

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Мусаева Лариса Магомедовна

**Метаболическое профилирование пациентов с ревматоидным артритом**

3.1.27. Ревматология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук

Меньшикова Ирина Вадимовна

Москва – 2026

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1. Эпидемиологические показатели заболеваемости ревматоидным артритом .....	13
1.2. Современная стратегия лечения пациентов с ревматоидным артритом.....	13
1.3. Фармакометабономика .....	16
1.4. Патогенез ревматоидного артрита .....	18
1.5. Особенности метаболизма при ревматоидном артрите.....	23
1.5.1. Особенности иммунопатогенеза при раннем ревматоидном артрите .....	26
1.5.2. Особенности иммунопатогенеза на поздней стадии ревматоидного артрита.....	26
1.5.3. Особенности метаболизма жирных кислот при ревматоидном артрите .....	27
1.5.4. Особенности метаболизма аминокислот при ревматоидном артрите .....	29
1.5.5. Особенности метаболизма незаменимых аминокислот с разветвленной цепью при ревматоидном артрите .....	30
1.5.6. Особенности метаболизма триптофана и метаболитов кинуренинового пути при ревматоидном артрите.....	32
1.5.7. Особенности метаболизма глюкозы при ревматоидном артрите.....	33
1.6. Метаболомное профилирование .....	34
1.6.1. Аналитическая платформа для метаболомного анализа .....	35
1.6.2. Метаболомный анализ и ревматоидный артрит .....	36
1.7. Заключение по обзору литературы .....	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	43
2.1. Общий протокол клинического исследования и дизайн исследования.....	43
2.2. Характеристика участников исследования .....	47
2.3. Лабораторно-инструментальные методы обследования .....	52
2.4. Исследование метаболомного профиля .....	55

2.4.1. Забор крови и пробоподготовка для последующего определения метаболитов .....	55
2.4.2. Целевое метаболомное профилирование .....	55
2.5. Статистический анализ .....	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ .....	59
3.1. Сравнение метаболомного профилирования пациентов с ревматоидным артритом, не принимающих терапию, и здоровых добровольцев .....	59
3.2. Мультивариантный анализ .....	66
3.3. Корреляционный анализ метаболитов с клинико-лабораторными показателями.....	68
3.4. Сравнение метаболомного профиля пациентов с ревматоидным артритом, не получавших терапию, пациентов на базисной противоревматической терапии и пациентов на генно-инженерной биологической терапии .....	74
3.4.1. Унивариантный анализ результатов метаболомного профилирования.....	74
3.4.2. Мультивариантный анализ результатов метаболомного профилирования...	81
3.5. Установление метаболитов, характеризующих высокую вероятность отсутствия у пациента ответа на базисную терапию .....	83
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	110
ВЫВОДЫ .....	112
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	142

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Ревматоидный артрит (РА) – это системное хроническое аутоиммунное заболевание, сопровождающееся эрозивно-деструктивным поражением суставов и ведущее к их анкилозированию, а также поражению других органов и систем [1, 2]. Основными целями лечения РА являются снижение выраженности болевого синдрома, замедление темпа прогрессирования заболевания и улучшение качества жизни пациентов [3]. В настоящее время механизмы развития РА изучены не до конца, поэтому специфичность и чувствительность методов его диагностики недостаточно высоки, а лечение в ряде случаев малоэффективно [4]. Биомаркеры как индикаторы патологических процессов играют важную роль в диагностике различных заболеваний. Однако на сегодняшний день обнаружено малое количество значимых биомаркеров для диагностики и контроля эффективности лекарственной терапии РА [5]. Интенсивно развивающимся подходом к ранней диагностике заболеваний является эпигенетика, а именно ее составляющая – метаболомика. Метаболомика – это наука, изучающая конечные продукты обмена веществ в клетках организма. Метаболомный анализ на основе масс-спектрометрии позволяет исследовать наиболее полный метаболомный профиль и его нарушения, возникающие под влиянием факторов окружающей среды, изменение экспрессии генов или активности рибонуклеиновой кислоты [6]. С помощью метаболомного профилирования в настоящее время решается значимое количество научных и клинических задач. Поэтому изучение метаболических процессов, поиск новых маркеров и объектов терапевтического воздействия представляется новым и перспективным направлением.

## **Степень разработанности темы исследования**

В связи с недостаточно изученным механизмом развития РА, специфичность и чувствительность методов его диагностики недостаточно высокая, а лечение не всегда эффективно и часто требует коррекции. РА не только сложно диагностировать на ранней стадии и отличить от других аутоиммунных заболеваний, поскольку лабораторные маркеры воспаления не всегда коррелируют с активностью заболевания и не всегда отражают яркую клинико-лабораторную картину, но также трудно оценить эффективность терапии и спрогнозировать ответ на лечение, в связи с чем необходим поиск новых диагностических и прогностических маркеров. В настоящее время продолжается активное изучение метаболомных изменений у пациентов с РА. Немногочисленные результаты с малой выборкой пациентов зарубежных авторов опубликованы в международных базах данных [7-12]. Тем не менее, учитывая гетерогенность этиологических и патофизиологических изменений при РА, ограничение диагностики заболевания, наличие коморбидной патологии, не до конца изученное влияние противоревматической терапии и отсутствие данных метаболомного профилирования у пациентов с РА в отечественной когорте, необходимы дальнейшие научные исследования.

## **Цель и задачи исследования**

Целью исследования является определение потенциальных метаболомных маркеров для диагностики ревматоидного артрита и предикторов отсутствия ответа на противоревматическую терапию.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ метаболомного профиля пациентов с ревматоидным артритом, ранее не получавших лечение, и здоровых добровольцев.

2. Изучить взаимосвязь уровней основных циркулирующих метаболитов с диагностическими маркерами и клинико-лабораторными признаками активности ревматоидного артрита.

3. Проанализировать различия метаболомного профиля у пациентов с ревматоидным артритом, не получающих лечение, получающих терапию базисными противоревматическими препаратами и генно-инженерными биологическими препаратами.

4. Сформировать панель метаболитов, потенциально характеризующих отсутствие ответа на инициированную базисную противоревматическую терапию через 6 месяцев, на основании анализа взаимосвязи параметров активности и исходного метаболомного профиля.

### **Научная новизна**

Метаболомика зарекомендовала себя как новая и перспективная наука, однако количество исследований в различных областях медицины в настоящее время ограничено. В нашей стране ранее не проводилась расширенная оценка метаболомного профиля пациентов с РА. Научная новизна данного исследования заключается в том, что впервые в России наиболее полно изучен метаболомный профиль пациентов с РА. В рамках исследования были выделены основные метаболиты, количественно отличающиеся у пациентов с РА в сравнении со здоровыми добровольцами. Также впервые была проведена оценка основных метаболитов у пациентов с РА на фоне применения противоревматических препаратов различных групп, что позволило выделить значимые метаболиты в качестве потенциальных предикторов отсутствия ответа на лекарственную терапию. Полученные результаты смогут послужить основой для разработки персонализированного подхода к лечению пациентов с РА.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость проведенного исследования заключается в углублении знаний о метаболизме основных молекул (аминокислот, жирных кислот и углеводов) при РА и их роли в патогенезе заболевания. Выявление наиболее характерных метаболитов у пациентов с РА, в том числе в дебюте болезни, может способствовать совершенствованию ранней диагностики РА. Изменение уровней метаболитов в зависимости от активности болезни, а также на фоне лекарственной терапии препаратами разных групп может послужить основанием для разработки панели потенциальных биомаркеров с целью прогнозирования ответа на лечение и контроля эффективности лекарственной терапии РА.

## **Методология и методы исследования**

Основой для диссертационного исследования послужили достижения зарубежной и отечественной медицинской науки в сфере изучения РА и его диагностики, а также непосредственного влияния его терапии на звенья патогенеза. Исследовательская работа выполнена в рамках одноцентрового обсервационного аналитического исследования. До начала работы все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. Пациенты на основании критериев включения/невключения были разделены на 3 группы. В первую группу «РА-*de novo*» было включено 37 пациентов, на момент включения не получавших противоревматическую терапию, во вторую группу «РА-БПВП» – 35 пациентов, получавших базисную противоревматическую терапию, в третью группу «РА-ГИБП» – 33 пациента, которые получали генно-инженерную биологическую терапию, и в группу здоровых добровольцев (контроля) – 31 человек. Всем участникам исследования было выполнено стандартное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование в условиях ревматологического стационара, предусмотренное для пациентов с РА (Приказ Министерства здравоохранения

Российской Федерации от 02.08.2023 №401н). Диагноз РА устанавливался согласно критериям Клинических рекомендаций «Ревматоидный артрит» Ассоциации ревматологов России, утвержденных Минздравом России в 2021 году. Всем участникам группы здорового контроля было выполнено стандартное клинико-лабораторное и инструментальное обследование с последующей консультацией терапевта. Всем участникам исследования было выполнено специальное лабораторное исследование: целевое метаболомное профилирование методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрии. После получения результатов исследований был осуществлен статистический анализ полученных данных с последующим обсуждением и обобщением. Пациентам группы «РА-*de novo*» был назначен базисный противоревматический препарат (метотрексат) и через 6 месяцев проведено повторное клинико-лабораторное обследование для оценки эффективности терапии. На основании анализа взаимосвязи параметров активности РА и исходного метаболомного профиля была сформирована панель метаболитов, характеризующая отсутствие ответа на инициированную базисную противоревматическую терапию.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад исследователя, отмеченный на всех этапах проведения настоящего исследования, заключался в самостоятельном определении целей и задач исследования; поиске источников информации и анализе отечественной и зарубежной литературы; выборе и определении объекта и предмета исследования; наборе, клиническом и специализированном обследовании всех 136 участников исследования; составлении электронной базы данных пациентов с РА и группы здоровых добровольцев с последующей статистической обработкой данных; оценке и анализе полученных результатов; формулировке настоящих практических рекомендаций и выводов научно-квалификационной работы; подготовке и оформлении результатов исследования, а также их обсуждении в научных

публикациях и докладах; внедрении полученных результатов в практическую деятельность.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Для метаболомного профиля пациентов с ревматоидным артритом характерно изменение концентраций следующих метаболитов по сравнению со здоровыми добровольцами: повышение концентрации всех длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16, C16-1, C18-1, C18-ОН, C18-1-ОН), снижение концентрации среднецепочечных ацилкарнитинов (C8, C10, C10-1, C10-2, C12, C14-1, C14-2, C14-ОН), повышение уровня свободного карнитина (C0), изменение концентрации короткоцепочечных ацилкарнитинов: повышение C4 и C5DC и снижение C3 и C2; изменение уровня метаболитов производных триптофана (снижение уровня триптофана и ксантуреновой кислоты, повышение уровня хинолиновой, кинуреновой и гидроксиндолуксусной кислот, кинуренина, мелатонина); повышение уровня аминокислот, связанных с циклом трикарбоновых кислот (аспарагина, пролина, фенилаланина, тирозина, гидроксипролина, общего пула ВСАА, соотношения лейцин / изолейцин, валина); повышение уровня метаболитов азотистого обмена (орнитина, асимметричного диметиларгинина, симметричного диметиларгинина, соотношения аргинин / асимметричный диметиларгинин); повышение концентрации производных метаболизма холина (бетаина, диметилглицина, холина; нейротрансмиттера аденозина). Данная панель метаболитов рассматривается в качестве потенциального комплексного диагностического биомаркера ревматоидного артрита и отражает основные патогенетические механизмы его развития: системное воспаление, костно-деструктивные изменения и ангиогенез.

