3,3; 8,9]% / 0,006 [0,003; 0,02] $\times 10^9/\text{л}$	2,9 [1,3; 6,4]% * / 0,004 [0,002; 0,008] $\times 10^9/\text{л}$ *	7,4 [3,7; 11,1] / 0,01 [0,005; 0,02] $\times 10^9/\text{л}$
Переключенные В-клетки памяти	4,2 [1,4; 6]%* / 0,006 [0,003; 0,01] $\times 10^9/\text{л}$ *	5,1 [2,3; 11]%* / 0,009 [0,003; 0,02] $\times 10^9/\text{л}$ *	12,8 [9,3; 17,0] / 0,02 [0,01; 0,04] $\times 10^9/\text{л}$
ПБ	0,3 [0,1; 0,3]%* / 0,0003 [0,0001; 0,0008] $\times 10^9/\text{л}$	0,3 [0,1; 0,4]%* / 0,0003 [0,0002; 0,0004] $\times 10^9/\text{л}$	0,1 [0,1; 0,2] / 0,0002 [0,0001; 0,0004] $\times 10^9/\text{л}$
Двойные негативные В-клетки	20,8 [14; 29]%* / 0,03 [0,01; 0,05] $\times 10^9/\text{л}$ *	13,5 [9,8; 16,5]% / 0,01 [0,01; 0,02] $\times 10^9/\text{л}$	13,3 [7,1; 19,3] / 0,02 [0,01; 0,02] $\times 10^9/\text{л}$

Примечание: * — достоверность различий при сравнении со здоровыми донорами, $p < 0,05$.

На основании представленных данных было выявлено, что существует взаимосвязь между количеством В-клеток различных субпопуляций и активностью СКВ. Так, высокая активность ассоциировалась с высоким процентным количеством ДН В-клеток ($p < 0,015$) с одновременным более низким количеством наивных В-лимфоцитов ($p < 0,0018$), тогда как у больных со средней степенью активности заболевания отмечалось значимо высокое процентное и абсолютное содержание непереключенных В-клеток памяти ($p < 0,021$) по сравнению со здоровыми донорами и другими больными СКВ. Выявлена ассоциация между наличием активного ВН и количеством ДН В-клеток памяти ($r=0,72$, $p < 0,05$), ПК ($r=0,52$, $p < 0,05$) и наивных В-лимфоцитов ($r=-0,71$, $p < 0,05$). Все больные СКВ с высокой и средней степенью активности заболевания обладали низким количеством переключенных В-клеток памяти, что выражалось как в абсолютном, так и процентном соотношении ($p < 0,006$; $p < 0,009$), и высокой процентной долей ПБ ($p < 0,01$).

Оценка субпопуляций В-лимфоцитов у больных СКВ в зависимости от предшествующей терапии. 65 пациентов с СКВ, ранее не получавших ГИБП, имели более низкое процентное и абсолютное содержание переключенных В-лимфоцитов памяти по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,00003$, $p < 0,0006$), в то время как уровень ДН В-лимфоцитов ($p < 0,01$, $p < 0,04$) и ПБ ($p < 0,004$, $p < 0,04$) был выше (рисунок 5, таблица 15).

Таблица 15. Количество В-лимфоцитов у 65 пациентов с СКВ без ранее проводимой терапии ГИБП при сравнении со здоровыми донорами

В-лимфоциты	Относительное (%) / абсолютное ($\times 10^9/\text{л}$) количество В-клеток, Ме [25; 75 перцентиль]		<i>p</i>
	СКВ	здоровые доноры	
Переключенные В-клетки памяти	4,2 [2,1; 9] / 0,008 [0,003; 0,02]	12,8 [9,3; 17,0] / 0,02 [0,01; 0,04]	$p < 0,00003$, $p < 0,0006$
ПБ	0,2 [0,1; 0,4] / 0,0003 [0,00017; 0,0008]	0,1 [0,1; 0,2] / 0,0002 [0,0001; 0,0004]	$p < 0,004$, $p < 0,04$
ДН В-клетки памяти	18 [12; 27,6] / 0,03 [0,01; 0,05]	13,3 [7,1; 19,3] / 0,02 [0,01; 0,02]	$p < 0,01$, $p < 0,04$

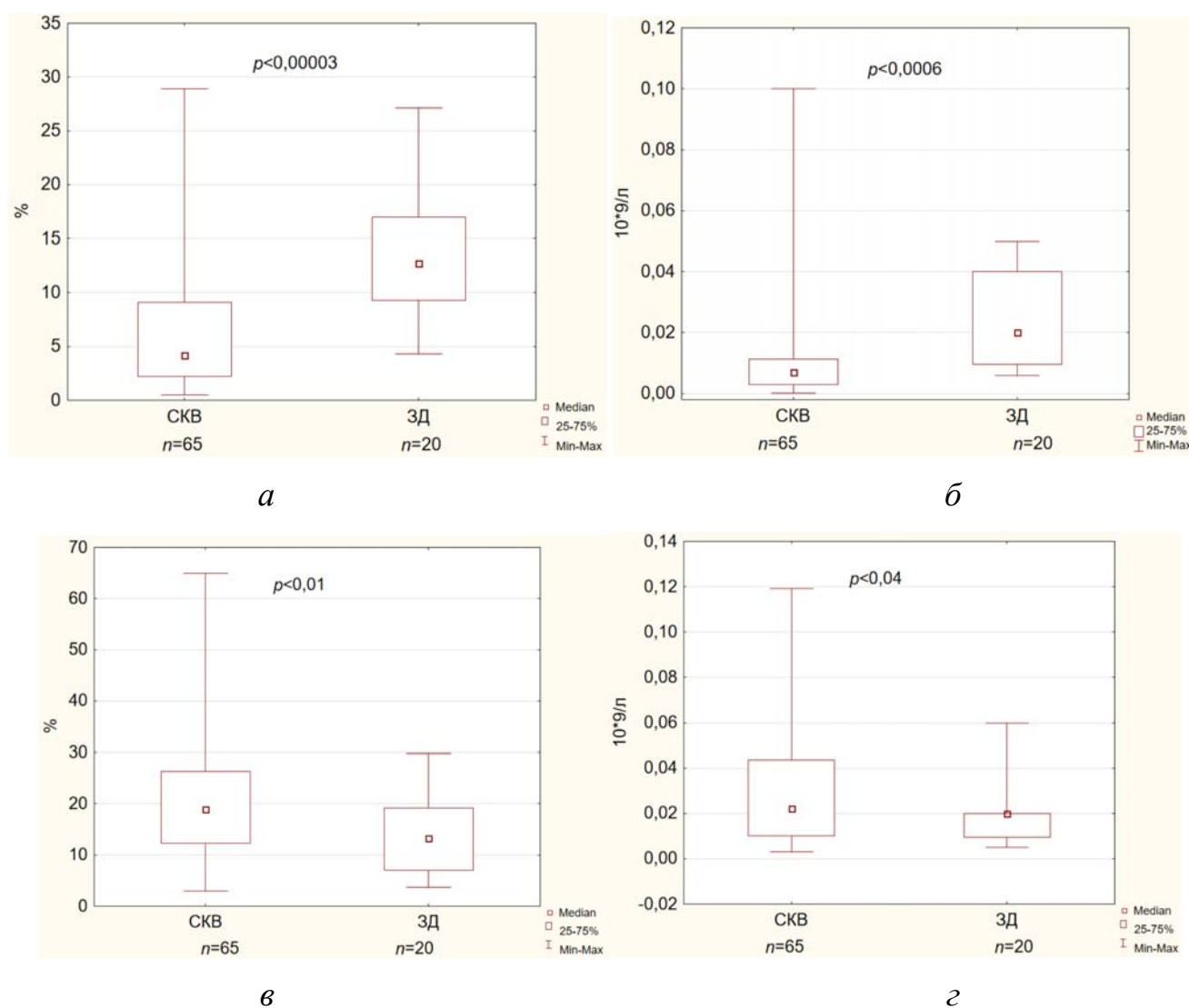


Рисунок 5. Субпопуляции В-клеток памяти у 65 больных СКВ без предшествующей терапии РТМ и здоровых доноров:

- a* — переключенные В-клетки памяти, процентное соотношение;
б — переключенные В-клетки памяти, абсолютное количество;
в — ДН В-клетки памяти, процентное соотношение; *г* — ДН В-клетки памяти, абсолютное количество. ЗД — здоровые доноры

У 10 больных, ранее получавших РТМ, так же как и среди пациентов без предшествующей терапии ГИБП, наблюдалось достоверно низкое абсолютное и процентное содержание переключенных В-лимфоцитов памяти ($p < 0,01$, $p < 0,000075$) при высоком процентном соотношении ПБ ($p < 0,03$), а также ПК ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми донорами. Особенностью таких больных являлось более низкое процентное и абсолютное количество общей популяции В-лимфоцитов памяти ($p < 0,04$, $p < 0,014$) по сравнению со здоровыми донорами и процентной доли этих же субпопуляций при сравнении с 65 пациентами без предшествующей ГИБП терапии ($p < 0,04$).

Не получено статистически значимых различий между пациентами, которым ранее была проведена стандартная терапия ГК, цитостатиками, и больными, не получавшими терапию по основному заболеванию.

Таким образом, особенностью развития СКВ является низкое количество переключенных ($p < 0,0006$), высокое ДН В-клеток памяти ($p < 0,04$) и ПБ ($p < 0,04$) по сравнению со здоровыми донорами. При оценке группы больных с ранее проводимой терапией ГИБП было выявлено, что терапия РТМ влияла на общую популяцию В-лимфоцитов памяти, приводя к выраженному сокращению таких субпопуляций, что может являться отдаленными последствиями лечения.

Оценка субпопуляций В-лимфоцитов в ассоциации с иммунологическими параметрами при СКВ. При проведении корреляционного анализа, ассоциации аутоантител (к дсДНК, Ro, La, RNP-70), компонентов комплемента с субпопуляциями В-лимфоцитов не было получено. Тем не менее была отмечена определенная связь между концентрацией иммунологических параметров и В-клеток памяти. Представленные ниже группы исследуемых не отличались по степени активности СКВ.

Был проведен сравнительный анализ между 33 больными с высокой (более 200 Ед/мл) и 32 пациентами с низкой (менее 199 Ед/мл) концентрацией антител к дсДНК. Пациенты, обладающие низкими титрами антител к дсДНК, имели высокое процентное содержание переключенных В-клеток памяти ($p < 0,014$). Далее больные СКВ были разделены на 2 группы: 1-я — с высоким ($> 1:1280$, $n=26$), 2-я — с низким

АНФ (<1:320, $n=15$). При сравнении этих групп выявлена малая процентная доля непереключенных В-лимфоцитов памяти среди больных второй группы ($p<0,02$).

Концентрация С4 компонента комплемента зависела от количества ПБ. Ввиду того, что средняя концентрация ПБ в периферической крови у здоровых доноров соответствовала $0,0002 \times 10^9/\text{л}$, пациенты с СКВ были разделены на больных, обладавших высоким ($>0,0002 \times 10^9/\text{л}$, $n=33$) и низким их содержанием ($\leq 0,0002 \times 10^9/\text{л}$, $n=27$). Таким образом, пациенты с большим количеством ПБ имели более низкие уровни С4 компонента комплемента ($p<0,00087$) (рисунок 6).

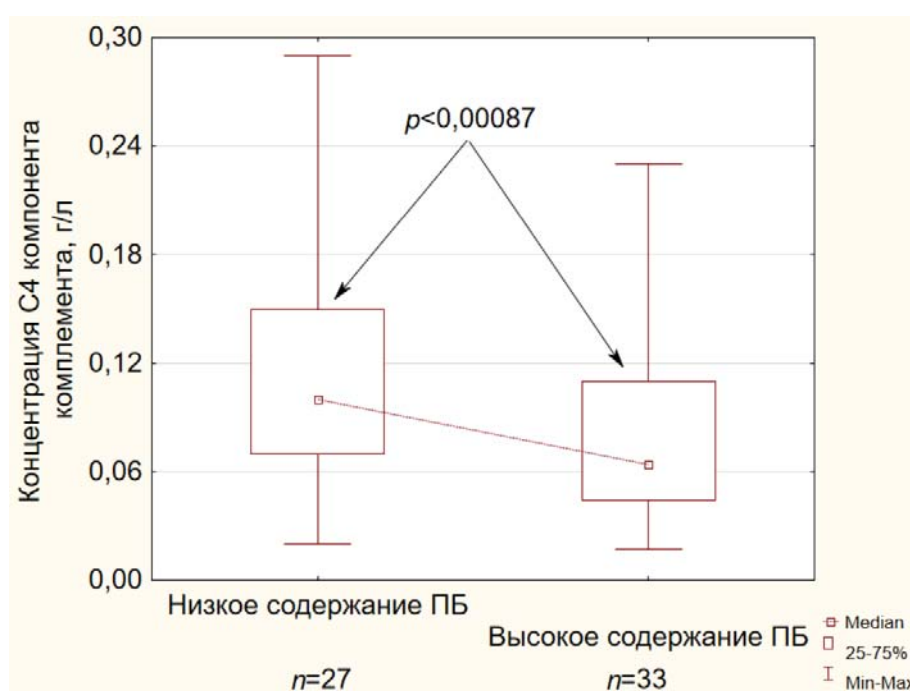


Рисунок 6. Концентрация С4 компонента комплемента у больных с высокой и низкой концентрацией ПБ в периферической крови

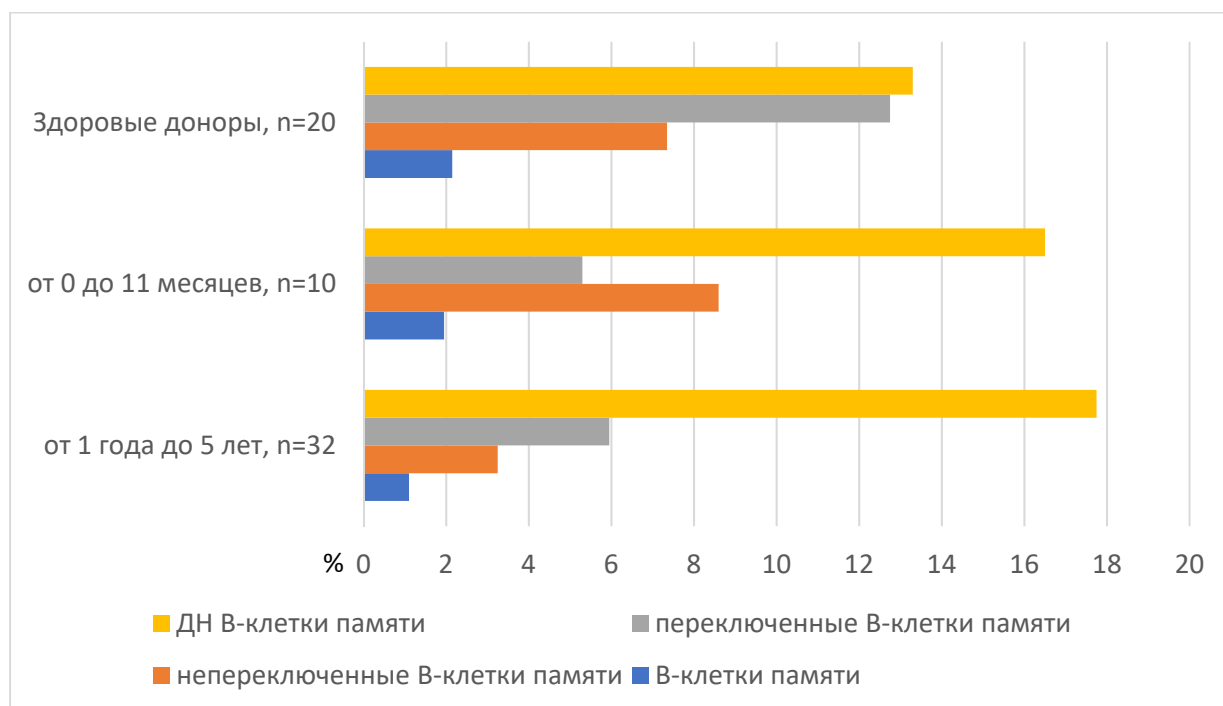
Таким образом, была выявлена взаимосвязь между наличием высокопозитивного АНФ и увеличением количества непереключенных В-клеток памяти. Больные, обладающие высоким абсолютным количеством ПБ ($>0,0002 \times 10^9/\text{л}$), как правило, имели низкое содержание С4 компонента комплемента. Низкая процентная доля переключенных В-клеток памяти чаще встречалась при высокой концентрации антител к дсДНК.

Оценка субпопуляций В-лимфоцитов в зависимости от длительности течения СКВ. При оценке субпопуляций В-клеток в зависимости от длительности заболевания пациенты без предшествующей терапии ГИБП были разделены на 2 группы: в 1-ю вошли 10 пациентов с длительностью заболевания от 0 до 11 мес., во 2-ю — 32 больных с продолжительностью болезни 1–5 лет. Группы не отличались по степени активности заболевания (SLEDAI-2К 15 [14; 16], 12,5 [10; 19] для 1-й и 2-й группы соответственно).