2. Определены метаболомные показатели, коррелирующие с активностью заболевания и диагностическими маркерами ревматоидного артрита (РФ и АЦЦП): прямая корреляционная взаимосвязь концентрации аминокислот с разветвленной цепью с уровнем СРБ, DAS28-СРБ и АЦЦП, концентрации пролина с уровнем РФ

и АЦЦП, соотношения фенилаланин / тирозин с уровнем DAS28-СРБ, РФ, АЦЦП и СОЭ, концентрации фенилаланина с уровнем СРБ, DAS28-СРБ, СОЭ и ФК, концентрации метаболитов кинуренинового пути (хинолиновая кислота, соотношение хинолиновая кислота / гидроксииндолуксусная кислота) с уровнем РФ, АЦЦП, DAS28-СРБ, концентрации длинноцепочечного ацилкарнитина С18-ОН с уровнем РФ, DAS28-СРБ, концентраций среднецепочечных ацилкарнитинов (С10-1, С12-1), короткоцепочечных (С5-DC) с уровнем СРБ, DAS28-СРБ и обратная корреляционная взаимосвязь концентрации ксантуреновой кислоты с уровнем DAS28-СРБ, концентрации общего пула индолов с уровнем DAS28-СРБ и концентрации 5-ОН-триптофана с уровнем DAS28-СРБ, РФ, АЦЦП.

3. На основании проведенного анализа метаболитов у пациентов, не получающих противоревматическую терапию, и пациентов, находящихся на базисной и/или генно-инженерной противоревматической терапии, определена панель метаболитов, характеризующая влияние проводимой терапии на метаболомный профиль: аминокислоты с разветвлённой цепью: соотношение лейцин / изолейцин, валин; пролин; метаболиты триптофана: хинолиновая и кинуреновая и ксантуреновая кислоты; холин, диметилглицин, гидроксииндолуксусная кислота, триптофан, средне- (С10-1, С14-2, С14-1) и длинноцепочечный (С18-ОН) ацилкарнитины.

4. На основании анализа взаимосвязи параметров активности и исходного метаболомного профиля плазмы крови у пациентов, не получавших противоревматическую терапию, определена панель метаболитов, характеризующая отсутствие ответа на базисную терапию метотрексатом в течение 6-ти месяцев: аспартат, глутамат, соотношение фенилаланин / тирозин, С8 и С10 ацилкарнитины, бетаин, диметилглицин, триптофан, хинолиновая кислота, соотношение кинуреновая кислота / хинолиновая кислота, асимметричный диметиларгинин, уридин.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует Паспорту научной специальности 3.1.27. Ревматология, пунктам направлений исследований 2, 3, 5: пункт 2 «Изучение клинических, генотипических и фенотипических проявлений ревматических заболеваний с помощью методов геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики (омиксных технологий), а также биологической визуализации и функциональной диагностики», пункт 3 «Совершенствование иммунологической и молекулярно-биологической диагностики ревматических заболеваний у взрослых и детей на разных стадиях развития», пункт 5 «Разработка персонализированной модели оказания специализированной медицинской помощи пациентам с ревматическими заболеваниями и полиморбидностью) паспорта специальности».

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования метаболомного профиля, которые соответствуют сформулированной цели и поставленным задачам. Выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на фактических данных. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на следующих конференциях, съездах, конгрессах: XVI Междисциплинарная научно-практическая конференция Московского городского научного общества терапевтов «Осенняя сессия МГНОТ: Терапевтические итоги» (г. Москва, 2023 г.), Всероссийский конгресс с международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге – 2023» (г. Санкт-Петербург, 2023г.), Всероссийский конгресс с международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге – 2024» (г. Санкт-Петербург, 2024г.), IV конгресс с международным участием «Московская

ревматология» (г. Москва, 2024 г.), 26-ой ревматологический конгресс Азиатско-Тихоокеанской лиги ассоциаций ревматологов «APLAR 2024» (г. Сингапур, Сингапур, 2024 г.), 20-ая Ежегодная конференция Общества метаболомики «Metabolomics 2024» (г. Осака, Япония, 2024 г.).

Апробация работы состоялась 11 марта 2026 года на заседании кафедры госпитальной терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол заседания кафедры №15 от 11 марта 2026 г.

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 14 работ, в том числе 2 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Scopus, PubMed, 3 иные публикации по результатам исследования, 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, приложения и списка литературы, включающего 208 источников, среди которых 17 отечественных и 191 зарубежных. Для наглядности диссертация иллюстрирована 26 таблицами и 34 рисунками.

## **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1. Эпидемиологические показатели заболеваемости ревматоидным артритом**

Ревматоидный артрит (РА) – это системное аутоиммунное воспалительное заболевание, занимающее одну из лидирующих позиций по распространенности среди аутоиммунных ревматических заболеваний. Распространенность РА, несмотря на современные способы диагностики и лечения, продолжает расти и во всем мире составляет от 0,5% до 2% [13]. Согласно официальным данным Всемирной организации здравоохранения, по состоянию на 2019 год РА страдали 18 млн. человек в мире [14], а по результатам исследования Global Burden of Disease за 2020 год – 17,6 млн. человек [15]. В России, согласно официальной статистике, в 2023 году зарегистрировано более 336 тыс. пациентов с РА, в то время как, по данным другого крупного российского эпидемиологического исследования, РА страдает 0,61% от общей популяции [16, 17]. Почти у половины пациентов РА приводит к инвалидизации в течение первых пяти лет, а у 10% – в течение двух лет заболевания [18]. Более того, РА приводит к преждевременной смерти и высоким социально-экономическими расходам [19, 20].

### **1.2. Современная стратегия лечения пациентов с ревматоидным артритом**

РА – хроническое прогрессирующее заболевание, требующее постоянного динамического контроля для увеличения продолжительности периодов ремиссии и снижения риска возникновения его осложнений. При отсутствии адекватного лечения почти половина пациентов в течение первых пяти лет после установления диагноза получает инвалидность [13]. Основной целью лечения РА является достижение ремиссии или низкой активности заболевания по шкале DAS28/DAS28-СРБ (Disease Activity Score, индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка) в рамках подхода «терапия до достижения

цели» или «*treat-to-target*» [13, 21]. При условии ранней диагностики и своевременного начала медикаментозной терапии современными противоревматическими препаратами более чем у 50% пациентов удается добиться цели лечения [13]. «Золотым стандартом» первой линии терапии РА является базисный противовоспалительный препарат (БПВП) – метотрексат. При его недостаточной эффективности или плохой переносимости рекомендуется использование других БПВП (кишечные противовоспалительные препараты аминосалициловая кислота и аналогичные препараты, селективные иммунодепрессанты, противомаларийные препараты, таргетные синтетические (тс) БПВП) или же при наличии факторов риска неблагоприятного прогноза (раннее развитие эрозий суставов, высокие титры ревматоидного фактора (РФ) и антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), высокая клиническая и лабораторная активность) и/или недостаточной эффективности или непереносимости препаратов из группы БПВП рекомендуется инициация терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП) в монотерапии или сочетании с БПВП. При выборе ГИБП и тсБПВП необходимо учитывать возможные противопоказания для отдельного класса препаратов: повышение риска инфекционных осложнений (туберкулез, вирусные гепатиты, вирус иммунодефицита человека и синдром приобретенного иммунодефицита), тромботических осложнений у пациентов с сопутствующей кардиоваскулярной патологией, а также наличия злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых заболеваний (хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца) и демиелинизирующих заболеваний [13].

Однако около 40% пациентов, находящихся на терапии БПВП, и порядка 20% больных, получающих терапию ГИБП, не достигают упомянутой выше цели лечения. В 2021 году группа экспертов Европейского альянса ассоциаций ревматологов (European Alliance of Associations for Rheumatology, EULAR) определила группу пациентов, которые не удовлетворяют цели лечения, несмотря на применение комбинированной противоревматической терапии ( $\geq 2$  БПВП и  $\geq 2$  ГИБП/тсБПВП с разным механизмом действия) [22]. Данная группа пациентов

была названа «трудно поддающийся лечению» РА или «difficult-to-treat» (D2T). По данным научной литературы, распространенность данной когорты может достигать до 30% среди всех пациентов с РА [23]. D2T предусматривает соответствие пациента трем критериям: недостаточная эффективность проводимой терапии, наличие активного симптоматического заболевания и клиническое восприятие болезни [24].

Лечение D2T пациентов является клинической проблемой, поскольку недостаточная эффективность терапии может быть вызвана разными факторами: индивидуальными особенностями течения заболевания, обуславливающими развитие резистентного к проводимой терапии воспалительного процесса, эпигенетическими изменениями, способными модифицировать течение хронического воспаления, воздействием неблагоприятных факторов внешней среды, в частности, курения, психологическими особенностями пациента, а также ограничением вариантов применения лекарственной терапии из-за побочных реакций или сопутствующих заболеваний [24-26].

Наличие трудно поддающегося лечению РА диктует необходимость использования персонифицированного подхода к его терапии и подчеркивает актуальность создания специальных рекомендаций по ведению данной категории больных [24]. Поэтому особый интерес представляет возможность прогнозирования развития у пациента с впервые установленным диагнозом, и, ранее не получавшего лечение, D2T РА. На сегодняшний день не разработано доказанных прогностических клинических или лабораторных маркеров для выявления пациентов, которые в будущем не ответят на терапию («не-ответчиков») и, возможно, пополнят ряды пациентов с D2T РА. Согласно данным авторов, в основе развития резистентности к лечению РА лежит серопозитивность по РФ и/или АЦЦП, отдельные клинические характеристики (курение, ожирение), иммунологические факторы (в т.ч. формирование антител к отдельным препаратам), а также генетическая и эпигенетическая гетерогенность [27]. Например, однонуклеотидная замена тимина на гуанин в гене, кодирующем рецептор для Fc $\gamma$ -домена иммуноглобулинов G (IgG), приводит к замене

аминокислоты фенилаланин на валин, в результате чего повышается аффинность рецептора к IgG. Носители одного и более аллелей валина имеют лучший ответ на терапию ритуксимабом, в то время как пациенты с немутированным геном лучше отвечают на тоцилизумаб [28, 29]. В исследовании Frleta-Gilchrist M. и соавт. был проанализирован профиль микроРНК у пациентов с РА, не ответивших на терапию БПВП, ГИБП, с низкой активностью заболевания и здоровых добровольцев. Так, уровни микроРНК-23а, -24-2 и -27а были статистически значимо ниже у пациентов, не ответивших на терапию БПВП и ГИБП [27].

Таким образом, поиск новых биомаркеров-предикторов отсутствия ответа на противоревматическую терапию представляется актуальной задачей современной науки.

### **1.3. Фармакометаболизм**

Персонализированная медицина применительно к лекарственной терапии направлена на подбор индивидуального лечения пациентов с учетом их особенностей в отношении фармакологических препаратов для проведения эффективного и безопасного лечения [30, 31] (Рисунок 1). Индивидуальные различия в реакциях пациентов на одни и те же лекарственные препараты связана с особенностями их физиологического (патофизиологического) состояния. Такие индивидуальные различия в физиологическом статусе пациентов могут быть результатами генетического полиморфизма, факторов окружающей среды, особенностей текущего или предыдущего лечения, демографических особенностей, а также факторов, непосредственно связанных с заболеванием. Таким образом, на сегодняшний день определение и количественная оценка предикторов данной межиндивидуальной вариабельности применительно к выбору фармакологической терапии является важной составляющей персонализированной медицины.

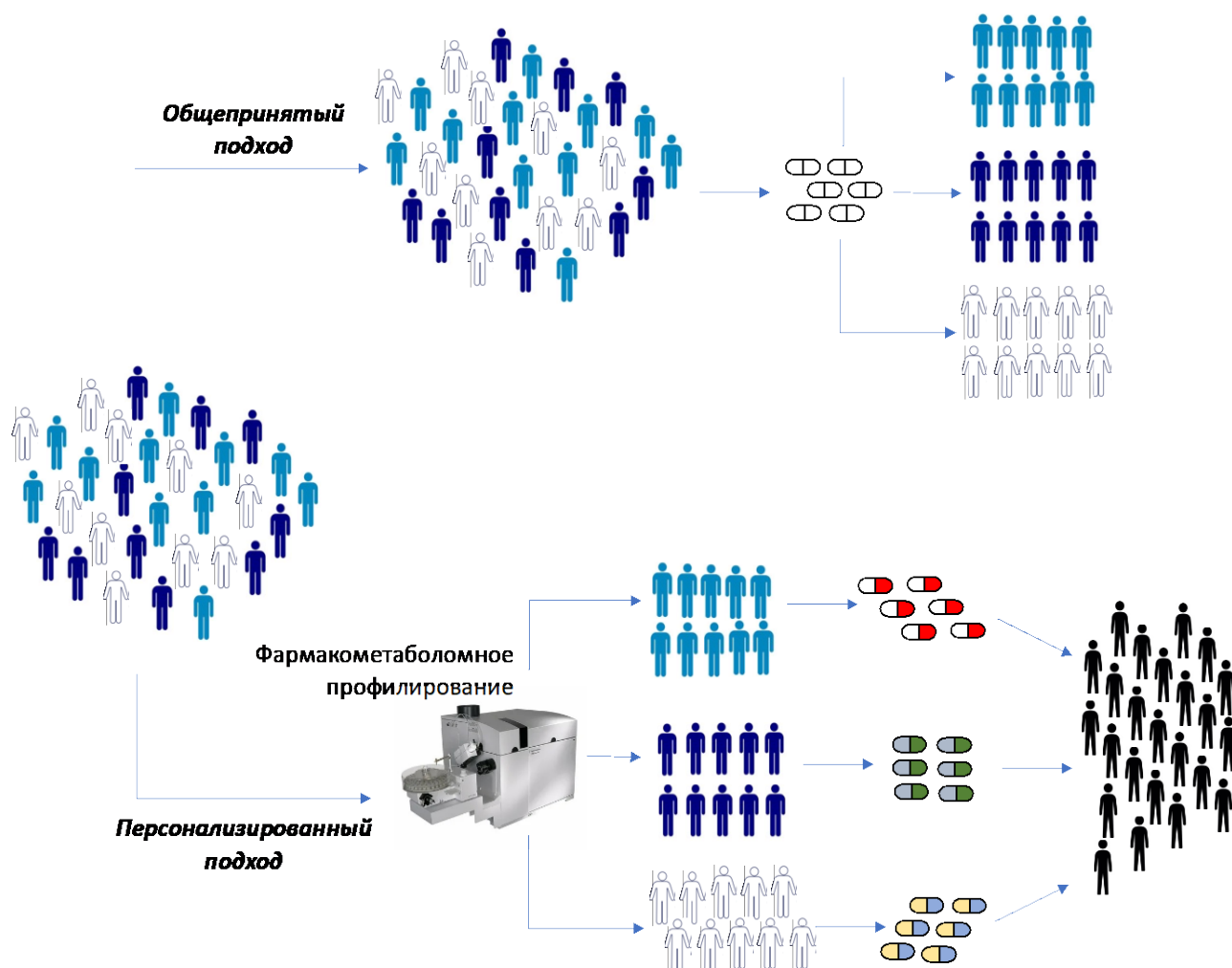


Рисунок 1 – Схема общепринятого и инновационного персонализированного подхода в фармакологической терапии

Фармакометаболические исследования применяются для метаболического фенотипирования и предсказания межиндивидуальных различий в ответе на лекарственную терапию, что способствует пониманию механизмов их действия на молекулярном уровне. За последние 10-15 лет было проведено большое число фармакометаболических исследований, которые предоставили важные заключения в области персонализированной медицины [32-34]. Однако на сегодняшний день такие подходы так и не вышли на уровень рутинного клинического применения.

Современное развитие метаболомных технологий с использованием методов хромато-масс-спектрометрии способствует их постепенному внедрению в медицинскую практику. Метаболомные профили человека в сочетании с «классическими» методами клинического анализа могут улучшить качество

диагностики и мониторинга заболеваний, а также охарактеризовать его патогенез. Известно, что только 25-60% пациентов получают положительной ответ на назначенную им лекарственную терапию, тогда как ежегодно фиксируется более 2 млн. побочных эффектов, вызванных применением лекарственных средств [36].

Нередко при лечении пациентов назначается единообразная терапия без учета их индивидуальных фенотипических особенностей [37].

Биомаркеры являются важными элементами в изучении комплексного взаимодействия между фармакотерапией и (пато)физиологическим состоянием пациента как на популяционном, так и на индивидуальном уровне [38, 39]. Биомаркеры количественно характеризуют внутренние процессы в организме, происходящие в промежутке между введением лекарственного средства и получаемыми эффектами.

В свою очередь, фармакометаболомные исследования направлены на поиск специфических биомаркеров, связанных с вводимыми лекарственными препаратами. Такие биомаркеры могут предоставлять информацию как предсказывающую ответ пациента на назначенную терапию, так и используемую для мониторинга изменений во время лечения или оценки конечных эффектов лечения (например, положительную или отрицательную реакцию пациента на терапию).

#### **1.4. Патогенез ревматоидного артрита**

Патогенез РА связан с дисбалансом в иммунной системе, который приводит к развитию хронического воспалительного синдрома не только в суставах, но и в других тканях. Несмотря на то, что точные причины этого дисбаланса до сих пор неизвестны, развитие РА связывают с генетической предрасположенностью, влиянием окружающей среды и других факторов [40].

Патогенез РА сложен и не до конца изучен, однако существует несколько ключевых механизмов, которые играют важную роль в развитии заболевания. Первые признаки РА могут проявляться бессимптомным синовитом, который

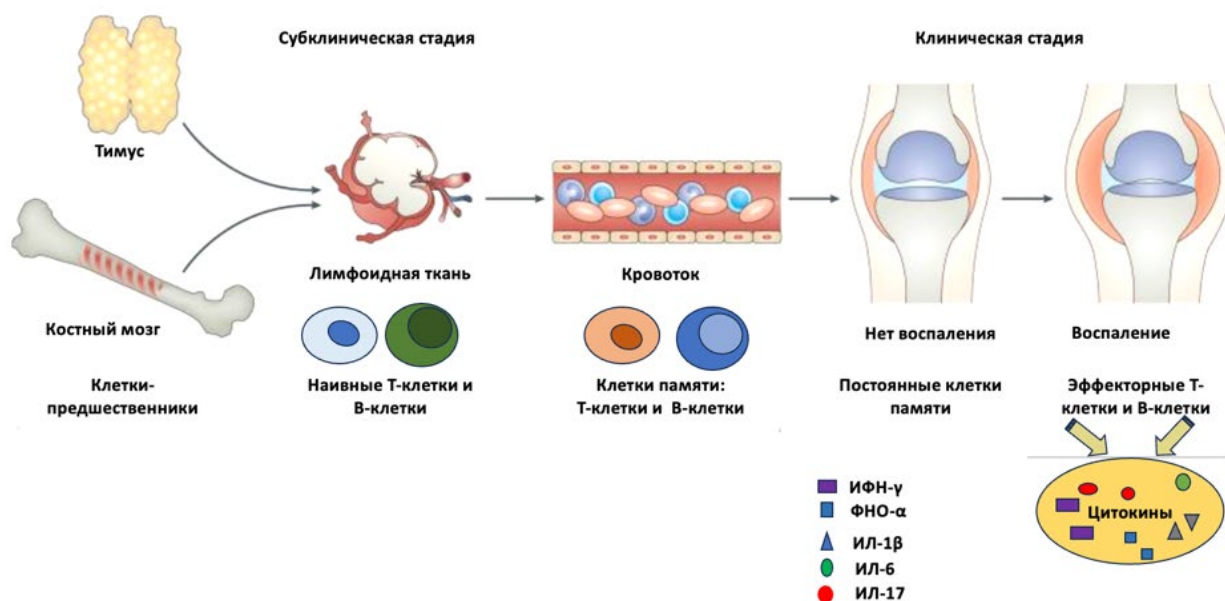
возникает за годы до клинических проявлений и обусловлен активацией аутоиммунитета, направленного на измененные аутобелки [41]. Начальные воспалительные изменения происходят в синовиальной оболочке сустава, куда рекрутируются иммунокомпетентные клетки, продуцирующие антитела к компонентам синовия и провоспалительные цитокины. Синовиальная ткань у пациентов с РА рассматривается как третичная лимфоидная ткань (ТЛТ) или эктопическая лимфоидная структура (ЭЛС). Структура ЭЛС напоминает вторичную лимфоидную ткань, где происходит дифференцировка Т- и В-клеток. ТЛТ при РА коррелирует с титрами аутоантител, уровнем воспалительных цитокинов и тяжестью заболевания, что указывает на то, что ТЛТ связана с постоянным системным воспалением при РА [42].

В синовиальной мембране при РА параллельно происходят два патологических процесса. Во-первых, интима гипертрофируется за счет увеличения количества и активации макрофагоподобных синовиоцитов (МПС) и фибробластоподобных синовиоцитов (ФПС). МПС производят различные провоспалительные цитокины, включая интерлейкин (ИЛ) 1, ИЛ-6 и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) [43]. ФПС, в свою очередь, помимо цитокинов экспрессируют также матричные металлопротеиназы (ММП) и медиаторы воспаления (простагландины, лейкотриены) [44]. Кроме того, ФПС участвуют в активации иммунных реакций, взаимодействуя с иммунными клетками и поддерживая образование ЭЛС в синовиальных тканях [45]. Второй процесс включает в себя инфильтрацию адаптивными иммунными клетками синовиальной оболочки – образование «паннуса» в области костно-хрящевого перехода [46]. Паннус состоит из макрофагов, ФПС, дендритных или плазматических клеток и тучных клеток, опосредующих повреждение и развитие эрозивных изменений при прогрессировании или более поздних стадиях заболевания [47].

В патогенезе РА особую роль играет связь локуса лейкоцитарного антигена человека (human leucocyte antigen, HLA) HLA-DRB1 с активацией Т-клеток и презентацией антигена с последующей индукцией аутореактивных иммунных реакций [48]. Влияние антигенов системы HLA на развитие РА объясняется

наличием в них общих аминокислотных последовательностей (глутамин-лизин), определяющих предрасположенность к заболеванию. Кроме того, была выявлена определенная взаимосвязь между локусом HLA-DR4 и тяжестью течения РА, а также гиперпродукцией РФ и быстрым развитием эрозивных изменений в суставах.