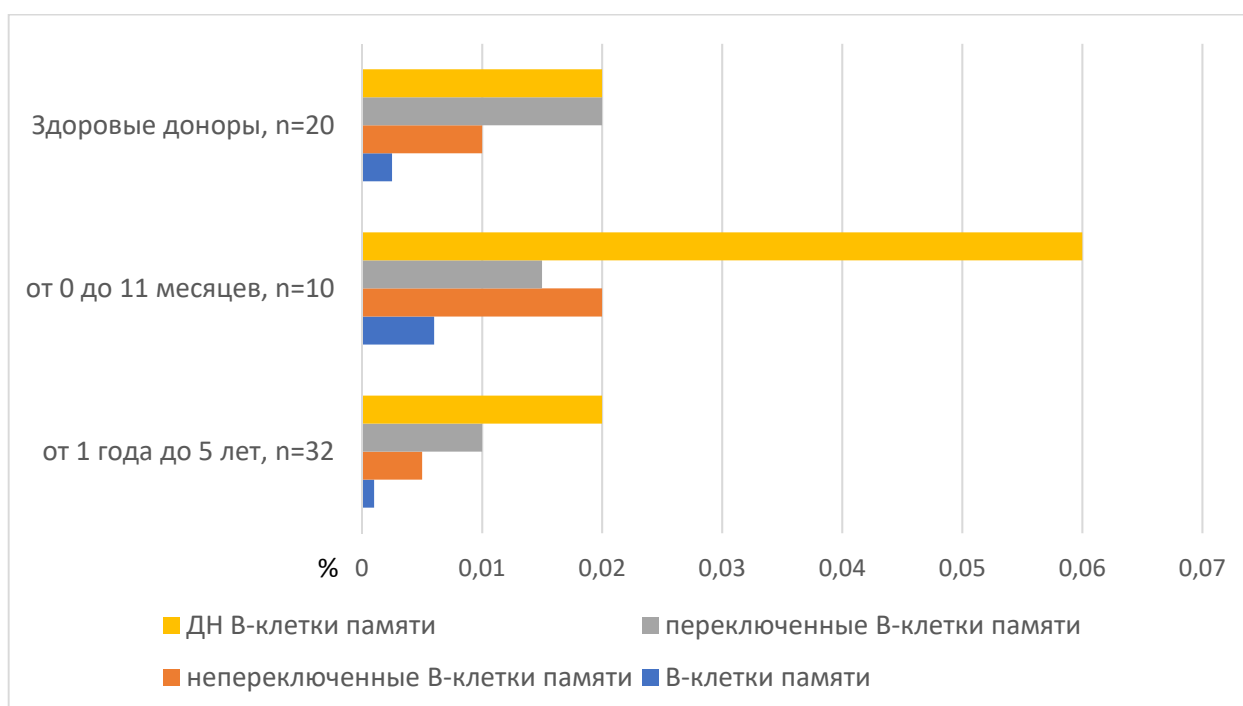
10 больных с длительностью СКВ менее 11 мес. имели более высокое процентное содержание CD19+ В-лимфоцитов по сравнению с больными, длительность заболевания которых составляла более 1 года ($p<0,048$), что обусловлено нарастанием абсолютного количества ДН ($p<0,03$), непереключенных ($p<0,0005$), общей популяции В-клеток памяти ($p<0,013$) и ПК ($p<0,03$). Отличительной особенностью являлось более высокое процентное содержание общей популяции В-клеток памяти ($p<0,04$) и непереключенных В-клеток памяти ($p<0,01$), тогда как уровень переключенных В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов в группах больных СКВ не отличался.

Сравнение 10 человек с дебютом СКВ и здоровых доноров показало также более высокое содержание общей популяции CD19+ В-лимфоцитов ($p<0,014$) среди больных за счет нарастания абсолютных значений ДН ($p<0,014$), ПК ($p<0,009$) и ПБ ($p<0,001$). Процентное соотношение менялось в сторону снижения переключенных В-клеток памяти ($p<0,007$), тогда как количество ПБ было значимо выше ($p<0,01$).

Сравнение группы больных с длительностью заболевания более 1 года и здоровых доноров не выявило различий в отношении общей популяции CD19+ В-лимфоцитов. У таких больных зарегистрировано снижение процентных и абсолютных значений непереключенных ($p<0,008$; $p<0,04$), переключенных В-клеток памяти ($p<0,006$; $p<0,01$), а также сокращение процентного соотношения общей популяции В-клеток памяти ($p<0,003$) при нарастании процентного количества ПБ ($p<0,0096$) (рисунок 7).



а



б

Рисунок 7. Процентное и абсолютное содержание субпопуляций В-клеток памяти (Me): а — субпопуляции В-клеток памяти, процентное содержание (%); б — субпопуляции В-клеток памяти, абсолютные значения ($10^9/\text{л}$)

Таким образом, показано, что дебют СКВ характеризовался увеличением общего количества CD19+ В-лимфоцитов при сравнении с длительно текущей СКВ

($p < 0,048$) и здоровыми донорами ($p < 0,014$), которое происходило за счет практически всех субпопуляций В-клеток. Характерной особенностью таких пациентов являлась более высокая процентная доля непереключенных ($p < 0,01$) и общей популяции В-клеток памяти ($p < 0,04$) при сравнении с группой больных, длительно страдающих СКВ, но не со здоровыми донорами, где достоверности различий не получено. Тем не менее вне зависимости от давности заболевания доля переключенных В-клеток памяти оставалась всегда низкой у больных СКВ по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,007$ и $p < 0,006$), а количество ПБ высоким ($p < 0,01$ и $p < 0,0096$ соответственно у больных с дебютом СКВ и пациентов с длительностью заболевания более 1 года).

3.2. Влияние терапии ритуксимабом на субпопуляции В-лимфоцитов

Динамика В-лимфоцитов к 3-му мес. после введения ГИБП. Оценка динамики В-лимфоцитов к 3-му мес. была проведена у 54 пациентов, которые получали РТМ ($n=47$) и комбинированную терапию РТМ и БЛМ ($n=7$). Степень деплеции В-клеток к 3-му мес. не зависела от базальной активности СКВ (SLEDAI-2K) и длительности заболевания. Полная деплеция В-лимфоцитов к 3-му мес. чаще наблюдалась при применении более высоких доз РТМ (таблица 16).

Таблица 16. Степень деплеции В-лимфоцитов к 3-му мес. наблюдения, n (%)

Ритуксимаб, мг	Полная деплеция	Частичная деплеция	Отсутствие деплеции
500, $n=12$	4 (33%)	5 (42%)	3 (25%)
1000, $n=39$	21(54%)	9 (23%)	9 (23%)
2000, $n=3$	2 (67%)	–	1 (33%)
Всего, $n=54$	27 (50%)	14 (26%)	13 (24%)

К 3-му мес. полной деплеции удалось достичь 50% пациентов (таблица 15, рисунок 8).

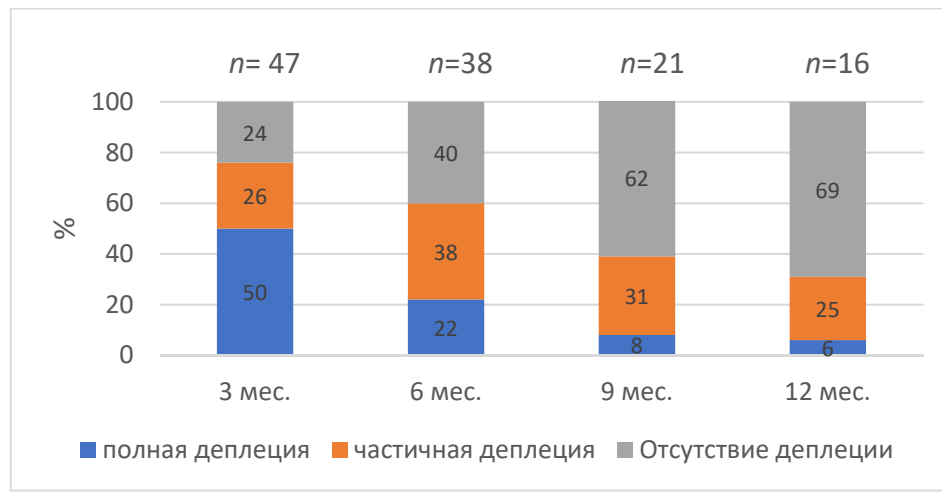


Рисунок 8. Количество пациентов, у которых сохраняется деплеция CD19+ В-лимфоцитов (при последующих визитах исключены пациенты, получившие повторный курс РТМ через 6 и 9 мес.)

Активность заболевания по SLEDAI-2K/BILAG исходно соответствовала 14 [10; 18] / 17 [13; 22], а к 3-му мес. наблюдения отмечалось снижение активности заболевания до 4 [2; 10] / 8 [1; 10] у пациентов с полной деплецией, до 5 [4; 8] / 8 [1; 9] — с частичной и до 8 [5; 10] / 9 [2; 16] баллов — у больных с отсутствием деплеции соответственно ($p < 0,00000$). Концентрации антител к дсДНК снизилась и соответствовала 54 [14; 111] Ед/мл, 45 [25; 75] Ед/мл, 135 [33; 300] Ед/мл для больных с частичной, полной деплецией и отсутствием деплеции соответственно ($p < 0,000003$). Однако уровни С3с, С4 компонентов комплемента у больных с полной деплецией были значительно выше, чем у пациентов с отсутствием деплеции (С3с — 0,97 [0,84; 1,18] г/л, 0,75 [0,66; 0,97] г/л, 0,69 [0,52; 0,78] г/л; С4 — 0,17 [0,13; 0,21] г/л, 0,13 [0,12; 0,15] г/л, 0,13 [0,072; 0,16] г/л для пациентов с полной и частичной деплецией соответственно $p < 0,0007$ и $p < 0,02$).

У 14 пациентов с частичной деплецией, ответивших на лечение, к 3-му мес. после 1-го курса РТМ отмечалось снижение уровней всех субпопуляций В-клеток, такая терапия приводила к быстрому истощению наивных и ДН В-клеток памяти. Остаточными клетками являлись преимущественно наивные, непереключенные, переключенные, ДН В-клетки памяти. Особенностью являлось их процентное перераспределение с тенденцией к увеличению доли В-клеток памяти: ДН — 27,7 [18,4; 50]%, переключенных — 22,7 [4,3; 50]%, непереключенных — 20 [2,5; 35]%,

с относительно более низким количеством наивных В-клеток — 15 [8,7; 23,3]%, причем у половины больных превалировала доля непереключенных, у другой половины — переключенных В-клеток памяти. Процентное количество общей популяции В-клеток памяти достоверно сокращалось ($p < 0,000007$).

У 13 пациентов с отсутствием деплеции также отмечалось снижение общей популяции CD19+ В-лимфоцитов по сравнению с базальными уровнями, однако их процентное соотношение практически не отличалось от исходного, а именно сохранялось высокое количество наивных (30 [16; 60]%) и ДН (42 [20; 51]%) В-клеток памяти при более низких показателях переключенных (6,6 [2,2; 23]%) и непереключенных (4,5 [2,8; 10,8]%) В-клеток памяти (рисунок 9). Важно отметить, что абсолютные показатели непереключенных и переключенных В-клеток памяти в целом не отличались от исходных значений, тогда как концентрация других субпопуляций значимо снижалась.

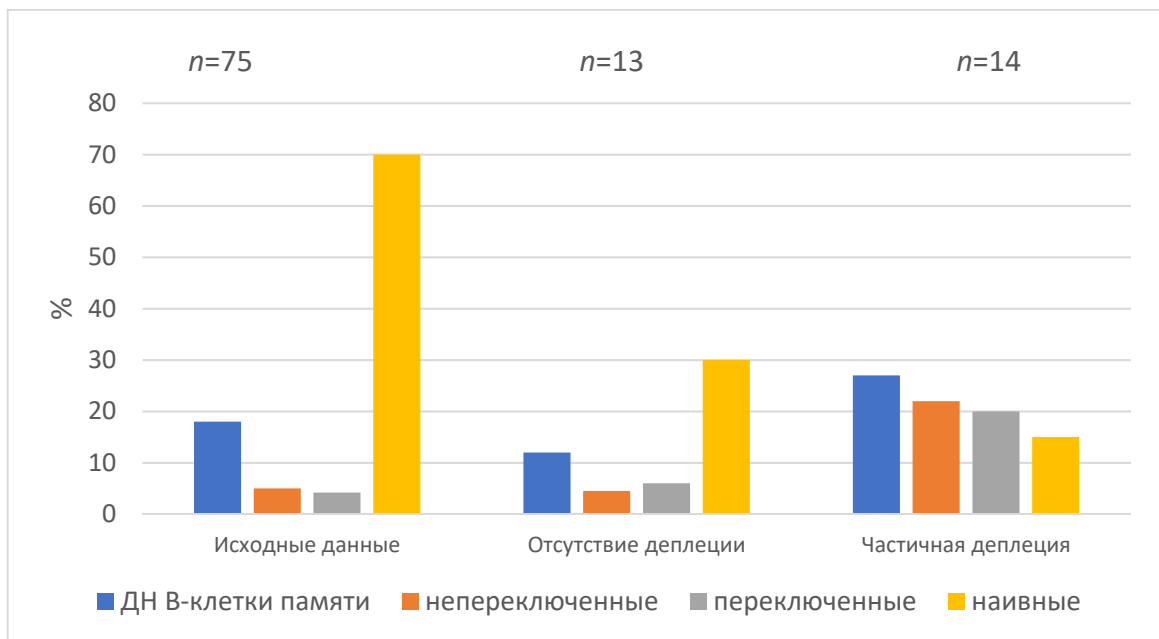


Рисунок 9. Процентное распределение субпопуляций В-лимфоцитов через 3 мес. после курса РТМ среди больных, у которых была достигнута частичная деплеция и отсутствие деплеции в сравнении с исходными данными

Среди пациентов, обладающих более высоким базальным процентным количеством ПК, чаще отмечалась неполная деплеция общей популяции CD19+ В-лимфоцитов через 3 мес. после инициации терапии ГИБП ($p < 0,006$) (рисунок 10).

Так, среди 27 больных с частичной деплецией и отсутствием деплеции В-лимфоцитов у 17 (62%) больных уровень ПК был равен или превышал 0,2% (с максимальным значением до 0,7%), тогда как среди 27 пациентов с полной деплецией у 22 (81%) количество ПК соответствовало 0–0,1% ($p<0,006$).

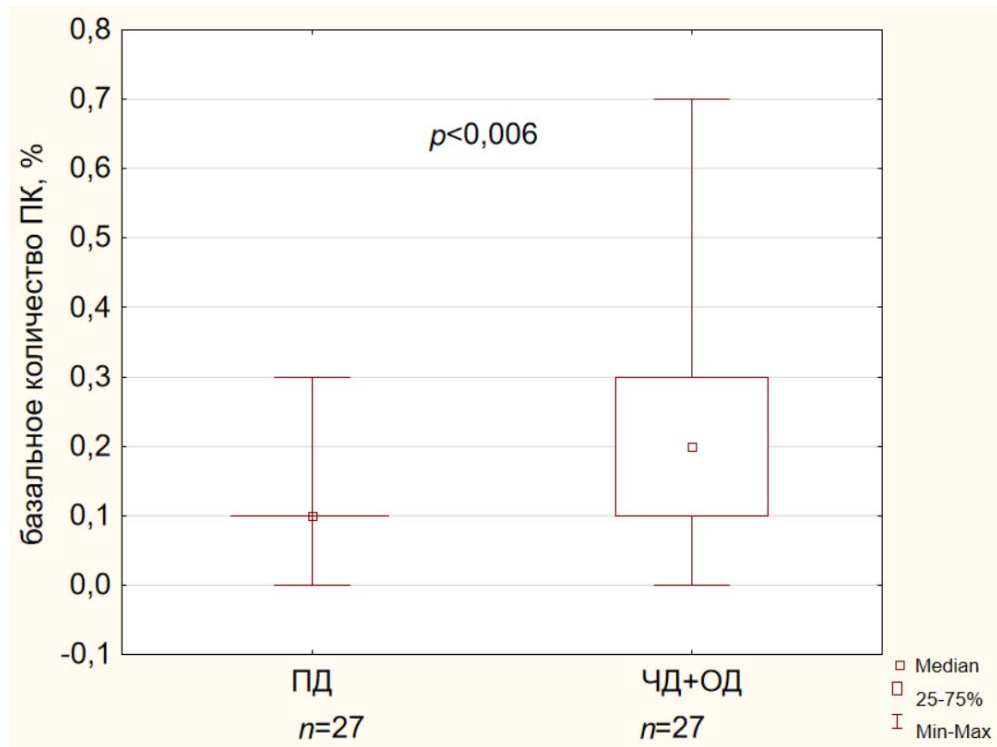


Рисунок 10. Базальное процентное содержание ПК (CD19+, CD38+):

ПД — пациенты, у которых достигнута полная деплеция к 3-му мес. после курса РТМ ($n=27$); ЧД+ОД — пациенты с частичной деплецией и отсутствием деплеции после курса РТМ ($n=27$)

Таким образом, неполная деплеция В-лимфоцитов связана с наличием высокого базального процентного количества ПК (более 0,2%). Терапия РТМ приводит к выраженному сокращению основных популяций В-лимфоцитов, при этом остаточными клетками являются наивные В-клетки и различные субпопуляции В-клеток памяти, процентное распределение которых зависит от степени деплеции после курса РТМ. Терапия ГИБП хуже влияла на непереключенные и переключенные В-клетки памяти, количество которых через 3 мес. у пациентов с отсутствием деплеции не отличалось от исходных значений.

Динамика В-лимфоцитов с 6-го по 12-й мес. после введения ГИБП.

Репопуляция к 6-му мес. наблюдения отмечалась у 38 больных (78%) больше за счет наивных, ДН, непереключенных, переключенных В-клеток памяти (рисунок 11).

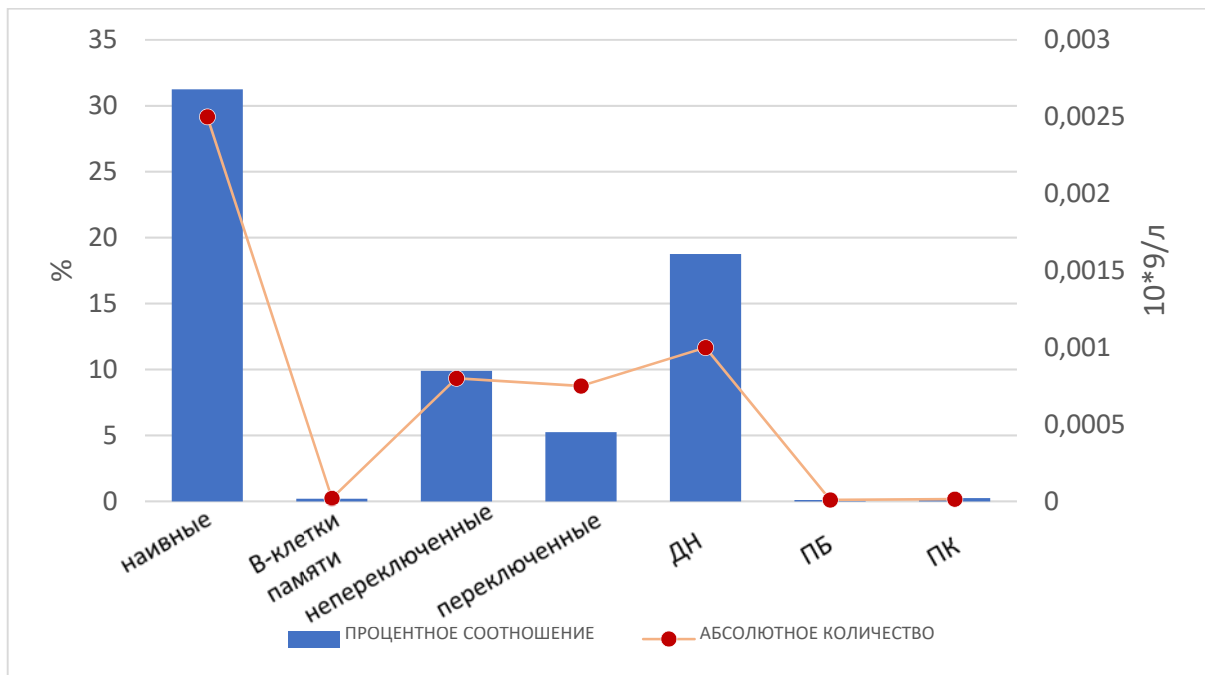


Рисунок 11. Репопуляция В-лимфоцитов к 6-му мес. наблюдения: процентное распределение и абсолютное содержание субпопуляций В-лимфоцитов у 38 больных, Ме

Среди 16 больных, которые достигли полной деплеции после курса РТМ и последующим восстановлением CD19+ В-лимфоцитов к 6-му мес., отмечена более медленная репопуляция общей группы В-клеток памяти (0,1 [0,1; 0,2]%) и наивных В-клеток (32 [17; 68]%). Однако у половины из них зарегистрировано нарастание процентного количества непереключенных (от 17 до 83%), у другой половины — переключенных (от 14 до 87%) В-клеток памяти, что наблюдалось и среди пациентов с частичной деплецией через 3 мес. после курса РТМ.

С целью демонстрации влияния РТМ на субпопуляции В-лимфоцитов при длительном наблюдении были выделены 16 пациентов, которым РТМ вводился однократно, т. е. в последующем периоде наблюдения повторные курсы ГИБП у них не проводились. У этих пациентов зарегистрировано восстановление всех субпопуляций В-лимфоцитов к 12-му мес. Процентное соотношение субпопуляций клеток через год наблюдения в целом не отличалось от исходного, однако при

сопоставлении с базальным распределением указанных лимфоцитов у этих больных выявлено значимо более низкое процентное количество общей популяции В-клеток памяти ($p < 0,000012$) и переключенных В-клеток памяти ($p < 0,035$) (рисунок 12).

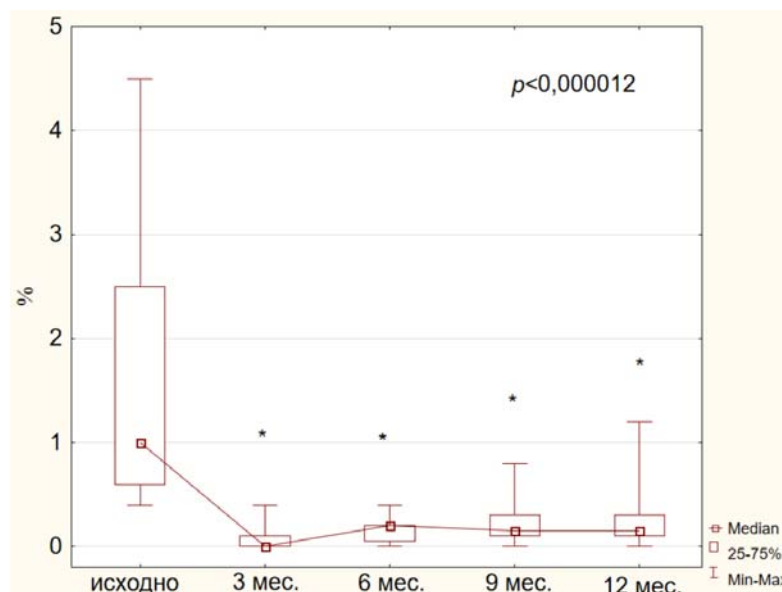


Рисунок 12. Процентное содержание общей популяции В-клеток памяти у 16 больных СКВ с однократным введением РТМ исходно и к 12-му мес. наблюдения

Таким образом, после курса РТМ процентное соотношение всех субпопуляций В-лимфоцитов восстанавливается практически до исходных значений. Особенностью начала репопуляции В-клеток является заметное увеличение либо непереключенных, либо переключенных В-клеток памяти. Долгосрочным эффектом такой терапии являлось заметное сокращение и сохранение в низких титрах количества общей популяции В-клеток памяти.

3.3. Влияние терапии белимумабом на субпопуляции В-лимфоцитов

БЛМ получали 10 пациентов со средней и высокой степенью активности заболевания, преимущественно с кожно-суставными проявлениями СКВ и высокой иммунологической активностью. Медиана возраста больных составляла 32,5 [26; 34], длительность заболевания — от 3 до 16 лет (8 [4; 10]). Такой вид терапии

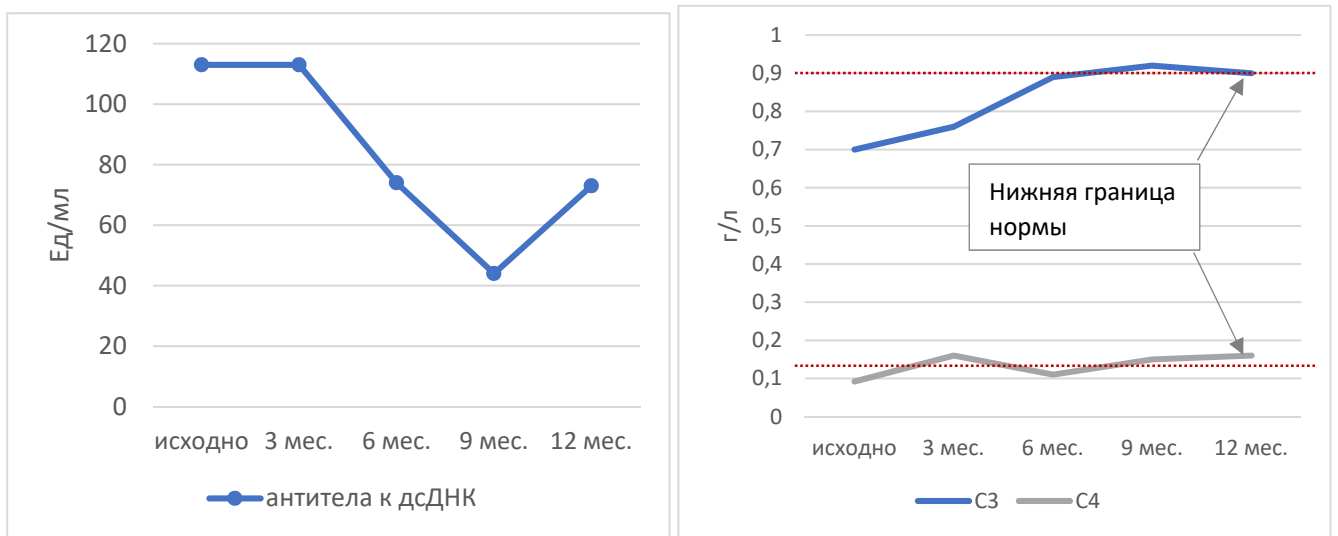
проводился в течение 12 мес. наблюдения, однако у 3 пациентов после 9 мес. от инициации ГИБП инфузии были прекращены (в связи с отсутствием препарата в аптечной сети). Среди них у одной больной к 9-му мес. отмечалось ускользание эффекта: нарастание иммунологических и гематологических нарушений. Еще одна пациентка ввиду недостаточной эффективности терапии была переведена на комбинированный метод лечения с применением РТМ и БЛМ (таблица 17).

Таблица 17. Длительность, эффективность, причины отмены терапии БЛМ

Порядковый номер пациента	Достижение эффекта на фоне терапии	Длительность терапии	Причина отмены
48-й	нет эффекта	переведена на комбинированную терапию РТМ и БЛМ на 9-м мес. наблюдения	недостаточный эффект, наблюдение продолжено
49-й	9-й мес.	9 мес.	отсутствие в аптечной сети, наблюдение продолжено
50-й	3-й мес.	9 мес.	отсутствие в аптечной сети, наблюдение продолжено
51-й	3-й мес.	12 мес.	продолжена терапия ГИБП
52	3-й мес.	9 мес.	отсутствие в аптечной сети, снижение эффекта, наблюдение продолжено
53-й	3-й мес.	6 мес.	продолжена терапия ГИБП
54-й	3-й мес.	3 мес.	продолжена терапия ГИБП
55-й	6-й мес.	6 мес.	продолжена терапия ГИБП
56-й	3-й мес.	3 мес.	продолжена терапия ГИБП
57-й	3-й мес.	3 мес.	продолжена терапия ГИБП

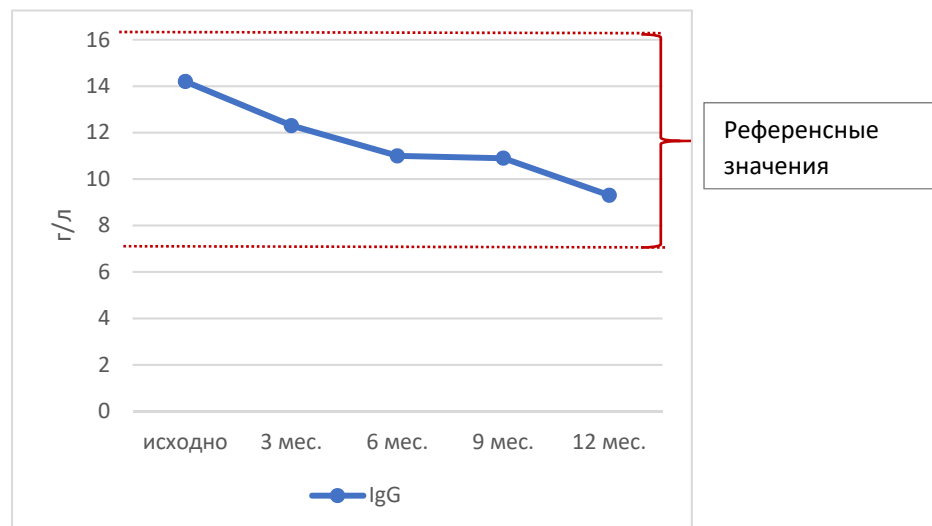
На фоне терапии БЛМ клиничко-иммунологический ответ получен у 9 пациентов. Такой вид лечения приводил к постепенному уменьшению активности СКВ, которое регистрировалось уже к 3-му мес. у 7 пациентов, к 6-му и 9-му мес. еще у 2 больных (SLEDAI-2K/BILAG исходно — 10 [8; 11] / 16,5 [12; 17] баллов, через 12 мес. — 4 [2; 4] / 1 [1; 5] баллов). В иммунологическом анализе крови зарегистрировано снижение титра антител к дсДНК (исходно — 113 [73; 300] Ед/мл, через 12 мес. — 73 [27; 206] Ед/мл) (рисунок 13, а), нарастание С3

(исходно — 0,7 [0,57; 0,9] г/л, через 12 мес. — 0,9 [0,7; 0,94] г/л) и С4 (исходно — 0,09 [0,06; 0,12] г/л, через 12 мес. — 0,15 [0,12; 0,2] г/л) компонентов комплемента, динамика которых была наиболее выражена с 6-го мес. наблюдения (рисунок 13 б). БЛМ также оказывал влияние на концентрацию Ig различных классов. Через 3 мес. отмечалось невыраженное снижение IgG, IgA, IgM, но в целом их количество было в норме почти у всех пациентов на протяжении периода наблюдения (рисунок 13 в), концентрация IgM соответствовала нижней границе нормы. Тяжелой инфекции у пациентов, получавших терапию БЛМ, не выявлено.



а

б



в

Рисунок 13. Динамика иммунологических параметров у больных, получавших БЛМ: а — динамика антител к дсДНК, Ме; б — динамика С3 и С4 компонентов комплемента, Ме; в — динамика IgG, Ме

За 12 мес. наблюдения у больных выраженного влияния на общую популяцию CD19+ В-лимфоцитов препарат не оказывал. Отмечалось снижение их количества (с 7,5 [6,4; 11,6]% до 2,9 [1,5; 6,5]% к 12-му мес. наблюдения), однако полной или частичной деплеции В-лимфоцитов не наблюдалось. Выявлялось перераспределение процентного соотношения субпопуляций В-лимфоцитов в сторону снижения наивных В-лимфоцитов, увеличения непереключенных ($p<0,008$) и в меньшей степени ДН В-клеток памяти. Одновременно с этим зарегистрировано прогрессирующее снижение абсолютных значений наивных В-лимфоцитов и нарастание непереключенных В-клеток памяти к 3-му мес. после инициации БЛМ. Однако количество последних после 3-го мес. не нарастало (таблица 18, рисунок 13 в, г). На популяцию общей группы В-клеток памяти препарат не оказывал выраженного влияния.

Таблица 18. Динамика субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии БЛМ

Период	Непереключенные В-клетки памяти		ДН В-клетки памяти		Наивные В-лимфоциты	
	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$
Исходно, $n=10$	3,5 [1,3; 6,8]	0,004 [0,002; 0,005]	15,2 [10,4; 22]	0,01 [0,01; 0,04]	70,4 [67; 83]	0,09 [0,05; 0,2]
3 мес., $n=10$	22,3 [9,9; 29,5]*	0,009 [0,008; 0,034]*	22 [17; 25,5]	0,01 [0,0095; 0,03]	45,5 [33; 63,8]	0,04 [0,02; 0,01]
6 мес., $n=7$	14 [7,3; 41]	0,009 [0,002; 0,03]	32 [18; 42]	0,02 [0,005; 0,046]	31,8 [22,7; 47,7]	0,02 [0,004; 0,04]
9 мес., $n=5$	18 [15,7; 22]	0,01 [0,004; 0,04]	28 [27,3; 32]	0,03 [0,02; 0,05]	22,7 [21,6; 48,8]	0,02 [0,02; 0,03]
12 мес., $n=5$	27,9 [24; 36,8]	0,01 [0,0065; 0,045]	39 [23; 46]	0,015 [0,0065; 0,03]	16,4 [14,3; 27,5]	0,013 [0,003; 0,04]

Примечание: * $p<0,008$.

При оценке динамики ПК и ПБ отмечалось снижение их абсолютных показателей, выявляемое к 6–9-му мес. после инициации БЛМ, к 6-му мес. наблюдения у 4 из 7 пациентов не определялись в периферической крови ПБ, у 3 из 7 — ПК. Однако к 12-му мес. доля ПК нарастала (рисунок 14 а, б).

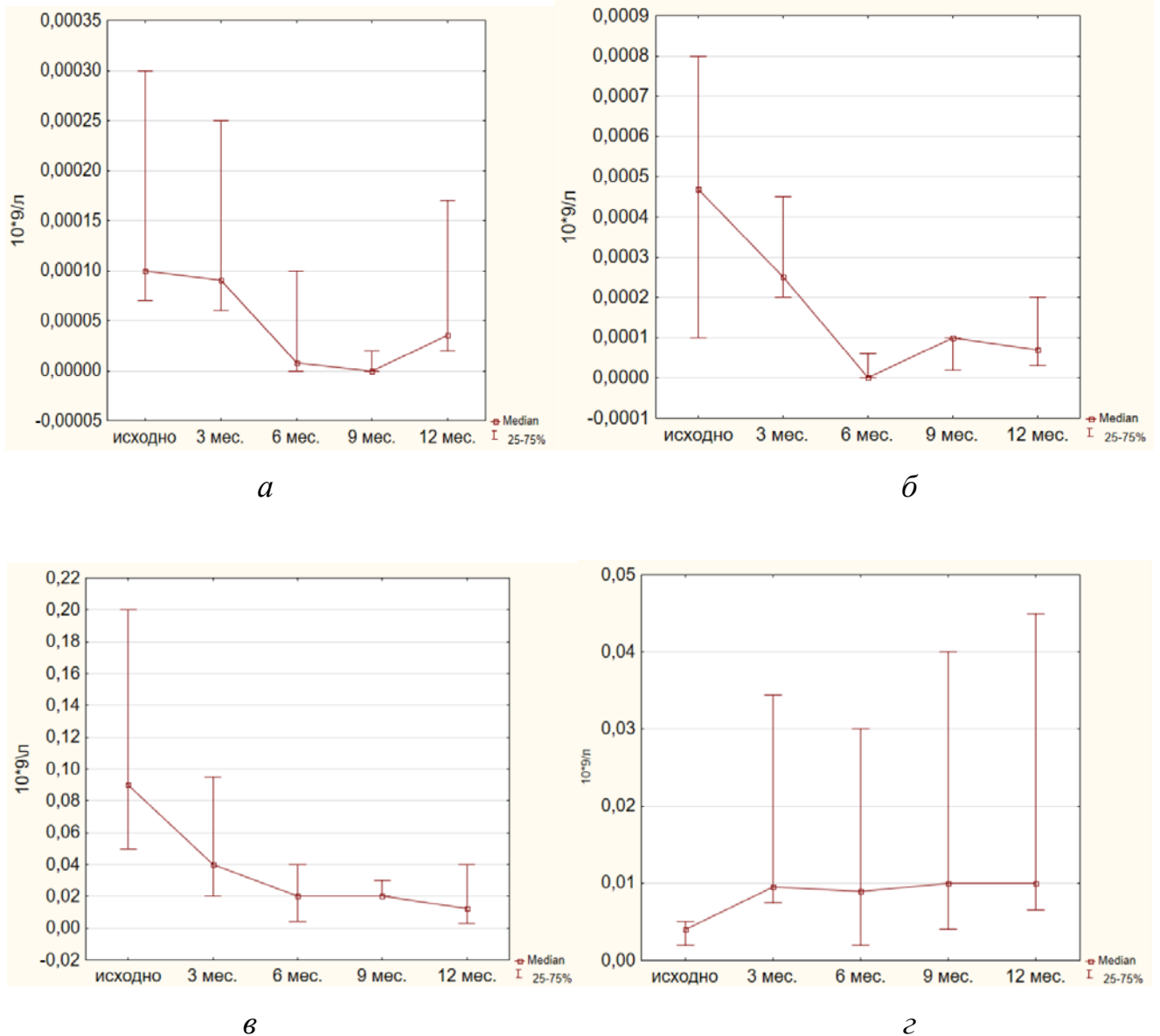


Рисунок 14. Динамика субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии БЛМ за 12 мес. наблюдения ($\times 10^9/\text{л}$): а — плазматические клетки; б — плазмобласты; в — наивные В-клетки; г — непереключенные В-клетки памяти

У одной больной с недостаточной эффективностью терапии БЛМ, переведенной в последующем на комбинированный метод лечения, концентрация непереключенных В-клеток памяти почти не менялась, однако отмечено нарастание процентного и абсолютного содержания переключенных В-клеток памяти. У другой пациентки, эффективность терапии у которой была достигнута только к 9-му мес., наблюдалось увеличение как непереключенных, так и в большей степени переключенных В-клеток памяти. У обеих больных наивные

В-лимфоциты имели тенденцию к снижению в динамике, а к 9-му мес. их процентное количество сократилось в 3 раза.