При РА активируются CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты и повышается уровень интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ), причем, несмотря на его относительно невысокий уровень в синовиальной мембране пациентов с РА, данный цитокин считается одним из ключевых в патогенезе РА [49]. Помимо Т-клеток, продуцирующих ИФН- $\gamma$ , важная роль в развитии РА отводится также ИЛ-17-продуцирующим вспомогательным Т-хелперам (Th17) [50, 51]. Выделяют два типа данных клеток – «патогенные» и «непатогенные» Th17 – в зависимости от цитокинов, присутствующих в процессе их дифференциации. При РА патогенные клетки Th17 индуцируют синтез провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, в хряще, синовиальных клетках, макрофагах и остеобластах [51, 52] (Рисунок 2). Непатогенные клетки Th17, напротив, выделяют противовоспалительные цитокины, например, ИЛ-10 [51]. ИЛ-17 также стимулирует выработку хемокинов, которые рекрутируют нейтрофилы, макрофаги и лимфоциты в синовиальную мембрану [52, 53]. ФНО- $\alpha$  обладает способностью запускать целый каскад иммуннопатологических реакций, в том числе индуцировать секрецию других провоспалительных агентов, а его неконтролируемый синтез лежит в основе хронизации воспалительного процесса и прогрессирования костно-деструктивных изменений. В результате возникших иммунных реакций происходит активация В-клеток, участвующих в производстве аутоантител, презентации антигенов и секреции цитокинов [43, 54].



Примечание: ИЛ-1 $\beta$  – интерлейкин-1 $\beta$ , ИФН – интерферон, ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$

Рисунок 2 – Патогенез ревматоидного артрита

Аутоантитела при РА преимущественно представлены РФ, АЦЦП, антителами (АТ) к цитруллинированному виментину и реже другими АТ (антикарбамилированное белковое АТ, анти-ПАД-4) [55]. Наиболее широкое практическое применение имеют РФ и АЦЦП.

Однако стоит отметить, что различные титры и изотипы РФ могут наблюдаться при широком спектре различных заболеваний [56]. Более того, даже при РА уровень РФ может быть повышен задолго до начала заболевания, а его титры достоверно не коррелируют с клинической активностью заболевания, поэтому эффективность терапии не оценивается по уровню РФ [57]. Тем не менее, данный показатель остается полезным диагностическим маркером РА, который используется в клинической практике.

Наибольшую прогностическую ценность среди аутоантител, связанных с РА, имеет АЦЦП [58]. Поскольку воспаление играет центральную роль в патогенезе РА, было высказано предположение, что АЦЦП могут активировать иммунные клетки и повышать выработку провоспалительных цитокинов [59]. Многочисленные исследования показали, что повышенный уровень АЦЦП отмечается еще при доклиническом РА, поэтому наличие АЦЦП является

специфичным маркером для прогнозирования развития РА [60]. В ходе исследований *in vitro* было продемонстрировано, что АЦЦП связываются с Fc-рецепторами, экспрессируемыми иммунными клетками миелоидной ткани, и активируют систему комплемента по классическому и альтернативному путям [61, 62]. Кроме того, комплексы, состоящие из цитруллинированного фибриногена и АЦЦП, присутствующих в синовиальной мембране при РА, могут стимулировать макрофаги через толл-подобный рецептор 4 (Toll-like receptor 4, TLR4), что приводит к продукции ФНО- $\alpha$  [63]. Патологически высокая активность АЦЦП при РА также связана с формированием клеточных ловушек для нейтрофилов, что запускает их программируемую гибель (нетоз), специфический вид клеточной гибели, который заключается в высвобождении нейтрофилами внутриклеточного материала – нуклеиновых кислот, гистонов, ИЛ-17А, ФНО- $\alpha$ , гранулированных и цитоплазматических белков [64-66].

Результаты опубликованных за последние десятилетия научных исследований свидетельствуют о вкладе врожденной иммунной системы в развитие и прогрессирование РА. Различные клетки врожденного иммунитета, в том числе моноциты, макрофаги и дендритные клетки, участвуют в воспалительной реакции, наблюдаемой у пациентов с РА, и вызывают активацию адаптивной иммунной системы, которая играет важную роль на более поздних стадиях заболевания [67].

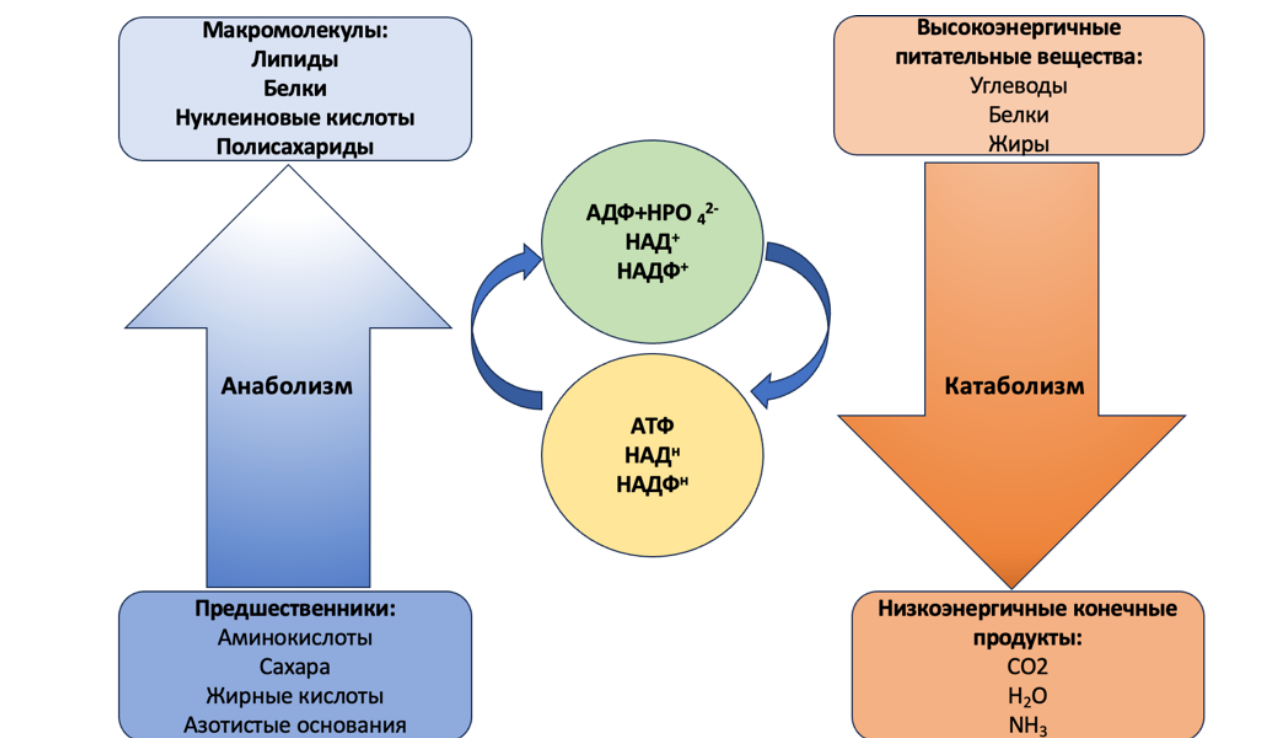
Таким образом, в основе патогенеза РА лежат глубокие нарушения иммунного ответа с дисбалансом количественного и качественного состава иммунокомпетентных клеток с нарушением их функциональной активности и клеточной кооперации [68, 69]. Образование «паннуса» как следствие воспалительных изменений, индицируемых синовиальными клетками, приводит к быстрому прогрессированию патологического процесса, разрушению суставного хряща и подлежащей субхондральной кости. При прогрессировании иммунных нарушений формируется типичная клиническая картина РА с вовлечением в патологический процесс других органов и систем.

## 1.5. Особенности метаболизма при ревматоидном артрите

Результаты фундаментальных и клинических исследований подчеркивают необходимость активного изучения патогенеза РА на более глубоком уровне с целью лучшего понимания патофизиологических процессов заболевания и разработки новых эффективных терапевтических агентов. Одним из перспективных направлений в медицине в настоящий момент является метаболомика – отрасль эпигенетики, которая исследует низкомолекулярные соединения (метаболиты), участвующие в биохимических процессах и являющиеся конечными продуктами обмена веществ [70]. Метаболизм – это совокупность всех химических превращений, которые происходят в клетке или организме и осуществляются посредством серии катализирующихся ферментами реакций, называемых метаболическими путями. Основная роль метаболизма – извлечение химической энергии из окружающей среды, преобразование молекул питательных веществ, образование макромолекул: белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов, а также синтез и деградация биомолекул, необходимых клетке для выполнения ее функций, – липидов мембран, внутриклеточных мессенджеров и пигментов.

В метаболизме выделяют пути анаболизма, которые предназначены для биосинтеза, и пути катаболизма, которые ведут к расщеплению сложных молекул до более простых. Хотя катаболические и анаболические пути во многом различаются, они являются сопряженными взаимодополняющими процессами и тесно связаны друг с другом, и именно связь между ними обеспечивает оптимальный уровень метаболизма (Рисунок 3). Процесс катаболизма включает в себя превращение сложных пищевых веществ в относительно небольшое число простых метаболитов: глюкозу, аминокислоты (АК), глицерол, жирные кислоты (ЖК). Далее простые метаболиты подвергаются специфическим реакциям расщепления, в результате которых образуется либо пировиноградная кислота, либо ацетилкофермент А (ацетил-КоА), который, в свою очередь, может образоваться из пирувата, а также из ЖК и АК. Полученные соединения

включаются в цитратный цикл для образования молекул аденозинтрифосфата (АТФ), который является универсальным источником энергии. С другой стороны, процесс анаболизма (пластический обмен или ассимиляция), используя энергию связей АТФ, включает в себя синтез сложных веществ (белков, углеводов и жиров) [71].



Примечание: АДФ – аденозиндифосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, НАД – никотинамидадениндинуклеотид, НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат, CO<sub>2</sub> – углекислый газ, H<sub>2</sub>O – вода, NH<sub>3</sub> – аммиак

Рисунок 3 – Общая схема метаболизма

Воспалительная реакция стимулирует увеличение потребности в энергии. Несколько неотъемлемых свойств Т-клеток диктуют их потребность в энергии и использовании различных источников питательных веществ. Во-первых, Т-клетки – «долгожители» и могут сохраняться в организме хозяина в течение многих десятилетий. Во-вторых, они обладают огромной пролиферативной способностью, имея возможность создавать миллионы дочерних клеток. В-третьих, они дифференцируются либо в кратковременные эффекторные клетки, либо в клетки долговременной памяти. В-четвертых, они обладают очень высокой

мобильностью. Наконец, они получают доступ к источникам пищи в разных тканевых средах [72, 73]. Как и другие пролиферирующие клетки, Т-лимфоциты у пациентов с РА используют все возможные источники энергии (углеводы, жиры и белки), но глюкоза остается их основным питательным веществом [74]. При ранней стадии РА электронные акцепторы улавливают часть энергии, выделяемой в поэтапном окислении глюкозы, и преобразуют ее в богатый энергией АТФ и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). Одна молекула глюкозы расщепляется на две молекулы пирувата в процессе гликолиза, с кратным увеличением двух молекул АТФ и двух молекул НАДФ. Гликолитический путь – это древний путь по созданию АТФ. Этот путь быстро активируется, например, при энергозатратных процессах (физическая активность, воспаление), а гликолитические ферменты могут регулироваться в течение нескольких минут. Недостатком этой быстрой регуляции является неполное окисление глюкозы и накопление лактата, который «подкисляет» клеточную и внеклеточную среду. В условиях, богатых кислородом, пируват транспортируется в митохондрии и превращается в ацетил-КоА для входа в цикл Кребса в митохондриях [75, 76]. Накопленный лактат может опосредовать ингибирование жизнеспособности CD4<sup>+</sup> Т-клеток при РА, способствовать поляризации макрофагов M2 и индуцировать экспрессию ИЛ-17. Митохондриальная ультраструктура, поврежденная в условиях гипоксии, усиливает распад клеточных биоэнергетиков, что оказывает влияние на метаболизм в цикле трикарбоновых кислот (ТКК) [77]. Изменение концентраций таких промежуточных частей цикла ТКК, как  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, цитрат и сукцинат, достоверно ассоциировано с патогенезом РА [11, 78].  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота регулирует баланс между поляризацией макрофагов M1 и M2, индуцирует секрецию ИЛ-10 из Т-клеток и уменьшает воспаление [79, 80]. Сукцинат может активировать иммунные клетки и поддерживать выработку ИЛ-1 $\beta$ .