Таким образом, терапия БЛМ способствовала снижению клинико-лабораторной активности заболевания с 3-го мес. наблюдения с последующим нарастанием эффекта. Заметное снижение иммунологических показателей отмечается с 6-го мес. после инициации ГИБП, что вероятно связано с сокращением к этому времени количества ПК и ПБ вплоть до полной их деплеции. БЛМ оказывал влияние на общее содержание CD19+ В-лимфоцитов и количество наивных В-лимфоцитов, приводя к постепенному их снижению вне зависимости от эффективности терапии. Возможным предиктором ответа на терапию может являться увеличение процентного и абсолютного количества непереключенных В-клеток памяти к 3-му мес. наблюдения.

3.4. Влияние комбинированной терапии ритуксимабом и белимумабом на субпопуляции В-лимфоцитов

Комбинированную терапию получали 7 пациентов с различными симптомами СКВ, преимущественно с высокой степенью активности заболевания. У одной больной выявлялся васкулит, у другой — ВН, остальные обладали преимущественно кожно-суставными изменениями. Медиана возраста больных составляла 20 [20; 38] лет, длительность заболевания — от 1 года до 16 лет. У 2 пациентов без тяжелых органных поражений терапия РТМ была инициирована в дозе 500 мг, другие получили 1000 мг однократно.

После инициации РТМ постинфузионная аллергическая реакция наблюдалась у 3 пациентов в виде появления элементов крапивницы с зудом, у одного больного усилились проявления васкулита. Симптомы были купированы после применения ПТ ГК. У остальных больных переносимость ГИБП была удовлетворительной. К 3-му мес. ответ на терапию был достигнут у 4 человек, у них зарегистрировано снижение SLEDAI-2K более чем на 6 баллов. У двух других

ответ получен к 6-му мес. наблюдения после подключения БЛМ. У одной больной терапия с применением комбинации РТМ и БЛМ была неэффективна. Еще у одного больного отмечалось обострение СКВ на 9-м мес. наблюдения ввиду задержки в получении инфузии БЛМ (таблица 19).

Таблица 19. Характеристика комбинированной терапии ($n=7$)

Порядковый номер пациента	Основные клинические проявления	Антитела к Ro, La	Достижение эффекта от терапии, мес.	Особенность случая	Исход
58-й	васкулит, эритема, язвы слизистой рта	+	3 мес.	постинфузионная реакция на 2-е сут.	клиническая ремиссия, SLEDAI-2K — 2 балла
59-й	артрит, эритема	—	3 мес.	—	клиническая ремиссия, SLEDAI-2K — 2 балла
48-й	артрит, высыпания, энантема	+	6 мес.	постинфузионная реакция на 8-е сут.	SLEDAI-2K — 6 баллов, снижена доза пероральных ГК без риска нового обострения и ухудшения
60-й	ВН, алопеция	нет данных	3 мес.	—	клиническая ремиссия, SLEDAI-2K — 2 балла
61-й	артрит, фасциит	+	6 мес.	обострение на 9-м мес. наблюдения из-за задержки в получении БЛМ	полное купирование артрита, фасциита. Высыпания на лице, эритема Гатчинсона. SLEDAI-2K — 10 баллов
62-й	артрит, энантема, полисерозит	+	—	неэффективность терапии	сохранение активности заболевания, неэффективность ГИБП, ПТ ГК и цитостатической терапии, плазмафереза
63-й	артрит, энантема	—	3-й мес.	—	клиническая ремиссия, SLEDAI-2K — 4 балла

При оценке активности СКВ отмечено прогрессирующее снижение активности заболевания в течение периода наблюдения согласно индексам активности SLEDAI-2K и BILAG (исходно — 10 [9; 16] / 17 [10; 18], через 12 мес. — 3 [2; 6] / 1 [1; 2] баллов) (рисунок 15).

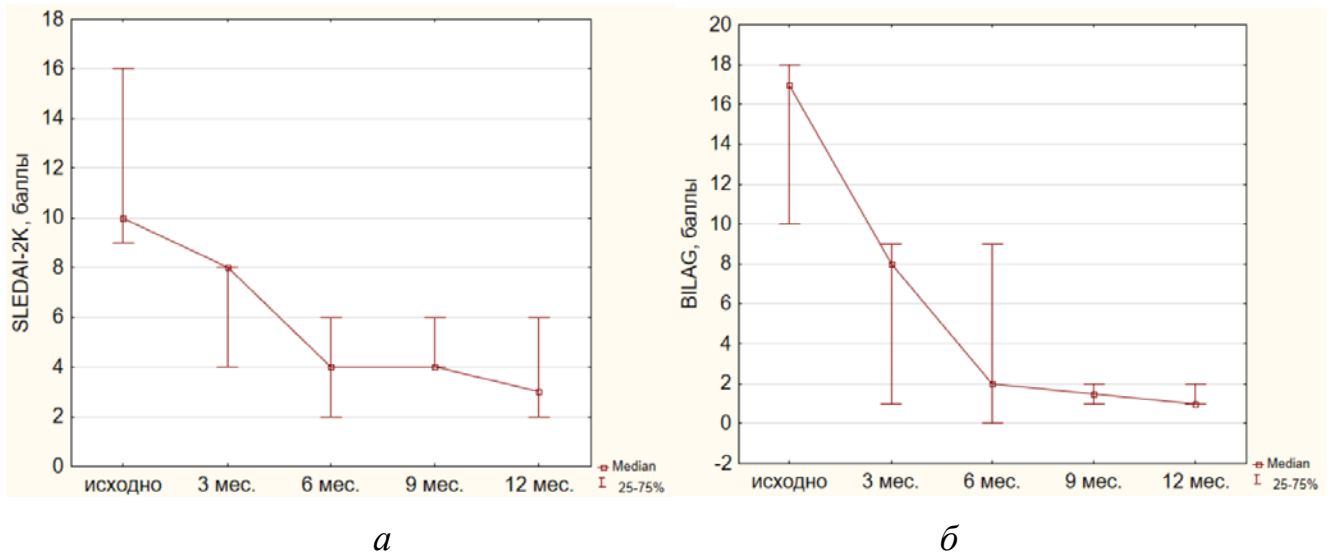


Рисунок 15. Динамика активности СКВ по SLEDAI-2K и BILAG, баллы ($n=7$):
а — SLEDAI-2K; б — BILAG

За указанный период титр антител к дсДНК снижался (174 [36; 300] Ед/мл и 12 [6; 34] Ед/мл исходно и через 12 мес.). Одновременно отмечалось увеличение С3 (0,4 [0,37; 0,44] и 0,85 [0,81; 0,88] г/л исходно и на 12-й мес.) и С4 компонентов комплемента (0,038 [0,03; 0,054] и 0,17 [0,15; 0,26] г/л исходно и на 12-й мес.). Такая терапия оказывала влияние на концентрацию IgG (19 [16,1; 21] г/л, 10,8 [10,6; 11] г/л исходно и через 12 мес. соответственно) и IgM (1,7 [1; 6] г/л и 0,5 [0,4; 0,5] г/л исходно и через 12 мес. соответственно), однако в целом их средний уровень оставался в пределах нормы. Концентрация IgA соответствовала нормальным показателям (рисунок 16). Только у одной пациентки, у которой наблюдалось снижение IgM до 0,2 г/л, на 9-м мес., выявлено обострение хронического цистита. У остальных больных признаков легкой или тяжелой инфекции не зарегистрировано.

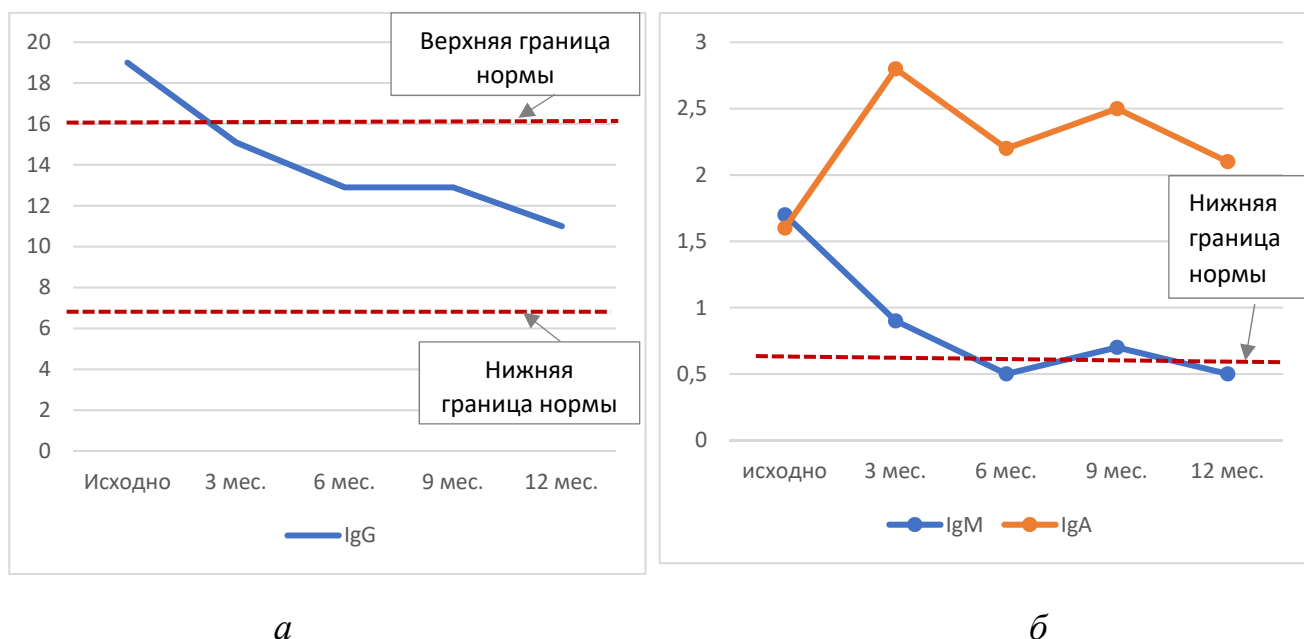


Рисунок 16. Динамика иммунологических параметров у больных, получавших комбинированную терапию, Ме: *а* — динамика IgG; *б* — динамика IgA, IgM

К 3-му мес. полная деплеция достигнута только у 2 пациентов (№ 58, 59), частичная — у одного (№ 63), отсутствие деплеции замечено у 4 пациентов, что соответствует 57%. Учитывая ранее полученные результаты по влиянию терапии БЛМ на В-лимфоциты, а именно их снижение на фоне непрерывных инфузий ГИБП, представлялось любопытным оценить дальнейшую динамику общей популяции В-лимфоцитов после подключения этого препарата у пациентов с комбинированной терапией. В этой связи была проведена количественная оценка общей популяции В-лимфоцитов у 16 пациентов с СКВ, получавших однократно только РТМ; полученные результаты были сравнены с данными на каждого пациента, получавшего комбинированную терапию, которые представлены на рисунке 17. Были получены следующие результаты: у 16 пациентов с монотерапией ГИБП после достижения полной и частичной деплеции в дальнейшем отмечалось нарастание В-лимфоцитов ($p < 0,003$), тогда как среди пациентов, получавших комбинированное лечение ГИБП (даже несмотря на отсутствие полной деплеции у большего количества человек), количество В-лимфоцитов продолжало

сокращаться на протяжении всего периода наблюдения. Кроме того, у больных с полной и частичной деплецией наблюдалась более медленная их репопуляция.

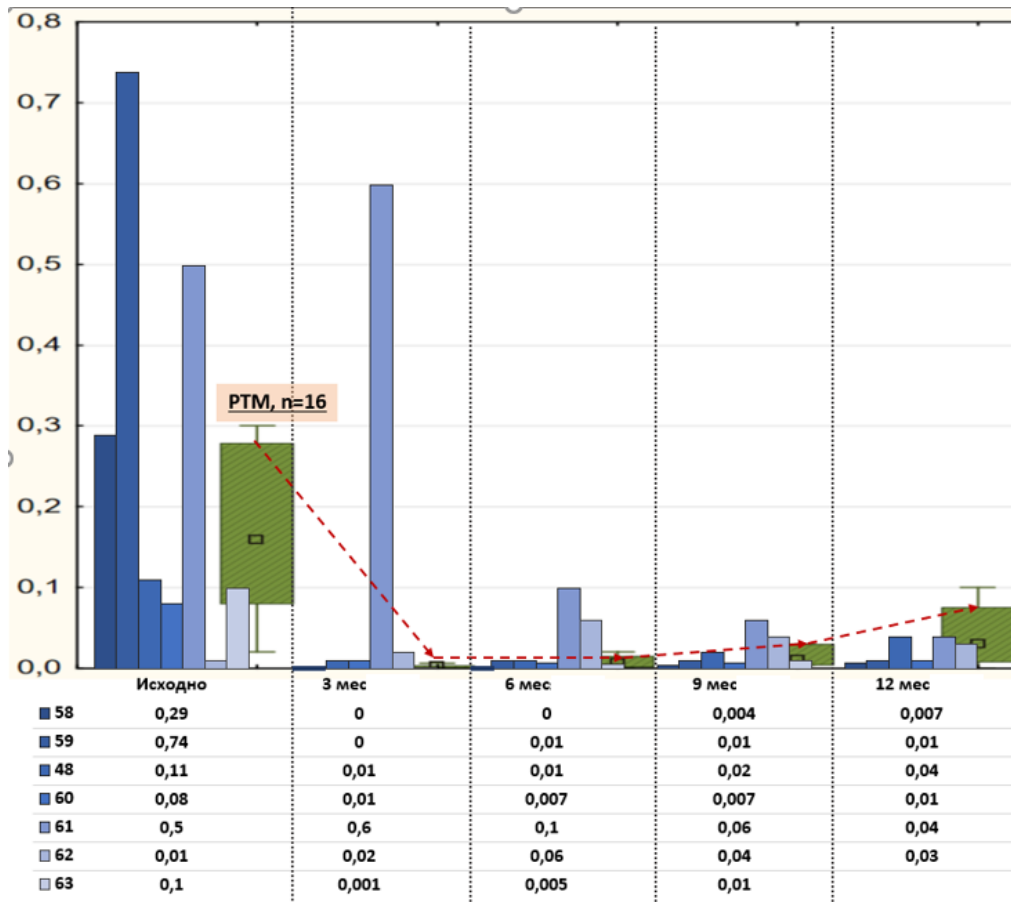


Рисунок 17. Динамика абсолютного количества CD19+ лимфоцитов на фоне комбинированной терапии и лечения РТМ, абсолютные значения $\times 10^9/\text{л}$
Примечание: синяя шкала — количество CD19+ В-лимфоцитов у 7 пациентов, находящихся на комбинированной терапии РТМ и БЛМ; зеленая шкала — количество CD19+ В-лимфоцитов у 16 пациентов, находящихся на терапии РТМ (повторных инфузий РТМ в течение наблюдения не было)

У пациентов, получавших РТМ однократно с 6-го мес., отмечалась тенденция к нарастанию ПК и ПБ. Комбинированный метод терапии способствовал поддержанию низкого количества этих клеток среди больных с полной и частичной деплецией (№ 58, 59, 63) или дальнейшему их сокращению у больных, у которых деплеция после курса РТМ не была достигнута (рисунок 18).

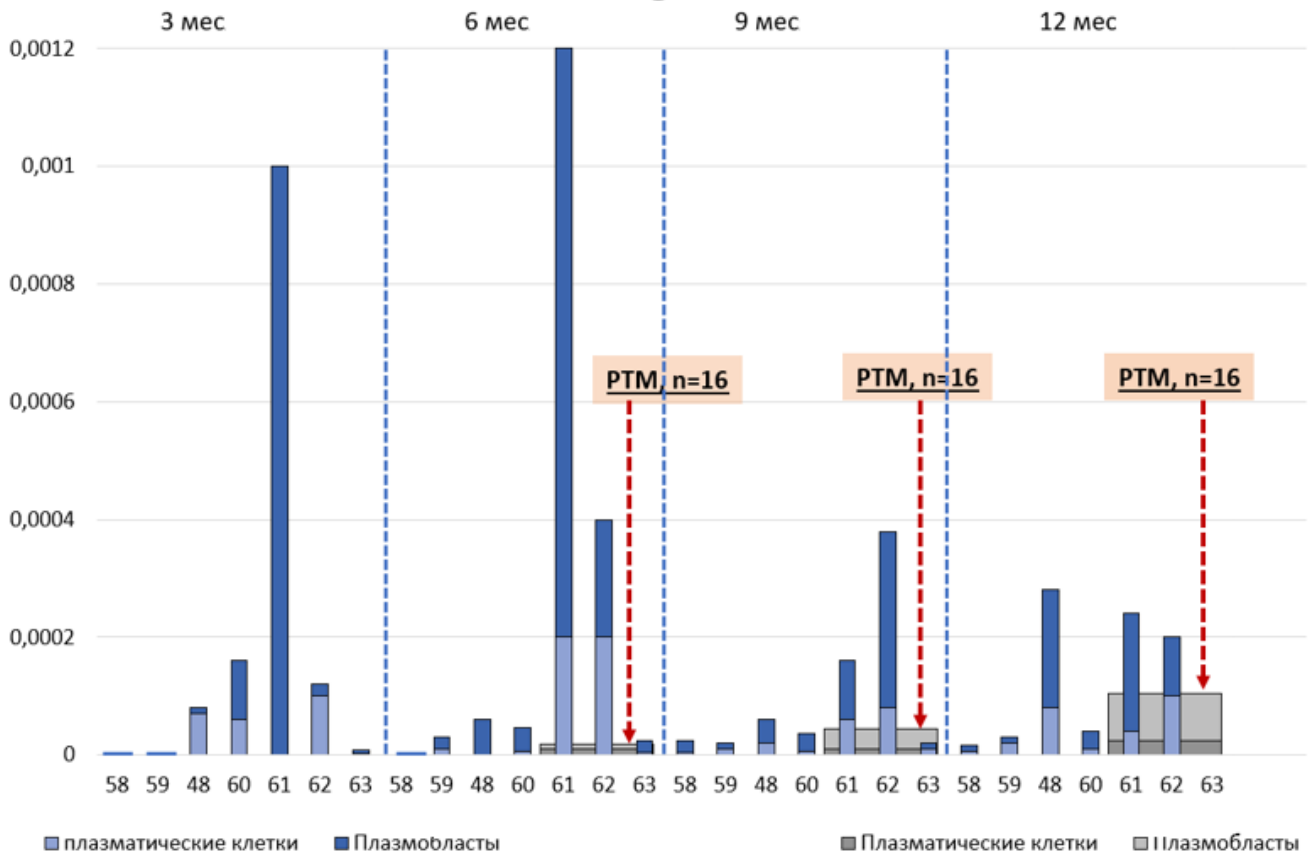


Рисунок 18. Количество ПБ и ПК у 7 пациентов, находящихся на комбинированной терапии в динамике на 3, 6, 9, 12-й месяц

Репопуляция В-лимфоцитов на фоне комбинированной терапии происходила как и при монотерапии РТМ, а именно отмечалось восстановление наивных, ДН В-клеток памяти, нарастание процентного соотношения у части пациентов за счет непереключенных, у других — за счет переключенных В-клеток памяти. К 12-му мес. процентное соотношение субпопуляций В-лимфоцитов почти соответствовало исходному, однако отмечалась более высокая доля непереключенных В-клеток памяти (3,7 [2,7; 14,5]% и 23,6 [10,5; 39,4]% исходно и через 12 мес. соответственно) и сокращение наивных В-клеток (69 [21; 83]% и 34 [10; 43]% исходно и через 12 мес. соответственно) по сравнению с исходным составом. Процентное количество общей популяции В-лимфоцитов памяти среди пациентов, у которых был достигнут эффект после инициации РТМ, также имело тенденцию к снижению, а после подключения БЛМ дальнейшей динамики этих субпопуляций

не отмечалось и к 12-му мес. наблюдения они обнаруживались в низкой концентрации.

Таким образом, терапия с комбинированным применением РТМ и БЛМ показала хорошую эффективность среди пациентов с различными проявлениями СКВ, на фоне которой у большинства пациентов удалось контролировать течение заболевания, иммунологические показатели крови. Комбинированное применение ГИБП позволило контролировать общую популяцию В-лимфоцитов, в результате чего происходило более медленное их восстановление среди пациентов, у которых была достигнута полная деплеция после курса РТМ и продолжающееся сокращение количества В-клеток у больных с отсутствием деплеции. Терапия способствовала поддержанию в низких концентрациях ПБ и ПК, общей популяции В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов.

3.5. Особенности терапии при применении различных генно-инженерных биологических препаратов

47 пациентов, находящиеся на терапии РТМ, получали различные дозы пероральных ГК: 29 (61%) человек — преимущественно средние дозы, 11 (24%) — высокие, лишь 7 (15%) человек получали низкие дозы ГК. У больных, которым была проведена терапия БЛМ, применялись средние (60%) и низкие дозы (40%) ГК. 7 пациентам, получавшим комбинированную терапию, также назначались средние (57%) и низкие (43%) дозы пероральных ГК.

В течение первых 3 мес. терапия ГК практически не менялась ни в одной группе. К 6-му мес. доза пероральных ГК снижена почти на четверть у группы пациентов, находящихся на терапии РТМ и получавших высокие и средние дозы ГК, а также в группе БЛМ и комбинированной терапии. К 12-му мес. Ме дозы пероральных ГК во всех трех группах составляла не более 10 мг. Ввиду возникновения обострения СКВ у части больных, получавших РТМ на сроках 6, 9 и 12 мес., потребовалось проведение дополнительной терапии с применением

повторных курсов РТМ у 8 человек (20%), ПТ ГК — у 2 пациентов (5%), ПТ ЦФ — у 1 (2,5%), присоединение микофенолата мофетила — у 1, доза пероральных ГК не менялась. В дополнительном проведении ПТ ГК и ЦФ ввиду обострения СКВ за период наблюдения среди пациентов, получавших комбинированную терапию, нуждался только 1 пациент, у которого был зарегистрирован рецидив заболевания на 9-м мес. наблюдения (№ 61).

На рисунке 19 отображена динамика дозы пероральных ГК у больных, получавших РТМ, которые были разделены на 3 подгруппы в зависимости от начальной дозы принимаемого препарата (высокие, средние и низкие), а также динамика дозы ГК у пациентов, получавших БЛМ и сочетание РТМ и БЛМ. Эти данные демонстрируют, что применение комбинированной терапии позволяло поддерживать дозу ГК на низком уровне.

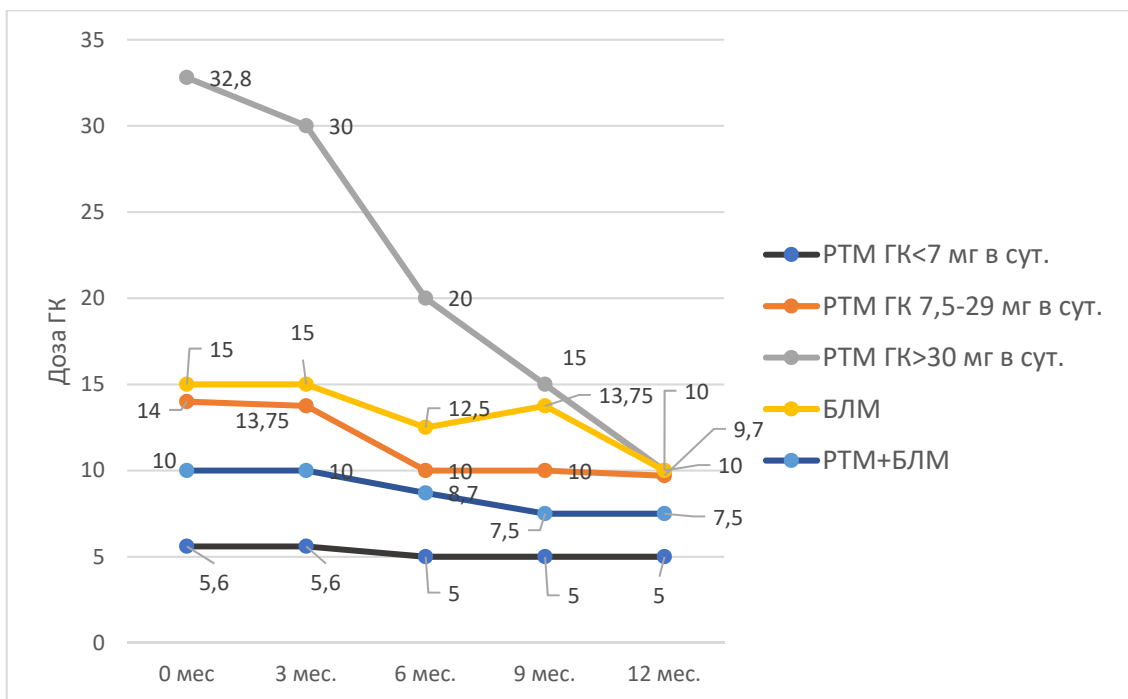


Рисунок 19. Доза пероральных ГК у пациентов, получавших РТМ, БЛМ и комбинированное лечение, Ме

Примечание: доза пероральных ГК для пациентов, находящихся на терапии РТМ и разделенных на 3 подгруппы в зависимости от исходной дозы ГК (высокие, средние, низкие) и пациентов, получающих БЛМ и комбинацию РТМ и БЛМ.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходное содержание субпопуляций В-лимфоцитов. В настоящей работе изучалась связь между соотношением субпопуляций В-клеток и активностью СКВ, гомеостаз В-клеток на фоне лечения ГИБП, возможность идентификации среди субпопуляций В-клеток потенциальных предикторов ответа, эффективности терапии ГИБП. Ранее в работах нескольких авторов была отмечена особая роль ДН В-клеток памяти в развитии СКВ. Изучение этой субпопуляции позволило выдвинуть ряд теорий. Так, С. Wei и соавторы отметили превалирующее их количество среди всех популяций В-клеток памяти у больных СКВ, а также их нарастание у пациентов с активным ВН [150], что также подчеркнули L. Zhu и соавторы [160]. J. Anolik и соавторы получили аналогичные результаты, кроме того, отметили одновременное снижение уровня наивных В-лимфоцитов и ПБ [16]. S. Iwata и соавторы отмечали значительное увеличение ДН В-клеток памяти среди пациентов с СКВ по сравнению со здоровыми донорами и подчеркивали ассоциацию этих субпопуляций не только с развитием ВН, но и активностью СКВ [66]. A. Jacobi и соавторы заметили повышение уровня ДН В-клеток у пациентов с СКВ, но корреляции с активностью заболевания не прослеживали [68].

Полученные нами результаты свидетельствуют о увеличении процентного соотношения ДН В-клеток памяти у больных СКВ по сравнению со здоровыми донорами, что подтверждается данными других авторов [68, 150, 160, 66, 117]. Кроме того, выявлена взаимосвязь между высокой активностью СКВ и содержанием этих субпопуляций в периферической крови [66, 117], а их количество коррелировало с активностью ВН [150, 160, 66]. Одновременно при нарастании ДН В-клеток памяти зарегистрировано снижение количества наивных В-клеток у пациентов с высокой активностью СКВ. Возможно, низкий уровень наивных В-клеток в данном случае обусловлен их усиленным потреблением на последующих этапах развития В-лимфоцитов с нарастанием количества В-клеток памяти, антителопродуцирующих клеток (периферической крови и тканевых), что

приводит к увеличению синтеза аутоантител, прогрессированию и усилению активности заболевания. Таким образом, есть две точки опоры для дополнительного уточнения степени активности заболевания — это снижение количества наивных В-лимфоцитов с увеличением числа ДН В-клеток памяти, что ассоциируется с высокой активностью СКВ. Более того, об активности ВН может свидетельствовать уровень ДН В-клеток памяти, т. е. чем выше их количество у больных СКВ с активным поражением почек (без нарушения концентрационно-фильтрационной функции органа), тем активнее ВН.

Часть работ посвящена роли ПК и ПБ в течении СКВ. Многие исследования указывают, что их количество при СКВ нарастает. Так, в нескольких публикациях [16, 66, 117] было отмечено повышение ПК у больных СКВ по сравнению со здоровыми донорами. Часть авторов выдвинула предположения, что более высокое содержание ПК может коррелировать с активностью и продолжительностью СКВ, позитивностью по определенным антителам, ассоциированным с СКВ (антитела к Ro, La и Sm) [69, 83] и концентрации антител к дсДНК [69]. При определении концентрации ПБ в периферической крови в нашем исследовании также было получено высокое их процентное содержание у пациентов с СКВ вне зависимости от длительности и активности СКВ при сравнении со здоровыми донорами. Отмечено их высокое процентное количество среди пациентов с низкой концентрацией С4 компонента комплемента, однако корреляции определенных антител с уровнем ПБ и ПК не выявлено.

О характере распределения непереключенных и переключенных В-клеток памяти в нескольких исследованиях были получены различные, порой противоречивые результаты. Так, по данным L. Zhu и соавторов, зарегистрировано сокращение числа этих субпопуляций среди больных с дебютом СКВ, тогда как у больных с длительно текущим заболеванием доля переключенных В-клеток памяти нарастала [160]. S. Iwata и соавторы заметили, что количество непереключенных В-клеток было значительно меньше при активной СКВ при сравнении с неактивной формой заболевания [66]. В исследовании J. Kosalka и соавторов отмечено более низкое количество непереключенных и высокое переключенных В-клеток памяти

у больных с ВН [72]. В работах В. Rodriguez-Bayona и соавторов выявлено достоверное снижение переключенных и непереключенных В-клеток памяти при активной СКВ при сравнении со здоровыми донорами [117]. В этом же исследовании были получены данные о том, что количество непереключенных В-клеток памяти имеет взаимосвязь с иммунологической активностью, а именно высокий титр антител к дсДНК, АНФ при низком количестве этих субпопуляций. Вероятно, отличия в вышеприведенных данных были получены ввиду разных методов систематизации пациентов, например, в группу больных с длительно текущей СКВ могли быть включены пациенты с активной и неактивной формой СКВ. Кроме того, группы чаще сравнивали между собой, взяв за основу пациентов с неактивной СКВ, соответственно, отличался и характер гомеостаза различных субпопуляций В-клеток на момент исследования.

В наше исследование были включены пациенты только с активной СКВ ввиду поставленных задач. Исходя из полученных результатов было выявлено достоверное сокращение числа переключенных В-клеток памяти у всех больных СКВ по сравнению со здоровыми донорами, уровень которых не зависел от степени активности и длительности заболевания. На количество же непереключенных В-клеток памяти могла влиять длительность течения СКВ [69], а именно сохранение их нормальных процентных значений в дебюте, которые были сопоставимы со здоровыми донорами, тогда как среди пациентов с длительностью СКВ более 1 года их содержание заметно сокращалось [117], кроме того, подобное наблюдалось и среди больных со средней степенью активности заболевания. Несмотря на это количество непереключенных В-клеток памяти в периферической крови не коррелировало с активностью заболевания. Впервые выявлена взаимосвязь между наличием высокопозитивного АНФ и увеличенным количеством непереключенных В-клеток памяти, а также сокращением процентного количества переключенных В-клеток памяти при высокой концентрации антител к дсДНК. В свою очередь, низкий уровень С4 компонента комплемента наблюдался при повышенном содержании в периферической крови больных СКВ ПБ ($>0,0002 \cdot 10^9/\text{л}$) Особенности распределения В-клеток памяти у

больных СКВ могут иметь следующее обоснование. В процессе своего формирования переключенные В-клетки памяти проходят все контрольные точки негативной селекции, кроме того, имеют более низкий порог активации, а также обладают гиперответом на различные раздражители [68]. После антигенного стимула они легче дифференцируются в ПК, что в последующем приводит к увеличенному синтезу антител [93]. Поскольку пациенты, включенные в исследование, имели активную форму СКВ, это объясняет снижение переключенных В-клеток памяти за счет их активации и дифференцировки в ПБ и ПК, уровень которых у больных СКВ также нарастает. Следовательно, при сокращении переключенных В-клеток памяти наблюдается более высокая концентрация антител к дсДНК. Взаимосвязь между значениями АНФ, С4 компонента комплемента и количеством непереключенных В-клеток памяти требует дальнейшего наблюдения и обсуждения.

Таким образом, концентрация непереключенных и переключенных В-клеток памяти в периферической крови у больных СКВ имеет важное значение в развитии СКВ, и если количество ДН В-клеток памяти диктует степень активности заболевания, динамика непереключенных и переключенных В-клеток, скорее, свидетельствует о дисбалансе, который развивается при данном заболевании.

А. Ясоби и соавторы утверждали, что уровень циркулирующих субпопуляций В-лимфоцитов (наивные В-клетки, В-клетки памяти и ПК) не зависел от возраста или пола больных, но может быть связан с продолжительностью заболевания [69]. Мы также не получили подтверждения ассоциации различных субпопуляций с возрастом больных, тем не менее у пациентов с дебютом СКВ выявлено увеличение общей популяции CD19+ В-лимфоцитов за счет всех субпопуляций В-клеток, кроме наивных и переключенных В-клеток памяти, процентный и абсолютный уровень которых не отличался от больных с длительностью заболевания более 1 года.

Динамика активности СКВ и гуморального иммунитета при применении РТМ, БЛМ и комбинированной терапии. Основной мишенью таргетной терапии при СКВ являются В-лимфоциты [86]. В нескольких

экспериментальных открытых клинических исследованиях сообщалось, что терапия истощения В-клеток РТМ безопасна и эффективна для лечения СКВ, в том числе и при ВН [23]. Несмотря на то что РТМ остается препаратом off label в терапии СКВ, Американская коллегия ревматологов, Европейская антиревматическая лига и другие национальные ассоциации ревматологов рекомендуют использовать РТМ при отсутствии эффекта стандартной терапии у больных СКВ. Другой ГИБП — БЛМ, эффективность которого подтверждена в масштабных клинических исследованиях, официально зарегистрирован для лечения СКВ. Различные по механизму действия, однако имеющие одну конечную точку — В-лимфоциты, РТМ и БЛМ занимают ключевое место в современной терапии СКВ. В нашем исследовании представлен опыт применения РТМ и БЛМ, а также комбинированное лечение РТМ и БЛМ, продемонстрированы их особенности влияния на гуморальный и прежде всего клеточный иммунитет и течение заболевания, отмечены предполагаемые предикторы ответа на терапию ГИБП.