### **1.5.1. Особенности иммунопатогенеза при раннем ревматоидном артрите**

На ранних этапах патогенетического процесса при РА в лимфоидных органах происходит образование лимфоцитов и их дифференцировка в эффекторные клетки и клетки памяти. Аутореактивные Т- и В-клетки постоянно активируются, высвобождая цитокины и аутоантитела. Как было описано выше, основным питательным веществом для пролиферирующих Т-лимфоцитов у пациентов с РА является глюкоза. Т-клетки способны адаптироваться к ограниченным биоэнергетическим условиям, продолжая вырабатывать цитокины и размножаться до тех пор, пока глюкоза остается доступной. Во время окислительного фосфорилирования белковые комплексы в митохондриальной внутренней мембране передают электроны, образуя трансмембранный протонный градиент. Т-лимфоциты, как и все клетки, используют энергию протонного градиента для генерации АТФ, при этом окислительное фосфорилирование дает в 15 раз больше энергии от каждой молекулы глюкозы, чем анаэробный гликолиз [81]. Нарушение гликолиза имеет серьезные последствия для Т-клеток, так как низкий уровень синтеза пирувата уменьшает количество субстрата, доступного для окислительного фосфорилирования, и, таким образом, уменьшает образование реактивных форм кислорода (РФК), которые ремоделируют воспалительные сигнальные сети и поддерживают выработку ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 [82]. В то же время, низкий уровень продукции лактата поддерживает относительно высокий внеклеточный рН, что противодействует гипоксии и ее опосредованным эффектам. Дефицит РФК, по-видимому, усиливает аутоиммунитет, способствуя пролиферации ИФН I типа и дальнейшему патогенетическому процессу [83].

### **1.5.2. Особенности иммунопатогенеза на поздней стадии ревматоидного артрита**

На более поздних стадиях РА патологический процесс мигрирует из вторичных лимфоидных тканей в периферические тканевые среды, в частности,

синовиальную оболочку суставов. Здесь Т- и В-лимфоциты, плазматические клетки вместе с антигенпрезентирующими клетками создают организованные лимфоидные структуры [84-86] и взаимодействуют с тканевыми клетками, образуя синовиальный паннус [87]. Фундаментальные биологические процессы синовиального паннуса связаны с высокими метаболическими потребностями. Гиперметаболическая активность иммунных и стромальных клеток создает тканевую среду для активного воспаления. В то же время, чрезмерный ангиогенез способствует повышенной скорости поглощения кислорода в суставе [88, 89] который происходит в хронически стимулируемом тканевом участке, указывая на то, что митохондриальный метаболизм способствует выработке АТФ. Митохондрии не только потребляют кислород для генерации АТФ, но и производят промежуточные продукты цикла ТКК, которые участвуют во множестве метаболических путей [90]. Концентрации некоторых из этих промежуточных продуктов цикла ТКК, включая сукцинат, цитрат, глутамат, фумарат и аспартат, изменены также в пролиферирующих злокачественных клетках [91]. Наличие промежуточных продуктов цикла ТКК в синовиальной жидкости говорит о том, что синовиальный паннус представляет собой насыщенную кислородом среду с высоким доступом к источникам углеводов, аминокислот и липидов.

### **1.5.3. Особенности метаболизма жирных кислот при ревматоидном артрите**

Окисление жирных кислот (ОЖК) – процесс, который является важным источником энергии для многих тканей, в частности, для работы сердца и скелетных мышц [92, 93]. В процессе ОЖК пируват из цитозоля транспортируется в митохондрии, где частично подвергается окислительному декарбоксилированию пируватдегидрогеназным комплексом (ПДК) с образованием ацетил-КоА, и карбоксилируется пируваткарбоксилазой с образованием оксалоацетата. Оба продукта в реакции, катализируемой ферментом цикла ТКК – цитратсинтазой, – превращаются в цитрат и с помощью соответствующей транслоказы покидают митохондрии. Утечка цитрата в цитозоль объясняется тем, что в митохондриях

образуются большие количества АТФ и НАДН, которые снижают использование цитрата в цитратном цикле. ОЖК происходит в присутствии кислорода с образованием одной молекулы активной уксусной кислоты – ацетил-КоА – и выделением энергии как в ходе реакции  $\beta$ -окисления (5 молекул АТФ), так и при «сгорании» ацетил-КоА в цикле Кребса (12 молекул АТФ).

Одним из вариантов отражения нарушенного метаболизма ЖК может служить образование сложных эфиров в результате изменения концентраций L-карнитина. ЖК путем конъюгации с L-карнитином с помощью системы карнитин-ацилтрансферазы образуют сложные эфиры – ацилкарнитины [94]. Свободный карнитин ответствен за транспорт ЖК в митохондрии, где происходит их  $\beta$ -окисление, необходимое для обеспечения клетки энергией, что в результате приводит к формированию ацилкарнитиновых производных за счет реакции этерификации ЖК. Таким образом, ацилкарнитины можно разделить на три группы относительно длины ацильного фрагмента: короткоцепочечные (ацильный фрагмент из цепи, содержащей 2-5 молекул углерода), среднецепочечные (ацильный фрагмент из цепи, содержащей 6-14 молекул углерода) и длинноцепочечные (ацильный фрагмент из цепи, содержащей 16-18 молекул углерода) [95].

Изменения метаболизма карнитина и, как следствие, процесса ОЖК и уровня ацилкарнитинов, связаны с кардиомиопатией и миопатией скелетных мышц [96, 97]. Многие пациенты с РА имеют сниженную силу скелетных мышц [98]. Причины снижения мышечной силы у пациентов с РА не полностью изучены, но предположительно могут включать болезненность суставов, воспаление скелетных мышц, а также метаболическую миопатию. Ацилкарнитины путем влияния на моноциты/макрофаги активируют провоспалительные сигнальные пути в зависимости от длины ацильной цепи (C10-C18) и концентрации ацилкарнитинов (5-25 мкМ) [99, 100]. Ученые выяснили, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с повышенным уровнем длинноцепочечных ацилкарнитинов наблюдались умеренно повышенные концентрации ИФН- $\gamma$  и ИЛ-8 в плазме и сниженные уровни ИЛ-10, подавляющего воспаление [101]. Данные результаты свидетельствуют о

том, что ацилкарнитины могут принимать участие в активации воспалительной сигнальной системы. Так, Nicholas D.A. и соавт. показали, что избыток длинноцепочечных ацилкарнитинов в сочетании с недостаточным  $\beta$ -окислением способствует активации Th17 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа [102]. Таким образом, накопление длинноцепочечных ацилкарнитинов активирует воспаление, тем самым усиливая прогрессирование заболеваний с системной воспалительной реакцией. В исследовании Vilskersts R. и соавт. было продемонстрировано, что вызванное лекарственными препаратами снижение биодоступности длинноцепочечных ацилкарнитинов снижает накопление макрофагов и моноцитов в атеросклеротических бляшках, что, в свою очередь, уменьшает концентрацию провоспалительных цитокинов [103]. Следует отметить, что до настоящего времени научные исследования, в основном, были сосредоточены на изучении ОЖК как таковом, а не на возможной роли метаболитов ЖК, таких как ацилкарнитины, в функционировании иммунных клеток. Учитывая, что накопление длинноцепочечных ацилкарнитинов ингибирует метаболизм пирувата и фосфорилирование в митохондриях на мышинной модели [104, 105], можно предположить, что наличие ацилкарнитинов может определять характер энергетического метаболизма в иммунных клетках и, таким образом, направлять активацию иммунных клеток в сторону провоспалительного фенотипа [95].

#### **1.5.4. Особенности метаболизма аминокислот при ревматоидном артрите**

АК могут образовать метаболиты цикла Кребса и конвертироваться в пируват и кетогенные АК с последующим образованием ацетил-КоА, но в отличие от ЖК и глюкозы АК в меньшей степени задействованы в образовании АТФ. С другой стороны, АК играют не менее важную роль в функционировании миокарда за счет участия в синтезе белка, метаболических и сигнальных молекул и кофакторов. Возможность использования высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения метаболитов показало, что уровни циркулирующих АК плазмы меняются при РА. Так, в исследовании He Z. и соавт. уровни пролина, триптофана,

цистеина и глутаминотриптона отличались у пациентов с РА и контрольной группы [106]. Другие исследования показали, что уровни аспарагиновой кислоты, цитруллин и аргинина, которые участвуют в цикле мочевины, повышены при РА, а аргинин, пролин и глутамин могут быть преобразованы в  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту для участия в цикле Кребса [79, 107-109].

Поражение мышечной ткани при РА также связано с метаболическими аномалиями, особенно с нарушенным метаболизмом АК. По данным ряда исследований, уровни нескольких метаболитов амина (метионин, гомоцистеин, треонин, пролин, аланин, цистатионин, валин и глицилглицин) были значительно снижены у мышей с коллаген-индуцированным артритом в сравнении с контрольной группой, что может быть связано с мышечной атрофией [12, 110, 111]. Напротив, высокие концентрации орнитина, глицина, пролина, аспартата и аргинина были связаны с дисфункцией скелетных мышц, а деградация пролина сопряжена с энергетическим потреблением при длительном течении РА [112]. Нарушение метаболизма пролина влияет на цикл ТКК, тем самым участвуя в энергообеспечении при патологических состояниях, и вызывает повреждение хрящей и костей [70, 113]. Li J. и соавт. показали, что глутамат может быть новым предиктором ранней эрозии кости при РА [113], а основным субстратом для глутамата является глутамин, повышение которого выявлено в ФПС при РА [114]. Значительный интерес вызывают изменения метаболизма незаменимых АК при РА.

#### **1.5.5. Особенности метаболизма незаменимых аминокислот с разветвленной цепью при ревматоидном артрите**

АК с разветвленной цепью (branched-chain amino acid, BCAA) – лейцин, изолейцин и валин – являются незаменимыми АК. Транспорт АК из кишечника в кровяное русло осуществляется в два этапа: сперва АК, образовавшиеся в результате гидролиза белков, проходят через мембрану щеточной каймы внутри эпителиальной клетки с помощью переносчиков путем  $\text{Na}^+$ -зависимого симпорта,

далее специфические транслоказы по механизму облегченной диффузии переносят АК в кровь. В отличие от большинства АК лишь малая часть ВСАА метаболизируется через печень, в то время как большая часть из них попадает в системный кровоток для переноса в основные очаги метаболизма – скелетные мышцы, жировую ткань и мозг [115, 116].

Процесс окисления ВСАА включает ряд реакций. Первая реакция представляет собой обратное трансаминирование с помощью митохондриальной аминотрансферазы (branched-chain amino acid aminotransferase, BCAT), в результате чего образуются  $\alpha$ -кетокислоты с разветвленной цепью (branched-chain  $\alpha$ -keto acid, ВСКА). Фермент дегидрогеназа  $\alpha$ -кетокислот (branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase, ВСКД) ограничивает скорость катаболизма ВСАА, участвуя в реакции необратимого декарбоксилирования ВСКА, что приводит к образованию эфиров  $\alpha$ -кетокислот, а затем ацетил-КоА или сукцинил-кофермент А, участвующих в цикле Кребса.

Достаточно давно изучаются изменения уровня ВСАА в плазме крови, ассоциированные с инсулинорезистентностью, избыточным весом и ожирением [117, 118]. Однако на сегодняшний день нет доказательств о прямом воздействии ВСАА на циркулирующие иммунные клетки. В исследовании Drummond G.R. и соавт. было выявлено, что ВСАА путем активации мононуклеаров иммунной системы усиливают выработку РФК путем активации двух каталитических субъединиц восстановленной никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксидазы (НАДФН-оксидазы) (NOX-1 и NOX-2), экспрессия которых особенно важна в иммунных клетках [119]. Кроме того, ВСАА увеличивает выработку РФК, полученных из митохондрий, с последующим увеличением окислительного повреждения и митохондриальной дисфункции. ВСАА активирует путь транскрипционного ядерного фактора энхансера гена к-легкой цепи активированных В-клеток (nuclear factor  $\kappa$ -light chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa$ B) в клетках иммунной системы, что, в свою очередь, сопровождается гиперэкспрессией провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6 или ФНО- $\alpha$ , циркулирующие уровни которых повышены у пациентов с РА [120, 121].

### **1.5.6. Особенности метаболизма триптофана и метаболитов кинуренинового пути при ревматоидном артрите**

Незаменимая АК триптофан играет важную роль в поддержании иммунной системы, являясь прекурсором синтеза белка, а также ряда соединений, вовлеченных в фундаментальные биологические процессы, происходящие в организме. Изменения метаболизма триптофана были описаны при различных хронических воспалительных заболеваниях, в том числе при РА [122]. Катаболизм триптофана происходит по трем путям: кинурениновому (основному), серотониновому и индолному. В то время как пути серотонина и кинуренина встречаются в клетках млекопитающих, индолный путь зависит от кишечной микробиоты [123]. В рамках кинуренинового пути распад триптофана происходит под воздействием трех ферментов: преимущественно индоламино-2,3-диоксигеназы-1 (ИДО1), и частично индоламино-2,3-диоксигеназы-2 (ИДО2) и триптофан-2,3-диоксигеназы (ТДО). ИФН- $\gamma$  побуждает макрофаги высвобождать пуриновый нуклеотид-неоптерин, под действием которого разрушается триптофан. Связь между чрезмерным образованием неоптерина и высокой активностью ИДО указывает на то, что усиленная деградация триптофана обусловлена иммунной активацией провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ФНО- $\gamma$ ). Так исследователи выяснили, что деградация триптофана наблюдается у пациентов с продолжающейся активацией клеточного иммунитета [124, 125]. Повышенная деградация триптофана с образованием его продуктов деградации по кинурениновому пути была обнаружена у пациентов с РА, а независимая активация клеточного иммунитета была описана ранее в независимой группе пациентов с РА [126]. Под действием ИДО происходит катаболизм триптофана до кинуренина и далее его производных – антраниловой кислоты, хинолиновой кислоты, кинуреновой кислоты и ксантуреновой кислоты [127]. В свою очередь, кинуренин подавляет активность натуральных киллеров, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов и пролиферацию Т-клеток, 3-гидроксиантраниловая кислота ингибирует активацию дендритных клеток, а кинуреновая кислота оказывает

противовоспалительные и иммунодепрессивные функции за счет ослабления продукции провоспалительных цитокинов [128, 129].

### **1.5.7. Особенности метаболизма глюкозы при ревматоидном артрите**

В условиях гипоксии происходит нарушение энергообеспечения синовиальных тканей при РА. При отсутствии достаточного количества кислорода ферменты пролил-4-гидроксилаз не могут гидроксировать остатки пролина, что увеличивает уровень гипоксию-индуцирующего фактора-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1- $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ). HIF-1 $\alpha$  может увеличить экспрессию генов, таких как транспортер глюкозы 1, и ферментов, участвующих в гликолизе, таких как гексокиназа 2, фосфофруктокиназа-1 и пируваткиназа макрофагов M2 для содействия транспорту глюкозы в клетки, что, в свою очередь, способствует активации гликолиза в цитоплазме [130-133]. Пируват, полученный в результате катаболизма глюкозы, через ПДК и комплекс пируваткарбоксилазы образует ацетил-КоА и оксалоацетат соответственно, которые входят в цикл Кребса, образуя НАДН и восстановленный флавинадениндинуклеотид (ФАДН), которые впоследствии с помощью цепи переноса электронов используются для синтеза АТФ с помощью фермента АТФ-синтазы [130]. По данным ряда авторов, пируват демонстрирует сильную ангиогенную активность, увеличивая экспрессию фактора роста эндотелия сосудов и рецептора фактора роста фибробластов-2 [134].

Значение измененных путей цикла Кребса при РА в настоящее время исследуется, но предыдущие научные работы показали, что нарушение окислительно-восстановительного фосфорилирования связано с иммунным воспалением [135]. Другой путь использования пирувата – образование лактата с помощью лактатдегидрогеназы. Накопленный лактат, который значительно повышается при РА [7], может опосредовать ингибирование жизнеспособности CD4<sup>+</sup> Т-клеток, способствовать поляризации макрофагов M2 и вызывать экспрессию ИЛ-17 [136, 137], однако данная цитозольная реакция выделяет гораздо меньше АТФ, чем митохондриальное окислительное фосфорилирование. Но тем не

менее, несмотря на переключение на компенсаторный механизм при РА в сторону повышенного потребления глюкозы и гликолиза, синовиальная ткань остается в энергодефицитном состоянии из-за преимущественного восстановления лактата из пирувата в цитозоле, то есть преобладания анаэробного пути, что является неэффективным энергетическим процессом с точки зрения производства АТФ и способствует снижению его энергетического статуса из-за значимого перенаправления метаболитов глюкозы в сигнальные пути (например, в пентозофосфатный путь) [138].

Оценка метаболомного профиля, в частности ЖК, глюкозы, АК может отражать нарушения, происходящие в метаболомных путях, и патологические процессы на этапе биохимических реакций, что потенциально может способствовать пониманию патогенеза при различных заболеваниях. Например, для системного воспаления характерно увеличение уровня ВСАА, снижение уровня глюкозы и активация гликолитического пути, а при фиброзных изменениях и при поражении мышечной ткани активируются орнитинный путь, сопровождающийся повышением уровня пролина и глутамина [129].

Таким образом, в настоящий момент интерес представляет изучение метаболомного профиля у пациентов с РА, сочетающего в себе как поражение костно-мышечной системы, так и проявления системного воспаления. Кроме того, обширный интерес также представляет оценка влияния противоревматической терапии на метаболомный профиль, которая необходима для более полного понимания патофизиологических механизмов, происходящих в организме при РА, и в дальнейшем может быть использована для диагностики, профилактики и терапии заболевания.

## **1.6. Метаболомное профилирование**

Метаболомика – это наука, которая изучает промежуточные и конечные продукты обмена веществ в организме на основании количественной оценки уровней и динамики различных метаболитов в биологических образцах (кровь,

моча и синовиальная жидкость). Метаболиты, в свою очередь, – это «малые молекулы» (с молекулярной массой  $<1,5$  кДа), которые составляют разнообразные промежуточные продукты метаболизма, такие как липиды, АК, пептиды, нуклеиновые кислоты, органические кислоты, витамины и тиолы, описывающие функциональное состояние живой системы в конкретный момент времени, а метаболомный профиль представляет собой состав метаболитов в биологическом образце [118]. Метаболомика или эндогенное метаболомное профилирование может применяться как метод фенотипирования, предоставляющий точную информацию о текущем физиологическом / патофизиологическом состоянии пациента. Профиль эндогенных метаболитов представляет собой «снимок» фенотипического статуса человека в данный момент времени.

Связанные с патологическим состоянием изменения метаболомного профиля описаны при различных заболеваниях, например, при злокачественных новообразованиях [139], воспалительных заболеваниях кишечника [140], сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ) [129]. Однако влияние лекарственной терапии на динамику метаболитов до сих пор неясно. Имеющиеся данные научных исследований в области метаболомики, в частности, ССЗ [129, 141] позволяют предполагать возможность использования метаболитов как новых биомаркеров для уточнения механизмов развития заболевания и дополнительной оценки эффективности проводимой терапии.

### **1.6.1. Аналитическая платформа для метаболомного анализа**

Для проведения метаболомного профилирования применяют современные и высокочувствительные аналитические методы, такие как ядерно-магнитный резонанс, высокоэффективная жидкостная хроматография масс-спектрометрия, , газовая хроматография масс-спектрометрия [142-144]. Метаболомное профилирование может быть как нецелевым, так и целевым. В целевых подходах количественно оценивают предварительно выбранные эндогенные метаболиты, которые принадлежат либо к определенным химическим классам, либо к

определенным метаболическим путям. В нецелевых методах проводится качественная или полуколичественная оценка эндогенных метаболитов без какого-либо их предварительного отбора. Данный метод подходит для поисковых исследований, в которых генерируются гипотезы или предварительные данные для обнаружения биомаркеров. В нецелевом метаболомном анализе физико-химические свойства выявляемых метаболитов определяют на предмет возможности их извлечения из матрицы и точного обнаружения. Как правило, количественная информация об их концентрации часто менее точна, чем при целевом подходе, а сопоставимость между исследованиями и лабораториями менее очевидна, чем при целевом анализе, где вычисляются абсолютные концентрации целевых метаболитов с использованием изотопно-меченных внутренних стандартов.

### **1.6.2. Метаболомный анализ и ревматоидный артрит**

В последние годы, достаточно большое количество научных работ было посвящено проблеме поиска метаболомных маркеров для диагностики РА. В Таблице 1 приведена информация об основных метаболомных исследованиях в области РА.

Информации о потенциальных метаболомных маркерах эффективности терапии РА в научной литературе представлено немного. В Таблице 2 содержится информация о таких исследованиях, собранная на основе проведенного в рамках диссертационной работы мета-анализа [145].