Терапия ГИБП у больных СКВ оказалась довольно эффективной, отмечено снижение клинической и иммунологической активности заболевания к 3-му мес. после инициации терапии, дальнейшее нарастание клинического эффекта и снижение иммунологической активности в течение периода наблюдения. В скорости достижения клинического эффекта и влияния на показатели иммунологической активности в группах больных, получавших различные ГИБП, были выявлены определенные различия. Наши данные подтверждают хорошую эффективность БЛМ у пациентов с поражением суставов, кожи, слизистых оболочек и высокой иммунологической активностью. При оценке динамики иммунологических показателей выявлено, что терапия БЛМ приводила к постепенному снижению уровня антител к dsDNA и повышению комплемента сыворотки крови с 6-го мес. наблюдения, более выраженному к 12-му мес., в то же время положительная динамика клинических проявлений СКВ наблюдалась уже к 3-му мес. с нарастанием эффекта [137, 54]. Так, по данным С. Collins и соавторов,

применение БЛМ у 501 больных СКВ приводило к медленному развитию клинического эффекта на сроках от 6 до 12 мес. терапии [31].

У пациентов, получавших РТМ и комбинированное лечение, наблюдалась более высокая активность СКВ, чем у пациентов, получающих монотерапию БЛМ. Инициация терапии РТМ приводила к быстрому снижению активности, уровня анти-ДНК и повышению С3 и С4 компонентов комплемента, причем более значимое нарастание наблюдалось при достижении полной деплеции после курса ГИБП. Полученные нами данные согласуются с результатами S. Iwata и соавторов, проанализировавших результаты применения РТМ у 63 пациентов с СКВ, рефрактерных к стандартной терапии [66]. Авторы отметили быстрое и длительное (1 год) снижение активности (SLEDAI и BILAG $p < 0,0001$), снижение дозы преднизолона ($p < 0,0001$) и снижение уровня анти-ДНК (с 35,7 до 9,4 U/ml), повышение комплемента (с 39,2 до 46,5 U/ml).

Достижение подобных результатов стало доступным благодаря направленному действию РТМ и БЛМ на В-лимфоциты. Однако применение одинакового подхода к терапии у больных СКВ не всегда приводит к ожидаемому результату. В этой связи неудивительно, что существующие исследования ориентированы на поиск среди субпопуляций В-лимфоцитов предикторов ответа на терапию и, следовательно, проводится подробный анализ гомеостаза этих популяций на фоне различного рода терапии.

Динамика субпопуляций В-лимфоцитов при применении РТМ. Длительность эффекта после курса терапии РТМ составляет около 4-6 месяцев [26]. S. Nakayamada и соавторы сообщают, что такое лечение вызывает быстрое истощение наивных В-клеток и непереключенных В-клеток памяти, тогда как ПК персистируют в организме до 28 дней [101]. Длительность ремиссии, вероятно, связана со стойким истощением В-клеток памяти вне зависимости от репопуляции наивных В-клеток. В этом же исследовании рецидив был замечен среди пациентов с более высоким количеством непереключенных В-клеток памяти. В одной из работ S. Iwata и соавторы получили аналогичные результаты [65]. По данным M. Leandro и соавторов, после курса РТМ остаточными клетками являются

В-клетки памяти и ПК [82]. Р. Roll и соавторы после достижения деплеции и начала репопуляции отметили увеличение наивных В-клеток, которые преобладали над другими субпопуляциями В-лимфоцитов, в то время как количество В-клеток памяти восстанавливалось значительно медленнее и сохранялось на низком уровне в течение 2 лет [118].

В нашем исследовании мы получили схожие результаты. Терапия РТМ приводила к выраженному сокращению В-лимфоцитов преимущественно за счет наивных [101, 65] и ДН В-клеток памяти, при этом остаточными клетками являлись различные субпопуляции В-клеток памяти и наивные В-клетки, процентное распределение которых зависело от степени деплеции В-лимфоцитов [82]. При оценке влияния РТМ на субпопуляции В-клеток была выявлена любопытная особенность. Такому виду терапии хуже поддавались непереключенные и переключенные В-клетки памяти, что удалось выявить при анализе В-клеток среди больных с отсутствием деплеции после курса РТМ. Несмотря на истощение других субпопуляций, абсолютное количество этих В-клеток памяти к 3-му мес. наблюдения не отличалось от исходных значений.

Восстановление В-клеток происходило больше за счет наивных и клеток памяти [101, 65], причем в дебюте репопуляции превалировала доля переключенных или непереключенных В-клеток памяти, что было выявлено среди больных, получавших и РТМ, и комбинированную терапию ГИБП. Полученные данные отражают характер восстановления клеток после достижения истощения В-лимфоцитов. Однако в дальнейшем субпопуляции В-клеток стремились к восстановлению исходного процентного количества, т. е. происходило нарастание наивных и ДН В-клеток при более низких концентрациях непереключенных и переключенных В-клеток памяти [118].

Тем не менее при длительном наблюдении зарегистрировано, что после успешного применения ГИБП происходит крайне медленное восстановление переключенных и общей популяции В-клеток памяти, количество которых к 12-му мес. было значимо ниже при сравнении с исходным составом. Последние могут сохраняться в малых количествах несколько лет, что подтверждают данные,

полученные при исходном анализе 10 пациентов с ранее проводимой терапией РТМ, процентная концентрация которых была существенно ниже при сравнении с больными СКВ без предшествующей терапии ГИБП.

Другой нашей задачей был поиск предиктора ответа на терапию РТМ. Так, М. Yusof и соавторами было отмечено, что наличие ответа на ГИБП может быть ассоциировано с низким исходным количеством ПК [158]. J. Anolik и соавторы достижение подобных результатов связывали со степенью восстановления В-клеток памяти [14]. В нашем исследовании показано, что неполная деплеция В-лимфоцитов связана с наличием высокого базального процентного количества ПК (более 0,2%), но не В-клетками памяти, что также подтверждается данными М. Yusof и соавторов [158]. Эти данные могут способствовать более качественному подбору терапии с применением РТМ, целью которой является полное клеточное истощение при помощи либо увеличения дозы ГИБП, либо применения дополнительной инфузии среди больных с более высоким содержанием ПК. Такой результат позволит применять индивидуальный подход к конкретному пациенту.

Динамика субпопуляций В-лимфоцитов при применении БЛМ. В настоящее время существует очень мало исследований по динамике субпопуляций В-лимфоцитов на фоне применения БЛМ. Имеющиеся данные свидетельствуют об определенном влиянии этого ГИБП на клеточные популяции. Так, А. Jacobi и соавторы заметили, что лечение БЛМ приводит к сокращению числа наивных, переходных В-клеток и ПК [70]. Схожие результаты получены в работах Е. Pontarini и соавторов [113], где аналогичные изменения с 24-й нед. ассоциировались с нормализацией иммунологических параметров (С4, АНФ и ревматоидного фактора). В свою очередь, W. Stohl и соавторы среди особенностей действия БЛМ на субпопуляции В-клеток выделили отсутствие влияния такой терапии на В-клетки памяти [128].

В нашем наблюдении отмечено, что терапия БЛМ приводила к снижению количества наивных В-клеток [128, 70, 113], а у большей части пациентов — к сокращению и общей популяции CD19⁺ В-лимфоцитов, однако полная или частичная деплеция В-клеток не достигнута. Эти результаты практически не

зависели от эффективности терапии. Лечение БЛМ приводило к снижению доли ПК и ПБ [70, 113], а у части больных к 6-му мес. эти субпопуляции не определялись в периферической крови, одновременно с этим отмечалось выраженное снижение иммунологической активности СКВ (снижение антител к дсДНК, нарастание С4 компонента комплемента) [113]. Поскольку 3 пациентов получали ГИБП до 9-го мес. и наблюдение за ними продолжалось до 12 мес., это могло обосновать нарастание после 9-го мес. количества ПК и ПБ. Так, в экспериментальных исследованиях W. Halpern и соавторов продемонстрировано снижение числа ПК на фоне применения БЛМ, однако эти явления были обратимыми после отмены препарата в среднем через 5 мес. [56].

Нами впервые были получены данные о нарастании абсолютного числа непереключенных В-клеток памяти, зарегистрированном к 3-му мес. наблюдения без последующего увеличения их количества в динамике, которое наблюдалось среди пациентов, достигших ответа на БЛМ. Такие изменения могут иметь компенсаторный характер как результат дифференцировки части наивных В-лимфоцитов в клетки памяти. В то же время у 2 пациентов с отсутствием или более медленным достижением эффекта происходило нарастание переключенных В-клеток памяти. Такой характер изменений клеточного соотношения В-лимфоцитов памяти требует дальнейшего обсуждения. В будущем включение в исследование большего количества пациентов позволит уточнить причину такой динамики субпопуляций под действием БЛМ. Тем не менее в настоящее время можно только предположить, что нарастание количества непереключенных В-клеток памяти при сравнении с базальным их количеством может быть предиктором ответа на терапию.

Нарастание процентной доли непереключенных и ДН В-клеток памяти в течение последующих 12 мес. происходило за счет сокращения процентного содержания наивных В-клеток, что не несет диагностической ценности.

Динамика субпопуляций В-лимфоцитов при применении комбинированной терапии РТМ и БЛМ. Механизмы действия РТМ и БЛМ различны и направлены на подавление определенных субпопуляций

В-лимфоцитов. К РТМ чувствительны преимущественно наивные В-клетки и В-клетки памяти, имеющие на своей поверхности мембранные CD20 антигены [101, 65]. БЛМ, блокируя BlyS, воздействует на транзиторные, наивные В-клетки и ПК, что приводит к подавлению характерной для СКВ В-клеточной гиперреактивности, в частности, синтеза аутоантител [128, 70, 113]. Кроме того, блокада BlyS может приводить к снижению выживаемости В-клеток в ростковых центрах лимфоидных органов, дифференцировки В-клеток памяти в аутоантитело-продуцирующие клетки и синтеза провоспалительных цитокинов [70, 113]. Подчеркнем, что лечение высокими дозами ГК способствует нормализации уровня BlyS в сыворотке крови. Попытки снижения дозы препарата у части больных могут приводить к рецидиву СКВ за счет увеличения концентрации BlyS. Назначение ингибиторов BlyS позволяет постепенно снизить дозу ГК с минимальным риском обострения заболевания [5]. Таким образом, перекрывающие друг друга механизмы действия РТМ и БЛМ способствуют более эффективному подавлению аутореактивных В-клеток, снижению выработки широкого спектра аутоантител, длительному поддержанию достигнутого эффекта.

Существуют совсем немного исследований эффективности комбинированной терапии с применением РТМ и БЛМ, большая часть из которых демонстрирует влияние ГИБП на клинико-лабораторные параметры больных СКВ. Выявлено только одно исследование, ориентированное на подробный анализ субпопуляций В-лимфоцитов, полученный при наблюдении за (NZB/NZW) F1 мышами. W. Lin и соавторы выдвинули предположение, что терапия обеспечивает значительное улучшение течения и выживаемости при СКВ за счет наиболее эффективной деплеции тканевых и циркулирующих аутореактивных В-клеток, включая ПБ и ПК, что способствует снижению выработки аутоантител [83]. В исследованиях T. Kraaij и F. Simonetta и соавторы отмечали высокую эффективность терапии у больных с ВН [73, 127]. R. Gualtierotti и соавторы продемонстрировали эффективность такой терапии у 3 больных, которые были невосприимчивы к стандартной терапии [54]. Последовательное применение РТМ и БЛМ позволило достигнуть длительной ремиссии, обеспечило возможность

снижения дозы пероральных ГК. Кроме того, после применения РТМ зарегистрировано увеличение VLyS, количество которого снижалось при подключении БЛМ.

Несмотря на различия в истории развития и тяжести заболевания, комбинированный метод терапии показал высокую эффективность у наших пациентов: наблюдалось улучшение клинической картины, лабораторных маркеров активности СКВ, в частности, повышение концентрации С3, С4 компонентов комплемента, стойкое снижение концентрации антител к дсДНК. Даже несмотря на развитие постинфузионной реакции после применения РТМ у части больных, подключение БЛМ не сопровождалось неблагоприятными реакциями, переносимость двойной терапии была удовлетворительной у всех пациентов. В динамике инфузионных реакций не наблюдалось, тяжелых инфекций также не зарегистрировано. Концентрация Ig сохранялась в пределах референсных значений. Благодаря такой терапии удалось поддерживать дозу ГК в средних и низких значениях.

Нами впервые продемонстрировано влияние комбинированной терапии на субпопуляции В-лимфоцитов на примере больных СКВ. Такой вид лечения способствовал лучшей управляемости В-лимфоцитов. Последовательное применение ГИБП позволило контролировать общую популяцию В-лимфоцитов, в результате чего происходила более медленная их репопуляция среди больных, у которых была достигнута полная деплеция после курса РТМ, и продолжающееся сокращение у больных с отсутствием деплеции. Кроме того, ПК и ПБ удавалось поддерживать в низком количестве вне зависимости от первичного ответа на РТМ.

К 12-му мес. процентное распределение всех субпопуляций В-лимфоцитов стремилось к исходному составу. Тем не менее за счет применения БЛМ процентное количество непереключенных В-клеток памяти увеличивалось, а наивных В-клеток — сокращалось. В то же время лечение РТМ приводило к снижению общей популяции В-клеток памяти.

На основании полученных результатов можно предположить, что комбинированная терапия ГИБП:

- обеспечивает значительное снижение активности СКВ;
- способствует быстрому снижению дозы ГК, уменьшая риск развития необратимых органных повреждений;
- обеспечивает снижение числа аутореактивных В-лимфоцитов, в частности, ПК, ПБ, наивных и общей популяции В-клеток памяти;
- способствует быстрой и стойкой нормализации лабораторных маркеров активности заболевания (концентрации антител к dsДНК, С3, С4 компонентов комплемента).

Таким образом, применение одновременно двух ГИБП в лечении пациентов с активной СКВ является новым перспективным методом терапии, способствующим быстрому подавлению обострения заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Изучение гомеостаза субпопуляций В-лимфоцитов у больных СКВ позволило установить, что количественное распределение различных популяций В-клеток отличается от здоровых доноров, а также зависит от активности, длительности, клинико-иммунологических параметров СКВ. Оценка динамики субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии ГИБП способствовала выявлению возможных предикторов эффективности проводимого лечения.

2. У больных СКВ выявляется низкое количество переключенных ($p < 0,0006$) и высокое количество ДН В-клеток памяти ($p < 0,04$) и ПБ ($p < 0,04$) по сравнению со здоровыми донорами. В дебюте СКВ преобладают непереключенные клетки памяти ($p < 0,01$) и общая популяция В-лимфоцитов памяти ($p < 0,04$).

3. При высокой активности СКВ (SLEDAI-2K > 10 баллов) определяется повышенная процентная доля ДН В-клеток ($p < 0,015$) и низкое значение наивных В-лимфоцитов ($p < 0,0018$) по сравнению со средней степенью активности. Выявлена ассоциация между наличием активного ВН и количеством ДН В-клеток памяти ($r = 0,72$, $p < 0,05$), ПК ($r = 0,52$, $p < 0,05$) и наивных В-лимфоцитов ($r = -0,71$, $p < 0,05$).

4. Выявлено достоверно более низкое процентное содержание непереключенных В-лимфоцитов памяти у пациентов с низким титром АНФ ($p < 0,02$). Повышенное содержание переключенных В-клеток памяти определяется при низких значениях антител к дсДНК ($p < 0,014$), а низкий уровень С4 компонента комплемента выявляется при высоком количестве ПБ ($> 0,0002 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,00087$).

5. К 3-му мес. после терапии РТМ достижение полной деплеции В-лимфоцитов соответствует низкой активности СКВ по SLEDAI-2K/BILAG 4 — [2; 10] / 8 [1; 10], при отсутствии полной В-клеточной деплеции резидуальными клетками являются наивные В-клетки и различные субпопуляции В-клеток памяти. Неполная деплеция В-лимфоцитов отмечается при повышенном базальном количестве ПК (более 0,2%).

6. Начало репопуляции В-клеток после терапии РТМ характеризуется нарастанием непереключенных и переключенных В-клеток памяти. Через год наблюдения отмечается более низкое процентное количество переключенных В-клеток памяти ($p < 0,035$) и общей популяции В-клеток памяти ($p < 0,000012$) при сравнении с базальными данными.

7. Терапия БЛМ способствует снижению клинико-лабораторной активности заболевания к 3-му мес. наблюдения. Снижение иммунологических показателей выявляется с 6-го мес. после инициации ГИБП, в то же время отмечается уменьшение количества ПК и ПБ. БЛМ может оказывать влияние на общее содержание CD19⁺ В-лимфоцитов и количество наивных В-лимфоцитов.

8. Применение комбинированной терапии приводило к более медленной репопуляции В-лимфоцитов, способствовало торможению роста числа ПК и ПБ, поддержанию низких концентраций общей популяции В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов. Наблюдалась тенденция к снижению клинико-лабораторной активности СКВ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Низкое количество переключенных и высокое содержание ДН В-клеток памяти и ПБ может служить маркером для ранней диагностики СКВ.

2. Дополнительным показателем высокой активности СКВ является повышенное количество ДН В-клеток при одновременном низком содержании наивных В-лимфоцитов.

3. Учитывая выявленную зависимость между высоким базальным содержанием ПК и неполной В-клеточной деплецией после применения РТМ, оценка количества ПК до введения ГИБП может способствовать подбору дозы препарата с целью достижения полной В-клеточной деплеции и, соответственно, ожидаемого клинического ответа.