Таблица 1 – Основные исследования метаболомного профиля при ревматоидном артрите [107]

Авторы	Группы	Вид	Тип образца	Платформа	Повышенные метаболиты	Пониженные метаболиты
Yang X.Y. и соавт. [6]	РА (n=25) и контроль (n=10)	Человек	СЖ	ГХ-МС	Молочная кислота	Глюкоза
Srivastava N.K. и соавт. [7]	КИА (n=5) и контроль (n=5)	Крыса	Сустав	<sup>1</sup> H-ЯМР	Лактат, аланин, ВСАА, креатинин	Холин, глицерофосфохолин
Anderson J.R. и соавт. [8]	РА (n=14) и ОА (n=10)	Человек	СЖ	<sup>1</sup> H-ЯМР	Ацетат, ацетилированные сахараиды, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, саркозин, треонин	3-гидроксibuтират, 2-гидроксibuтират, 3-гидроксиизовалерат, цитрат, ацетилхолин, аденозин, аланин, аспарагин, цитрат, креатинин, глюкоза, глутамин, глицерин, гуанидинацетат, гистидин, манноза, мобильные липиды, миоинозитол, N-ацетил аминокислота, пролин, пируват, sn-глицеро-3-фосфохолин, таурин, тирозин, валин
Zhou J. и соавт. [9]	РА (n=33) и контроль (n=32)	Человек	Сыворотка	ГХ-МС	Пируват	ВСАА, лейцин, изолейцин, валин, треонин, аланин, метионин
Huffman K.M. и соавт. [10]	РА (n=51) и контроль (n=51)	Человек	Мышца	ЖХ-МС	Пируват	–
Alonso A. и соавт. [11]	ИВЗ (n=1210) и контроль (n=100)	Человек	Моча	<sup>1</sup> H-ЯМР	–	Цитрат
He Z. и соавт. [146]	РА (n=15) и контроль (n=15)	Человек	Плазма	ГХ-МС	Тимидин, уридин	Глицин, пролин, 2-кетоглутаровая кислота, хенодесоксихолевая кислота, урсодесоксихолевая кислота
Kim S. и соавт. [78]	РА (n=13) и не-РА [АС (n=7), ББ (n=5), подагра (n=13)]	Человек	СЖ	ГХ-МС	Сукцинат, октадеканол, аспарагин, терефталат, салициловый альдегид, глутамин, цитруллин, тирозин, урацил, лизин, рибитол, триптофан, ксилоза, рибоза	Изопальмитиновая кислота, глицерин, миристиновая кислота, пальмитолеиновая кислота, гидроксилламин, этаноламин
Ahn J.K. и соавт. [147]	ФПС РА и ФПС ОА	Культура клеток человека	ФПС	ГХ-МС	Фруктозо-6-фосфат, глюкозо-6-фосфат	Галактоза, глюкоза, глутамин, метионинсульфоксид, оксопролин, треонин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин
Kim J. и соавт. [148]	ФПС РА и ФПС ОА	Культура клеток человека	ФПС	ЖХ-МС	Аденин	Глутаминовая кислота, пролин

## Продолжение Таблицы 1

Jiang M. и соавт. [108]	РА (n=27) и контроль (n=60)	Человек	Сыворотка	ГХ-МС, ЖХ-МС	Молочная кислота, дигидроксифумаровая кислота, аспарагиновая кислота, глицеральдегид, гомосерин	4,8-диметилнаноилкарнитин
He M. и соавт. [12]	КИА (n=10) и контроль (n=10)	Мышь	Плазма	ЖХ-МС	8-НЕТЕ, 12-НЕТЕ	Метонин, гомоцистеин, треонин, пролин, аланин, цистатионин, валин, глицилглицин, лизин, серин, аспарагин, цистеин, триптофан, глутамин
He Z. и соавт. [106]	РА (n=27) и контроль (n=27)	Человек	Плазма	ГХ-МС	–	Цистеин, глутамин, лимонная кислота
Liu Y. и соавт. [109]	ААА (n=10) и контроль (n=10)	Крыса	Плазма	ЖХ-МС	Глутамат, аргинин, метионин	Пролин, валин, тирозин, фенилаланин, лейцин, глицин, триптофан, гистидин, треонин
He M. и соавт. [111]	КИА (n=9) и контроль (n=10)	Мышь	Плазма	ЖХ-МС	Метилцистеин, о-фосфоэтанолламин	Метионин, гомоцистеин, треонин, пролин, аланин, цистатионин, валин, глицилглицин, лизин, серин, аспарагин, цистеин, триптофан
Takahashi S. и соавт. [149]	ФПС РА и ФПС ОА	Культура клеток человека	ФПС	ГХ-МС, КЭ-МС	–	Глюкоза, глутамин, глутамат, лактат
Su J. и соавт. [150]	РА (n=240) и контроль (n=69)	Человек	Плазма	ЖХ-МС	–	1-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин, 1-стеароил-2-гидрокси-sn-глицеро-3-фосфохолин, глицерофосфохолин, L-аланин
Примечание: ААА – адьювант-ассоциированный артрит, АС – анкилозирующий спондилоартрит, ББ – болезнь Бехчета, ГХ-МС – газовая хроматография масс-спектрометрия, ЖХ-МС – жидкостная хроматография масс-спектрометрия, ИВЗ – иммуно-воспалительные заболевания, КИА – коллаген-индуцированный артрит, ОА – остеоартрит, СЖ – синовиальная жидкость, ФПС – фибробластоподобные синовиоциты, ВСАА – аминокислоты с разветвлённой боковой цепью, <sup>1</sup> H-ЯМР – протонный ядерный магнитный резонанс, 8-НЕТЕ – 8-гидроксиэйкозатетраеновая кислота, 12-НЕТЕ – 12-гидроксиэйкозатетраеновая кислота						

Таблица 2 – Информация о ранее проводимых исследованиях эффективности терапии ревматоидного артрита [145]

Авторы	Пациенты	Лечение	Тип терапии	Период наблюдения (мес.)	Образец	Аналитический метод	Основные выводы
Medcalf M.R. и соавт. [151]	20 пациентов: 11 с ответом, 9 без ответа	Метотрексат	БПВП	4	Плазма	ГХ -МС	Уровни 19 метаболитов различались до лечения у пациентов с РА в зависимости от их ответа на метотрексат через 16 недель. ROC анализ показал отличную дискриминацию между пациентами с ответом и без ответа по уровням норникотина, N-метилизoleyцина, 2,3-дигидроксимасляной кислоты и комбинированной панели биомаркеров (AUC 0,82-0,98).
Funk R.S. и соавт. [152]	30 пациентов: 7 с ответом, 9 без ответа	Метотрексат	БПВП	3	Плазма	ГХ -МС, ЖХ-МС	После начала терапии метотрексатом изменились уровни 50 метаболитов (у 15 из них $p < 0,05$ ). Снижение уровня ненасыщенных триглицеридов ( $p = 0,0009$ ) и корреляция 12 метаболитов с активностью заболевания по JADAS-71.
Medcalf M.R. и соавт. [153]	20 пациентов: 11 с ответом, 9 без ответа	Метотрексат	БПВП	4	Плазма	ГХ -МС	Метотрексат нормализует уровни триглицеридов, жирных кислот и церамидов. Различия в уровнях липидов, нуклеозидов и органических соединений были отмечены у пациентов с ответом и без ответа на метотрексат.
Gosselt H.R. и соавт. [154]	82 пациента: 41 с ответом, 41 без ответа	Метотрексат	БПВП	3	Плазма	ЖХ- МС	У пациентов без ответа уровни гомоцистеина, таурина, АТФ, ГДФ и мочевой кислоты ниже, а уровни гликолитических интермедиатов – выше. Идентифицированы независимые предикторы неэффективности терапии: гомоцистеин, глицеро-3-фосфат и 1,3-/2,3-дифосфоглицериновая кислота (AUC 0,81, чувствительность 0,78, специфичность 0,76).
Wang Z. и соавт. [155]	38 пациентов: 25 с ответом, 13 без ответа	Метотрексат	БПВП	6	Сыворотка	<sup>1</sup> H-ЯМР	Идентифицировано 11 метаболитов, которые могут предсказать ответ на метотрексат: мочевая кислота, таурин, урацил, ТМАО, триптофан, глицин, гистидин, гипоксантин, метионин, аспарат и $\alpha$ -оксоглутарат.
Takahashi S. и соавт. [156]	26 пациентов: 14 с ответом, 12 без ответа	иФНО (этанерцепт, голимумаб, инфликсимаб, цертолизумаб пэгол, адалимумаб) ИЛИ абатацепт	ГИБП	3	Сыворотка	КЭ-МС	Идентифицировано 5 потенциальных предикторов ответа на терапию иФНО и 3 – на абатацепт. ROC анализ показал высокую точность: иФНО (AUC 0,941, чувствительность 85,7%, специфичность 100%), абатацепт (AUC 0,985, чувствительность 100%, специфичность 90,9%).

## Продолжение Таблицы 2

Tatar Z и соавт. [157]	140 пациентов: 100 с ответом, 40 без ответа	Инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт	ГИБП	6	Плазма	ЖХ-МС	Метаболические профили отличались у пациентов с ответом и отсутствием ответа на терапию. Углеводные производные выявлены как ключевые показатели терапевтического ответа.
Priori R. и соавт. [158]	27 пациентов: 18 с ответом, 9 без ответа	Этанерцепт	ГИБП	6	Сыворотка	<sup>1</sup> H-ЯМР	Анализ метаболомного профиля точно идентифицировал пациентов с ответом на лечение этанерцептом с 100% чувствительностью, специфичностью и точностью.
Karoor S.R. и соавт. [159]	16 пациентов с РА (7 с ответом, 9 без ответа) и 20 пациентов с ПсА	Инфликсимаб или этанерцепт	ГИБП	12	Моча	<sup>1</sup> H-ЯМР	Метаболические профили мочи позволяют различать пациентов с ответом и без ответа. Ключевые метаболиты включают гистамин, глутамин, ксантуреновую кислоту и этаноламин.
Dudka I. и соавт. [160]	25 пациентов: 19 с ответом, 6 без ответа	Адалимумаб, этанерцепт, цертолизумаб пэгол, тоцилизумаб	ГИБП	3	Плазма	<sup>1</sup> H-ЯМР, ГХ-МС, ЖХ-МС	24 метаболита значительно различались в группах «ответчиков» и «не-ответчиков» на терапию
Hug B. и соавт. [161]	128 пациентов (76 с низкой активностью, 52 с высокой активностью)	Адалимумаб, этанерцепт, инфликсимаб, голимумаб, цертолизумаб пэгол, тоцилизумаб, абатацепт и ритуксимаб	ГИБП	-	Плазма	ЖХ-МС	33 метаболита значительно различались у пациентов с низкой и высокой активностью
Supren V.V.J. и соавт. [162]	124 пациентов: 60 с ответом, 64 без ответа	Адалимумаб, этанерцепт, инфликсимаб, голимумаб, цертолизумаб пэгол, тоцилизумаб, абатацепт, ритуксимаб	ГИБП	3	Сыворотка	ЖХ-МС	Основные предикторы ответа: sn1-LPC (18:3- $\omega$ 3/ $\omega$ 6), sn1-LPC (15:0), этаноламин и лизин. Модель, объединяющая эти показатели с клиническими параметрами, показала значительно более высокую AUC по сравнению с клиническими параметрами отдельно ( $p = 0,01$ ).