4. Комбинированный метод терапии РТМ и БЛМ у больных со средней и высокой степенью активности СКВ обеспечивает снижение активности заболевания, достижение и поддержание ремиссии, возможность ведения пациентов на средних и низких дозах ГК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова, Е. Н. В-клетки при аутоиммунных ревматических заболеваниях / Е. Н. Александрова [и др.] // Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб / под ред. Е. Л. Насонова. — М.: ИМА-Пресс, 2012. — С. 8-45.
2. Асеева, Е. А. Генно-инженерные биологические препараты в терапии системной красной волчанки / Е. А. Асеева, С. К. Соловьев, Е. Л. Насонов // Современная ревматология. — 2013. — № 3. — С. 33–40.
3. Клюквина, Н. Г. Системная красная волчанка: многообразие форм и вариантов течения / Н. Г. Клюквина // Современная ревматология. — 2011. — № 4. — С. 25-30.
4. Левицки, А. Ритуксимаб в терапии системной красной волчанки / А. Левицки, Л. Сара, Р. Ф. Волленховен // Научно-практическая ревматология. — 2013. — Т. 51. — № 3. — С. 223–239.
5. Насонов, Е. Л. Белимумаб: прогресс в лечении системной красной волчанки / Е. Л. Насонов [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2012. — Т. 54. — № 5. — Р. 13-19.
6. Насонов, Е. Л. Перспективы фармакотерапии системной красной волчанки / Е. Л. Насонов, С. К. Соловьев // Научно-практическая ревматология. — 2014. — Т. 52. — № 3. — С. 311-321.
7. Ревматология: национальное руководство / под ред. Е. Л. Насонова, В. А. Насоновой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 714 с.
8. Супоницкая, Е. В. Клиническое значение BAFF/BLyS и APRIL при системной красной волчанке и ревматоидном артрите / Е. В. Супоницкая, Е. Н. Александрова, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. — 2014. — Т. 52. — № 5. — С. 545–552.
9. Супоницкая, Е. В. Определение субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуорометрии у здоровых лиц и

больных ревматическими заболеваниями / Е. В. Супоницкая [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2015. — Т. 60. — № 6. — С. 30-33.

10. Торгашина, А. В. Применение ритуксимаба у больных волчаночным нефритом / А. В. Торгашина [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2010. — Т. 48. — № 4. — С. 14-26.

11. Торгашина, А. В. Т-регуляторные клетки при системной красной волчанке и ревматоидном артрите / А. В. Торгашина [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2009. — Т. 47. — № 3. — С. 50-59.

12. Цанян, М. Э. Эффективность терапии ритуксимабом у больных рефрактерной к стандартной терапии системной красной волчанкой при длительном динамическом наблюдении / М. Э. Цанян [и др.] // Научно-практическая ревматология. — 2014. — Т. 52. — № 2. — С. 159-168.

13. Albert, D. Variability in the biological response to anti-CD20 B cell depletion in systemic lupus erythaematosus / D. Albert [et al.] // Annals of the rheumatic diseases. — 2008. — Vol. 67. — No. 12. — P. 1724–1731.

14. Anolik, J. H. Delayed memory B cell recovery in peripheral blood and lymphoid tissue in systemic lupus erythematosus after B cell depletion therapy / J. H. Anolik [et al.] // Arthritis and rheumatism. — 2007. — Vol. 56. — No. 9. — P. 3044–3056.

15. Anolik, J. H. Insights into the heterogeneity of human B cells: diverse functions, roles in autoimmunity, and use as therapeutic targets / J. H. Anolik [et al.] // Immunologic research. — 2009. — Vol. 45. — No. 2-3. — P. 144-158.

16. Anolik, J. H. Rituximab improves peripheral B cell abnormalities in human systemic lupus erythematosus / J. H. Anolik [et al.] // Arthritis and rheumatism. — 2004. — Vol. 50. — No. 11. — P. 3580–3590.

17. Arbuckle, M. R. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus / M. R. Arbuckle [et al.] // The New England journal of medicine. 2003. — Vol. 349. — No. 16. — P. 1526–1533

18. Arriens, C. Systemic lupus erythematosus biomarkers: the challenging quest / C. Arriens [et al.] // Rheumatology. — 2017. — Vol. 56. — Suppl. 1. — P. i32–i45.

19. Avery, D. T. BAFF selectively enhances the survival of plasmablasts generated from human memory B cells / D. T. Avery [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. — 2003. — Vol. 112. — No. 2. — P. 286-297.
20. Baker, K. P. Generation and characterization of LymphoStat-B, a human monoclonal antibody that antagonizes the bioactivities of B lymphocyte stimulator / K. P. Baker [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2003. — Vol. 48. — No. 11. — P. 3253–3265.
21. Bakshi, J. Unmet needs in the pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus [electronic recourse] / J. Bakshi [et al.] // *Link.springer: site*. — URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12016-017-8640-5>.
22. Bekar, K. W. Prolonged effects of short-term anti-CD20 B cell depletion therapy in murine systemic lupus erythematosus / K. W. Bekar [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2010. — Vol. 62. — No. 8. — P. 2443–2457.
23. Bertsias, G. K. Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis / G. K. Bertsias [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2012. — Vol. 71. — No. 11. — P. 1771–1782.
24. Boghdadi, G. Increased serum APRIL differentially correlates with distinct cytokine profiles and disease activity in systemic lupus erythematosus patients / G. Boghdadi, E. A. Elewa // *Rheumatology international*. — 2014. — Vol. 34. — No. 9. — P. 1217-1223.
25. Borchers, A. T. Surviving the butterfly and the wolf: mortality trends in systemic lupus erythematosus / A. T. Borchers [et al.] // *Autoimmunity reviews*. — 2004. — Vol. 3. — No. 6. — P. 423–453.
26. Cambridge, G. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: relationships among serum B lymphocyte stimulator levels, autoantibody profile and clinical response / G. Cambridge [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2008. — Vol. 67. — No. 7. — P. 1011-1016.

27. Chan, O. T. A novel mouse with B cells but lacking serum antibody reveals an antibody-independent role for B cells in murine lupus / O. T. Chan [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. — 1999. — Vol. 189. — No. 10. — P. 1639–1164.
28. Carter, L. M. Elevated serum BAFF levels are associated with rising anti-double-stranded DNA antibody levels and disease flare following B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus / L. M. Carter, D. A. Isenberg, M. R. Ehrenstein // *Arthritis and rheumatism*. — 2013. — Vol. 65. — No. 10. — P. 2672-2679.
29. Cervera, R. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe / R. Cervera, M. A. Khamashta, G. R. Hughes // *Lupus*. — Vol. 18. — No. 10. — P. 869-874.
30. Chang, S. K. B lymphocyte stimulator regulates adaptive immune responses by directly promoting dendritic cell maturation / S. K. Chang, S. A Mihalcik, D. F. Jelinek // *The Journal of Immunology*. — 2008. — Vol. 180. — No. 11. — P. 7394–7403.
31. Collins, C. E. Response to belimumab among patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice settings: 24-month results from the OBSERVE study in the USA / C. E. Collins [et al.] // *Lupus science and medicine*. — 2016. — Vol. 3. — No. 1. — P. e000118.
32. Cruz-Topete, D. One hormone two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids / D. Cruz-Topete, J. A. Cidlowski // *Neuroimmunomodulation*. — 2015. — Vol. 22. — No. 1-2. — P. 20-32.
33. Dai, C. Genetics of systemic lupus erythematosus: immune responses and end organ resistance to damage / C, Dai [et al.] // *Current opinion in immunology*. — 2014. — Vol. 31. — P. 87–96.
34. Davidson, A. The rationale for BAFF inhibition in systemic lupus erythematosus / A. Davidson // *Current rheumatology reports*. — 2012. — Vol. 14. — No. 4. — P. 295–302.
35. De Vita, S. Sequential therapy with belimumab followed by rituximab in Sjögren's syndrome associated with B-cell lymphoproliferation and overexpression of BAFF: evidence for long-term efficacy / S. De Vita [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. — 2014. — Vol. 32. — No. 4. — P. 490-494.

36. Dias, S. S. Longer duration of B cell depletion is associated with better outcome Longer duration of B cell depletion is associated with better outcome / S. S. Dias [et al.] // *Rheumatology*. — Vol. 54. — No. 10. — P. 1876-1881.
37. Doria, A. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus / A. Doria [et al.] // *The American journal of medicine*. — 2006. — Vol. 119. — No. 8. — P. 700–706.
38. Doria, A. Optimizing outcome in SLE: treating to target and definition of treatment goals / A. Doria [et al.] // *Autoimmunity reviews*. — 2014. — Vol. 13. — No. 7. — P. 770–777.
39. Dörner, T. Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus / T. Dörner [et al.] // *Journal of immunological methods*. — 2011. — Vol. 363. — No. 2. — P. 87-97.
40. Dörner, T. B cells in autoimmunity / T. Dörner, A. M. Jacobi, P. E. Lipsky // *Arthritis research and therapy*. — 2009. — Vol. 11. — No. 5. — P. 247.
41. Durcan, L. Why targeted therapies are necessary for systemic lupus erythematosus / L. Durcan, M. Petri // *Lupus*. — 2016. — Vol. 25. — No. 10. — P. 1070–1079.
42. Eder, L. Damage in lupus patients—what have we learned so far? / L. Eder, M. B. Urowitz, D. D. Gladman // *Lupus*. — 2013. — Vol. 22. — No. 12. — P. 1225–1231.
43. Elbirt, D. BLYS levels in sera of patients with systemic lupus erythematosus: clinical and serological correlation / D. Elbirt // *The Israel Medical Association journal*. — 2014. — Vol. 16. — No. 8. P. 491-496.
44. Flechsig, A. What is the clinical significance of anti-Sm antibodies in systemic lupus erythematosus? A comparison with anti-dsDNA antibodies and C3 / A. Flechsig [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. — 2017 — Vol. 35. — No. 4. — P. 598-606.
45. Flint, S. M. A distinct plasmablast and naïve B-cell phenotype in primary immune thrombocytopenia / S. M. Flint [et al.] // *Haematologica*. — 2016. — Vol. 101. — No. 6. — P. 698-706.

46. Frankovich, J. D. European ancestry decreases the risk of early onset, severe lupus nephritis in a single center, multiethnic pediatric lupus inception cohort / J. D. Frankovich, J. J. Hsu, C. I. Sandborg // *Lupus*. — 2012. — Vol. 21. — No. 4. — P. 421–429.

47. Friebus-Kardash, J. Immune complexes containing serum B-cell activating factor and immunoglobulin G correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus / J. Friebus-Kardash [et al.] // *Nephrology, dialysis, transplantation*. — 2018. — Vol. 33 — No. 1. — P. 54-64.

48. Furie, R. A phase III, randomized, placebocontrolled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus / R. Furie [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2011. — Vol. 63. — No. 12. — P. 3918–3930.

49. Furtado, J. B cell elimination in systemic lupus erythematosus / J. Furtado, D. A. Isenberg // *Clinical immunology*. — 2013. — Vol. 146. — No. 2. — P. 90-103.

50. M. Gatto. When to use belimumab in SLE / M. Gatto [et al.] // *Expert review of clinical immunology*. — 2017. — Vol. 13. — No. 8. — P. 737-740.

51. Ginzler, E. Disease Control and safety of Belimumab plus standard therapy over 7 years in patients with systemic lupus erythematosus / E. Ginzler [et al.] // *The Journal of rheumatology*. — 2014. — Vol. 41. — No. 2. — P. 300-309.

52. Gladman, D. D. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000 / D. D. Gladman, D. Ibañez, M. B. Urowitz // *The Journal of rheumatology*. — 2002. — Vol. 29. — No. 2. — P. 288–291.

53. Gottschalk, T. A. Pathogenic inflammation and its therapeutic targeting in systemic lupus erythematosus / T. A. Gottschalk, E. Tsantikos, M. L. Hibbs // *Frontiers in immunology*. — 2015. — Vol. 6. — P. 550.

54. Gualtierotti, R. Successful sequential therapy with rituximab and belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a case series / R. Gualtierotti [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. — 2018. — Feb 27. [Epub ahead of print].

55. Gunnarsson, I. Histopathologic and clinical outcome of rituximab treatment in patients with cyclophosphamide-resistant proliferative lupus nephritis / I. Gunnarsson [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2007. — Vol. 56. — No. 4. — P. 1263–1272.
56. Halpern, W. G. Chronic administration of belimumab, a BLYS antagonist, decreases tissue and peripheral blood B-lymphocyte populations in cynomolgus monkeys: pharmacokinetic, pharmacodynamics and toxicologic effects / W. G. Halpern [et al.] // *Toxicological sciences*. — 2006. — Vol. 91. — No. 2. — P. 586-599.
57. Halverson, R. Receptor editing is the main mechanism of B cell tolerance toward membrane antigens / R. Halverson, R. M. Torres, R. Pelanda // *Nature Immunology*. — 2004. — Vol. 5. — No. 6. — P. 645–650.
58. Hiepe, F. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation / F. Hiepe [et al.] // *Nature reviews. Rheumatology*. — 2011. — Vol. 7. — No. 3. — P. 170–178.
59. Hoyer, B. F. Short-lived plasmablasts and long-lived plasma cells contribute to chronic humoral autoimmunity in NZB/W mice / B. F. Hoyer // *The Journal of experimental medicine*. — 2004. — Vol. 199. — No. 11. — P. 1577-1584.
60. Huang, W. BAFF/APRIL inhibition decreases selection of naïve but not antigen-induced autoreactive B cells in murine systemic lupus erythematosus / W. Huang // *The Journal of Immunology*. — 2011. — Vol. 187. — No. 12. — P. 6571–6580.
61. Hui-Yuen, J. S. Safety and efficacy of belimumab in systemic lupus erythematosus academic clinical practices / J. S. Hui-Yuen [et al.] // *The Journal of rheumatology*. — 2015. — Vol. 42. — No. 12. — P. 2288-2295.
62. Iaccarino, L. Clinical predictors of response and discontinuation of belimumab in patients with systemic lupus erythematosus in real life setting. Results of a large, multicentric, nationwide study / L. Iaccarino [et al.] // *Journal of autoimmunity*. — 2018. — Vol. 86. — P. 1-8.
63. Illei, G. G. Tocilizumab in systemic lupus erythematosus — safety, preliminary efficacy, and impact on circulating plasma cells / G. G. Illei [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2010. — Vol. 62. — No. 2. — P. 542–552.

64. Inês, L. Classification of systemic lupus erythematosus: systemic lupus international collaborating clinics versus American college of rheumatology criteria. A comparative study of 2,055 patients from a real-life, international systemic lupus erythematosus cohort / L. Inês [et al.] // *Arthritis care and research*. — 2015. — Vol. 67. — No. 8. — P. 1180-1185.

65. Iwata, S. Efficacy and safety of anti-CD20 antibody rituximab for patients with refractory systemic lupus erythematosus / S. Iwata [et al.] // *Lupus*. — 2018. — Vol. 27. — No. 5. — P. 802-811.

66. Iwata, S. B-cell subsets, signaling and their roles in secretion of autoantibodies / S. Iwata, Y. Tanaka // *Lupus*. — 2016. — Vol. 25. — No. 8. — P. 850-856.

67. Jacob, C. O. Dispensability of APRIL to the development of systemic lupus erythematosus in NZM 2328 mice / C. O. Jacob [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2012. — Vol. 64. — No. 5. — P. 1610-1619.

68. Jacobi, A. M. Activated memory B cell subsets correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus delineation by expression: of CD27, IgD, and CD95 / A. M. Jacobi [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2008. — Vol. 58. — No. 6. — P. 1762-1773.

69. Jacobi, A. M. Correlation between circulating CD27 (high) plasma cells and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus / A. M. Jacobi [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2003. — Vol. 48. — No. 5. — P. 1332-1342.

70. Jacobi, A. M. Effect of long-term belimumab treatment on B cells in systemic lupus erythematosus: extension of a phase II, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study / A. M. Jacobi [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2010. — Vol. 62. — No. 1. — P. 201-210.

71. Khare, S. D. Severe B cell hyperplasia and autoimmune disease in TALL-1 transgenic mice / S. D. Khare [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2000. — Vol. 97. — No. 7. — P. 3370–3375.

72. Kosalka, J. Changes of memory B- and T-cell subsets in lupus nephritis patients / J. Kosalka, B. Jakiela, J. Musial // *Folia histochemica et cytobiologica*. — 2016. — Vol. 54. — No. 1. — P. 32-41.
73. Kraaij, T. Belimumab after rituximab as maintenance therapy in lupus nephritis / T. Kraaij [et al.] // *Rheumatology*. — 2014. — Vol. 53. — No. 11. — P. 2122-2124.
74. Kubo, S. Peripheral immunophenotyping identifies three subgroups based on T cell heterogeneity in lupus patients / S. Kubo [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2017. — Vol. 69. — No. 10. — P. 2029-2037.
75. Kyttaris, C. Novel treatments in lupus vasileios / C. Kyttaris // *Current rheumatology reports*. — 2017. — Vol. 19. — No. 3. — P. 10.
76. Lande, R. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus / R. Lande [et al.] // *Science translational medicine*. — 2011. — Vol. 3. — No. 73. — P. 73ra19.
77. Lateef, A. Unmet medical needs in systemic lupus erythematosus / A. Lateef, M. Petri // *Arthritis research and therapy*. — 2012. — Vol. 14. — Suppl. 4. — P. S4.
78. Lavie, F. Increase of B cell-activating factor of the TNF family (BAFF) after rituximab treatment: insights into a new regulating system of BAFF production / F. Lavie [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2007. — Vol. 66. — No. 5. — P. 700-703.
79. Lazaro, E. Biotherapies in systemic lupus erythematosus: New targets / E. Lazaro [et al.] // *Joint, Bone, Spine*. — 2017. — Vol. 84. — No. 3. — P. 267-274.
80. Lazarus, M. N. Ehrenstein1 B-cell numbers and phenotype at clinical relapse following rituximab therapy differ in SLE patients according to anti-dsDNA antibody levels / M. N. Lazarus [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. — 2012. — Vol. 51. — No. 7. — P. 1208-1215.
81. Leandro, M. J. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients / M. J. Leandro [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. — 2005. — Vol. 44. — No. 12. — P. 1542-1545.

82. Leandro, M. J. Reconstitution of peripheral blood B cell after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis / M. J. Leandro [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2006. — Vol. 54. — No. 2. — P. 613-620.
83. Lin, W. Dual B cell immunotherapy is superior to individual anti-CD20 depletion or BAFF blockade in murine models of spontaneous or accelerated lupus / W. Lin. [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2015. — Vol. 67. — No. 1. — P. 215-224.
84. Lindholm, C. Longterm clinical and immunological effects of anti-CD20 treatment in patients with refractory systemic lupus erythematosus / C. Lindholm [et al.] // *The Journal of rheumatology*. — 2008. — Vol. 35. — No. 5. — P. 826-833.
85. Lino, A. C. Cytokine-producing B cells: a translational view on their roles in human and mouse autoimmune diseases / A. C. Lino [et al.] // *Immunological Reviews*. — 2016. — Vol. 269. — No. 1. — P. 130-144.
86. Liossis, S. C. B Cell-based treatments in SLE: past experience and current directions / S. C. Liossis, C. Staveri // *Current rheumatology reports*. — 2017. — Vol. 19. — No. 12. — P. 78.
87. Lisnevskaja, L. Systemic lupus erythematosus / L. Lisnevskaja, G. Murphy, D. Isenberg // *Lancet*. — 2014. — Vol. 384. — No. 9957. — P. 1878-1888.
88. Looney, R. J. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus a phase I/II dose-escalation trial of rituximab / R. J. Looney [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2004. — Vol. 50. — No. 8. — P. 2580–2589.
89. Lund, F. E. Cytokine-producing B lymphocytes-key regulators of immunity / F. E. Lund // *Current opinion in immunology*. — 2008. — Vol. 20. — No. 3. — / P. 332-338.
90. Mackay, F. B-cell stage and context-dependent requirements for survival signals from BAFF and the B-cell receptor / F. Mackay [et al.] // *Immunological Reviews*. — 2010. — Vol. 237. — No. 1. — P. 205-225.
91. Mackay, F. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations / F. Mackay [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. — 1999. — Vol. 190. — No. 11. — P. 1697-1710.

92. Magro-Checa, C. Management of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: current approaches and future perspectives / C. Magro-Checa [et al.] // *Drugs*. — 2016. — Vol. 76. — No. 4. — P. 459-483.
93. Maïga, R. I. Human CD38hiCD138⁺ plasma cells can be generated in vitro from CD40-activated switched-memory B lymphocytes / R. I. Maïga [et al.] // *Journal of immunology research*. — 2014. — Vol. 2014. — Article ID 635108.
94. Mak, A. The pathology of T cells in systemic lupus erythematosus / A. Mak, N. Y. Kow // *Journal of immunology research*. — 2014. — Vol. 2014. — Article ID 419029.
95. Márquez, A. IL2/IL21 region polymorphism influences response to rituximab in systemic lupus erythematosus patients / A. Márquez [et al.] // *Molecular biology reports*. — 2013. — Vol. 40. — No. 8. — P. 4851-4856.
96. Mathian, A. Regulatory T cell responses to high-dose methylprednisolone in active systemic lupus erythematosus / A. Mathian [et al.] // *PLoS One*. — 2015. — Vol. 10. — No. 12. — P.e0143689.
97. Meffre, E. The establishment of early B cell tolerance in humans: lessons from primary immunodeficiency diseases / E. Meffre // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 2011. — Vol. 1246. — No. 1. — P. 1–10
98. Merrill, J. T. Assessment of flares in lupus patients enrolled in a phase II/III study of rituximab (EXPLORER) / J. T. Merrill [et al.] // *Lupus*. — 2011. — Vol. 20. — No. 7. — P. 709–716.
99. Merrill, J. T. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus. The randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial / J. T. Merrill [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2010. — Vol. 62. — No. 1. — P. 222–233
100. Morel, J. To target or not to target APRIL in systemic lupus erythematosus: that is the question! / J. Morel, M. Hahne // *Arthritis research and therapy*. — 2013. — Vol. 15. — P. 107.

101. Nakayamada, S. Relevance of lymphocyte subsets to B cell-targeted therapy in systemic lupus erythematosus / S. Nakayamada, S. Iwata, Y. Tanaka // *International journal of rheumatic diseases*. — 2015. — Vol. 18. — No. 2. — P. 208-218.
102. Navarra, S. V. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial / S. V. Navarra [et al.] // *Lancet*. — 2011. — Vol. 377. — No. 9767. — P. 721-731.
103. Ng, K. P. Repeated B cell depletion in treatment of refractory systemic lupus erythematosus / K.P. Ng [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2006. — Vol. 65. — No. 7. — P. 942-945.
104. Nikbakht, N. Cellular competition independent of BAFF/B lymphocyte stimulator results in low frequency of an autoreactive clonotype in mature polyclonal B cell compartments / N. Nikbakht [et al.] // *The Journal of Immunology*. — 2011. — Vol. 187. — No. 1. — P. 37-46.
105. Ong, C. Ethnicity and lupus nephritis: an Australian single centre study / C. Ong, K. Nicholls, G. Becker // *Internal medicine journal*. — 2011. — Vol. 41. — No. 3. — P. 270-278.
106. Palanichamy, A. Neutrophil mediated IFN activation in the bone marrow alters B cell development in human and murine SLE / A. Palanichamy [et al.] // *The Journal of Immunology*. — 2014. — Vol. 192. — No. 3. — P. 906-918.
107. Paran, D. Is B cell-targeted therapy effective in systemic lupus erythematosus? / D. Paran, Y. Naparstek // *The Israel Medical Association journal*. — 2015. — Vol. 17. — No. 2. — P. 98-103.
108. Petri, M. A. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus / M. A. Petri [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2008. — Vol. 58. — No. 8. — P. 2453-2459.
109. Petri, M. A. Baseline predictors of systemic lupus erythematosus flares: data from the combined placebo groups in the phase III belimumab trials / M. A. Petri [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2013. — Vol. 65. — No. 8. — P. 2143-2153.
110. Petri, M. A. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus /

M. A. Petri [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2012. — Vol. 64. — No. 8. — P. 2677-2686.

111. Petri, M. A. Disease activity assessment in SLE: do we have the right instruments? / M. Petri // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2007. — Vol. 66. — Suppl. 3. — P. iii61–iii64.

112. Pons-Estel, G. J. Anti-malarials exert a protective effect while Mestizo patients are at increased risk of developing SLE renal disease: data from a Latin-American cohort / G. J. Pons-Estel [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. — 2012. — Vol. 51. — No. 7. — P. 1293–1298.

113. Pontarini, E. Treatment with belimumab restores B cell subsets and their expression of B cell activating factor receptor in patients with primary Sjogren's syndrome / E. Pontarini [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. — 2015. — Vol. 54. — No. 8. — P. 1429-1434.

114. Pryor, B. D. Risk factors for serious infection during treatment with cyclophosphamide and high-dose corticosteroids for systemic lupus erythematosus / B. D. Pryor, S. G. Bologna, L. E. Kahl // *Arthritis and rheumatism*. — 1996. — Vol. 39. — No. 9. — P. 1475–1482.

115. Rahman, A. Systemic lupus erythematosus / A. Rahman, D. A. Isenberg // *The New England journal of medicine*. — 2008. — Vol. 358. — No. 9. — P. 929-939.

116. Robledo, G. Association between -174 interleukin 6 gene polymorphism and biological response to rituximab in several systemic autoimmune diseases / G. Robledo [et al.] // *DNA and Cell Biology*. — Vol. 31 — No. 9. — P.1486-1891.

117. Rodriguez-Bayona, B. Decreased frequency and activated phenotype of blood CD27 IgD IgM B lymphocytes is a permanent abnormality in systemic lupus erythematosus patients / B. Rodriguez-Bayona [et al.] // *Arthritis research and therapy*. — 2010. — Vol. 12. — No. 3. — R108.

118. Roll, P. Regeneration of B cell subsets after transient B cell depletion using anti-CD20 antibodies in rheumatoid arthritis / P. Roll [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2006. — Vol. 54. — No. 8. — P. 2377-2386.

119. Roth, D. A. Elevated BLYS levels in patients with systemic lupus erythematosus: associated factors and responses to belimumab / D. A. Roth [et al.] // *Lupus*. — 2016. — Vol. 25. — No. 4. — P. 346–354.
120. Rovin, B. H. Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: the lupus nephritis assessment with rituximab study / B. H. Rovin [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2012. — Vol. 64. — No. 4. — P. 1215–1226.
121. Rubin, L. A. Mortality in systemic lupus erythematosus: the bimodal pattern revisited / L. A. Rubin, M. B. Urowitz, D. D. Gladman // *The Quarterly journal of medicine*. — 1985. — Vol. 55. — No. 216. — P. 87–98.
122. Ryu, S. Associates and predictors of pleurisy or pericarditis in SLE / S. Ryu, W. Fu, M. A Petri // *Lupus science and medicine*. — 2017. — Vol. 4. — No. 1. — P. e000221.
123. Sag, E. Performance of the new SLICC classification criteria in childhood systemic lupus erythematosus: a multicentre study / E. Sag [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. — 2014. — Vol. 32. — No. 3. — P. 440-444.
124. Scapini, P. Myeloid cells, BAFF, and IFN-gamma establish an inflammatory loop that exacerbates autoimmunity in Lyn-deficient mice / P. Scapini, [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. — 2010. — Vol. 207. — No. 8. — P. 1757–1773.
125. Shin, M. S. Effector T cell subsets in systemic lupus erythematosus: update focusing on Th17 cells / M. S. Shin, N. Lee, I. Kang // *Current opinion in rheumatology*. — 2011. — Vol. 23. — No. 5. — P. 444–448.
126. Shirota, Y. Impact of anti-interleukin-6 receptor blockade on circulating T and B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus / Y. Shirota [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2013. — Vol. 72. — No. 1. — P. 118-128.
127. Simonetta, F. Successful treatment of refractory lupus nephritis by the sequential use of rituximab and belimumab / F. Simonetta [et al.] // *Joint, Bone, Spine*. — 2017. — Vol. 84. — No. 2. — P. 235-236.
128. Stohl, W. Belimumab reduces autoantibodies, normalizes low complement, and reduces select B-cell populations in patients with systemic lupus erythematosus /

W. Stohl [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2012. — Vol. 64. — No. 7. — P. 2328-2337.

129. Stohl, W. B lymphocyte stimulator overexpression in patients with systemic lupus erythematosus: longitudinal observations / W. Stohl [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2003. — Vol. 48. — No. 12. — P. 3475-3486.

130. Stohl, W. The discovery and development of belimumab: the anti-BLyS-lupus connection / W. Stohl, D. M. Hilbert // *Nature biotechnology*. — 2012. — Vol. 30. — No. 1. — P. 69-77.

131. Sutton, E. J. The systemic lupus international collaborating clinics (SLICC) damage index: a systematic literature review / E. J. Sutton, J. E. Davidson, I. N. Bruce // *Seminars in arthritis and rheumatism*. — 2013. — Vol. 43. — No. 3. — P. 352-361.

132. Tackey, E. Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus / E. Tackey, P. E. Lipsky, G. G. Illei // *Lupus*. — 2004. — Vol. 13. — No. 5. — P. 339–343.

133. Tesar, V. Belimumab in the management of systemic lupus erythematosus — an update / V. Tesar, Z. Hruskova // *Expert opinion on biological therapy*. — 2017. — Vol. 17. — No. 7. — P. 901-908.

134. Tew, G. W. Baseline autoantibody profiles predict normalization of complement and anti-dsDNA autoantibody levels following rituximab treatment in systemic lupus erythematosus / G. W. Tew [et al.] // *Lupus*. — 2010. — Vol. 19. — No. 2. — P. 146-157.

135. Thamer, M. Prednisone, lupus activity, and permanent organ damage / M. Thamer [et al.] // *The Journal of rheumatology*. — 2009. — Vol. 36. — No. 3. — P. 560–564.

136. Thompson, J. S. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF / J. S. Thompson [et al.] // *Science*. — 2001. — Vol. 293. — No. 5537. — P. 2108–2111.

137. Touma, Z. Belimumab use, clinical outcomes and glucocorticoid reduction in patients with systemic lupus erythematosus receiving belimumab in clinical practice

settings: results from the OBServe Canada Study / Z. Touma [et al.] // *Rheumatology international*. — 2017. — Vol. 37. — No. 6. — P. 865-873.

138. Townsend, M. J. B-cell targeted therapies in human autoimmune diseases: an updated perspective / M. J. Townsend, J. G. Monroe, A. C. Chan [et al.] // *Immunological Reviews*. — 2010. — Vol. 237. — No. 1. — P. 264–283.

139. Treamtrakanpon, W. APRIL, a proliferation-inducing ligand, as a potential marker of lupus nephritis / W. Treamtrakanpon [et al.] // *Arthritis research and therapy*. — 2012. — Vol. 14. — No. 6. — P. R252.

140. Treml, J. F. The BLyS family: toward a molecular understanding of B cell homeostasis / J. F. Treml [et al.] // *Cell biochemistry and biophysics*. — 2009. — Vol. 53. — No. 1. — P. 1–16.

141. Tselios, K. Increase of peripheral T regulatory cells during remission induction with cyclophosphamide in active systemic lupus erythematosus / K. Tselios [et al.] // *International journal of rheumatic diseases*. — 2014. — Vol. 17. — No. 7. — P. 790-795.

142. Vallerskog, T. Differential effects on BAFF and APRIL levels in rituximab-treated patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis / T. Vallerskog [et al.] // *Arthritis research and therapy*. — 2006. — Vol. 8. — No. 6. — P. R167.

143. Vallerskog, T. Treatment with rituximab affects both the cellular and the humoral arm of the immune system in patients with SLE / T. Vallerskog [et al.] // *Clinical immunology*. — 2007. — Vol. 122. — No. 1. — P. 62-74.

144. Vasoo, S. Perspectives on the changing face of lupus mortality / S. Vasoo, G. R. V. Hughes // *Autoimmunity reviews*. — 2004. — Vol. 3. — No. 6. — P. 415–417.

145. Vigna-Perez, M. Clinical and immunological effects of Rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study / M. Vigna-Perez [et al.] // *Arthritis research and therapy*. — 2006. — Vol. 8. — No. 3. — P. R83.

146. Vital, E. M. B cell biomarkers of rituximab responses in systemic lupus erythematosus / E. M. Vital [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2011. — Vol. 63. — No. 10. — P. 3038–3047.

147. Vital, E. M. Brief report: responses to rituximab suggest B cell-independent inflammation in cutaneous systemic lupus erythematosus / E. M. Vital [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. — 2015. — Vol. 67. — No. 6. — P. 1586-1591.

148. Wallace, D. J. The evolution of drug discovery in systemic lupus erythematosus / D. J. Wallace // *Nature reviews. Rheumatology*. — 2015. — Vol. 11. — No. 10. — P. 616-620.

149. Wardemann, H. Predominant autoantibody production by early human B cell precursors / H. Wardemann [et al.] // *Science*. — 2003. — Vol. 301. — No. 5638. — P. 1374-1377.

150. Wei, C. A new population of cells lacking expression of CD27 represents a notable component of the B cell memory compartment in systemic lupus erythematosus / C. Wei [et al.] // *The Journal of Immunology*. — 2007. — Vol. 178. — No. 10. — P. 6624–6633.

151. Weidenbusch, M. Beyond the LUNAR trial. Efficacy of rituximab in refractory lupus nephritis / M. Weidenbusch [et al.] // *Nephrology, dialysis, transplantation*. — 2013. — Vol. 28. — No. 1. — P. 106–111.

152. Wen, Z. Interleukin-17 expression positively correlates with disease severity of lupus nephritis by increasing anti-double-stranded DNA antibody production in a lupus model induced by activated lymphocyte derived DNA [electronic recourse] / Z. Wen [et al.] // *PLoS One: site*. — URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0058161>.

153. Xu, B. The ratio of circulating follicular T helper cell to follicular T regulatory cell is correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus / B. Xu [et al.] // *Clinical immunology*. — 2017. — Vol. 183. — P. 46-53.

154. Yaniv, G. A volcanic explosion of autoantibodies in systemic lupus erythematosus: a diversity of 180 different antibodies found in SLE patients / G. Yaniv [et al.] // *Autoimmunity reviews*. — 2015. — Vol. 14. — No. 1. — P. 75-79.

155. Yee, C.-S. Development and validation of the BILAG-2004 Index for the assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus: A thesis submitted to The University of Birmingham for the degree of doctor of philosophy [electronic recourse] / C.-S. Yee. — Birmingham, 2008. — URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/77649.pdf>.

156. Yee, C.-S. The BILAG-2004 index is sensitive to change for assessment of SLE disease activity / C.-S. Yee [et al.] // *Rheumatology*. — 2009. — Vol. 48. — No. 6. — P. 691–695.

157. Yu, C. Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: a critical review / C. Yu, M. E. Gershwin, C. Chang // *Journal of autoimmunity*. — 2014. — Vol. 48-49. — P. 10-13.

158. Yusof, M. Y. Predicting and managing primary and secondary non-response to rituximab using B-cell biomarkers in systemic lupus erythematosus / M. Y. Yusof [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. — 2017. — Vol. 76. — No. 11. — P. 1829-1836.

159. Zhang, J. Predictors of the rate of change in disease activity over time in LUMINA, a multiethnic US cohort of patients with systemic lupus erythematosus: LUMINA LXX / J. Zhang [et al.] // *Lupus*. — 2010. — Vol. 19. — No. 6. — P. 727–733.

160. Zhu, L. Altered frequencies of memory B cells in new-onset systemic lupus erythematosus patients / L. Zhu [et al.] // *Clinical rheumatology*. — 2018. — Vol. 37. — No. 1. — P. 205-212.