## Продолжение Таблицы 2

Murillo-Saich J.D. и соавт. [163]	35 пациентов: 17 с ответом, 18 без ответа	Тоцилизумаб	ГИБП	6	Плазма	<sup>1</sup> H-ЯМР	У пациентов с ответом на терапию были выше исходные уровни специфических метаболитов, включая изомасляную кислоту, 3-гидроксипутират и аминокислоты. Анализ OPLS-DA частично различал пациентов с ответом и без ответа. Диагностическая модель с использованием 3-гидроксипутирата и фенилаланина правильно классифицировала 77,1% пациентов с ответом. Через 6 месяцев у пациентов без ответа оставались низкие уровни некоторых метаболитов.
Примечание: БПВП – базисные противовоспалительные препараты, ГИБП – генно-инженерные биологические препараты, ГХ-МС – газовая хроматография масс-спектрометрия, ЖХ-МС – жидкостная хроматография масс-спектрометрия, иФНО – ингибиторы фактора некроза опухолей, КЭ-МС – капиллярный электрофорез-масс-спектрометрия, ПсА – псориатический артрит, <sup>1</sup> H-ЯМР – протонный ядерный магнитный резонанс							

### 1.7. Заключение по обзору литературы

В настоящее время с развитием технологии мультиомики интегративный анализ метаболомики с протеомикой, транскриптомикой, геномикой и секвенированием генов малых регуляторных РНК может расширить представление о патогенезе РА и улучшить его точную диагностику. В зарубежной литературе представлены исследования по изучению метаболома пациентов с ревматологическими заболеваниями, однако работы по метаболомному профилированию непосредственно пациентов с РА и влиянию противоревматической терапии на метаболомный статус малочисленны. Также следует отметить, что для большинства исследований характерна разнородность пациентов с РА (серопозитивных, серонегативных, высоко- или низкоактивных), что существенно ограничивает применение результатов этих исследований в клиническую практику. Отдельные метаболиты, для которых выявлена связь с прогрессированием РА, в течение многих лет могут определяться даже на ранних стадиях заболевания до появления первых симптомов, что свидетельствует об их потенциальном значении для ранней диагностики. На сегодняшний день, отечественных клинических исследований по полному метаболомному профилированию пациентов с РА не проводилось. Изучение и идентификация значимых метаболитов в качестве потенциальных биомаркеров для диагностики РА и оценки эффективности лекарственной терапии может послужить основой для персонализированного лечения пациентов с РА.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общий протокол клинического исследования и дизайн исследования

На базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) выполнено наблюдательное исследование метаболомного профиля пациентов с РА без терапии, пациентов с РА с применением БПВП, пациентов с РА с применением ГИБП и здоровых добровольцев. Исследование было одобрено решением Ученого Совета и Локальным этическим Комитетом Сеченовского Университета и соответствует Хельсинкской декларации, принятой на 18-ой Генеральной Ассамблее Всемирной медицинской ассоциации. Набор пациентов в исследование проведен на базе ревматологического отделения Университетской клинической больницы №1 и кафедры госпитальной терапии №1 Сеченовского Университета с сентября 2022 г. по декабрь 2024 г. Исследование метаболомного профиля выполнено в Лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Всего в исследование, включено 136 человек: 37 пациентов с РА без терапии (группа «РА-*de novo*»), 35 пациентов с РА на БПВП (группа «РА-БПВП»), 33 пациента с РА на ГИБП (группа «РА-ГИБП»), группу контроля составил 31 здоровый доброволец. Перед началом и включением в исследование потенциальному участнику, соответствующему критериям включения, было предложено подписать информированное добровольное согласие.

#### *Критерии включения в группу «РА-*de novo*»*

1. Наличие подписанного письменного информированного согласия на участие в исследовании;
2. Наличие РА согласно критериям, указанным в Клинических рекомендациях «Ревматоидный артрит» Минздрава РФ (2021 г.) [164];

3. Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 80 лет;
4. Отсутствие противоревматической терапии в анамнезе.

*Критерии включения в группу «РА-БПВП»*

1. Наличие подписанного письменного информированного согласия на участие в исследовании;
2. Наличие РА согласно критериям, указанным в Клинических рекомендациях «Ревматоидный артрит» Минздрава РФ (2021 г.) [164];
3. Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 80 лет;
4. Терапия БПВП (метотрексат, лефлуномид, сульфасалазин, гидроксихлорохин).

*Критерии включения в группу «РА-ГИБП»*

1. Наличие подписанного письменного информированного согласия на участие в исследовании;
2. Наличие РА согласно критериям, указанным в Клинических рекомендациях «Ревматоидный артрит» Минздрава РФ (2021 г.) [164];
3. Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 80 лет;
4. Терапия ГИБП – ингибиторы фактора некроза опухоли  $\alpha$  (иФНО $\alpha$ ), ингибиторы ИЛ-6, анти-В-клеточная терапия (ритуксимаб).

*Критерии включения в группу контроля*

1. Наличие подписанного письменного информированного согласия на участие в исследовании;
2. Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 80 лет.

*Критерии невключения/исключения в основные группы («РА-de novo», «РА-БПВП», «РА-ГИБП»)*

1. Начало ревматоидного артрита в возрасте моложе 16 лет;
2. Прием глюкокортикостероидов (ГКС) в дозе более 10 мг/сутки;
3. Злокачественные новообразования;

4. Острое нарушение мозгового кровообращения или транзиторная ишемическая атака в течение предшествующих 6 месяцев;
5. Острый инфаркт миокарда в течение предшествующих 3-х месяцев;
6. Нестабильная стенокардия;
7. Острые или хронические вирусные и бактериальные инфекции в стадии обострения;
8. Психические заболевания;
9. Злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;
10. Беременность и лактация;
11. Отсутствие подписанного письменного информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

#### *Критерии невключения в группу контроля*

1. Заболевания, входящие в критерии невключения основных групп;
2. Ревматоидный артрит;
3. Системные заболевания соединительной ткани;
4. Воспалительные заболевания кишечника;
5. Другие воспалительные артропатии;
6. Отсутствие подписанного письменного информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

#### *План исследования*

1. Отбор участников исследования согласно критериям включения, невключения/исключения;
2. Получение информированного согласия на участие в исследовании;
3. Обследование всех участников исследования: сбор жалоб, анамнеза заболевания и анамнеза жизни, анализ предоставленной медицинской документации, измерение антропометрических показателей с вычислением ИМТ, физикальное обследование, выполнение общего анализа крови, определение показателей воспалительной активности (СОЭ, СРБ), определение показателей липидного обмена (общего холестерина, липопротеинов низкой плотности

(ЛПНП), углеводного обмена, уровня мочевиной кислоты, печеночных трансаминаз, определение уровня креатинина, расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ;

4. Для пациентов с РА всех трех групп также проводилось исследование уровней иммунологических маркеров (РФ, АЦЦП); рентгенография суставов с оценкой рентгенологической стадии РА по Штейнброкеру (Приложение А, Таблица А.1) и оценкой функционального класса (Приложение А, Таблица А.2); оценка активности заболевания с подсчетом суставов (число болезненных суставов, число припухших суставов) с последующим определением индекса DAS28-СРБ (Приложение А, Таблица А.3).

5. Проведение специального исследования: целевое метаболомное профилирование крови всех участников исследования с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (WatersAcquity UPLC) в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения (TSQ, Xevo TQ-S micro, Waters, США).

6. Анализ и интерпретация данных, полученных в ходе метаболомного профилирования, выполнялись с помощью комплексных программ интеллектуального анализа с привлечением мультивариантной статистики и специализированного программного обеспечения, для описания ключевых звеньев метаболических процессов (РСА, OPLS-DA и др.).

7. Статистическая обработка полученных данных.

8. Пациентам группы РА-*de novo* назначена базисная противоревматическая терапия (метотрексат), и через 6 месяцев проведено повторное клинико-лабораторное обследование для оценки эффективности терапии. Конечная точка исследования – достижение ремиссии или низкой активности РА.

9. Формулировка выводов.

Дизайн исследования представлен на Рисунке 4.

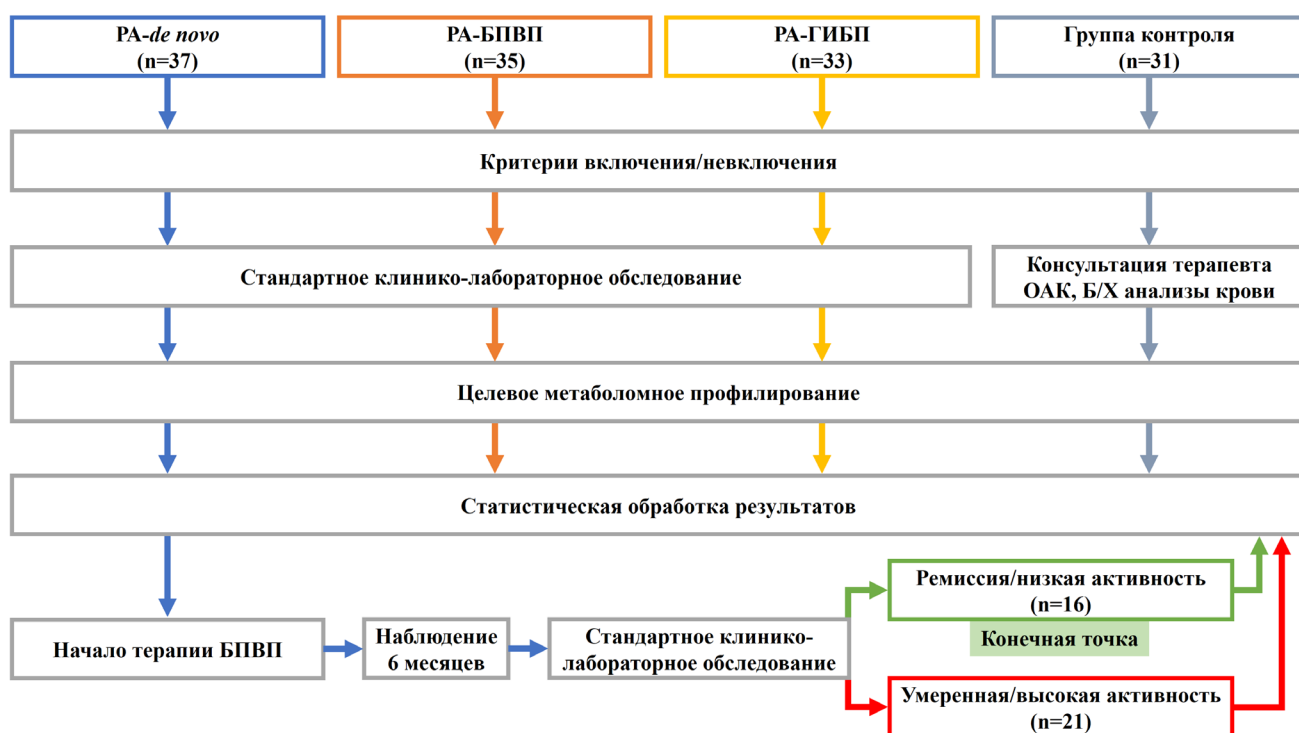


Рисунок 4 – Дизайн настоящего исследования

## 2.2. Характеристика участников исследования

В настоящем исследовании приняли участие 105 пациентов с РА и 31 здоровый доброволец. В группу РА-*de novo* включены 37 пациентов, среди которых 12 мужчин (32,4%), медиана возраста составила 57,51 [52,63-62,40] лет, а медиана ИМТ – 26,77 [29,72-38,36] кг/м<sup>2</sup> (Таблица 3). Группа РА-БПВП представлена 35 пациентами, из которых 6 мужчин (17,1%), медиана возраста – 55,23 [51,08-59,38] лет, а медиана ИМТ – 25,97 [24,37-27,57] кг/м<sup>2</sup>. В группу РА-ГИБП вошли 33 пациента, из них 4 мужчины (12,1%), медиана возраста – 52,79 [47,23-58,35] лет, а медиана ИМТ – 25,8 [24,29-27,3] кг/м<sup>2</sup>. В группу контроля вошел 31 здоровый доброволец, из которых 11 мужчин (35,5%), медиана возраста – 41 [30,00-44,00] год, а медиана ИМТ – 24,85 [23,16-26,53] кг/м<sup>2</sup>. Пациенты основных групп были сопоставимы по полу, возрасту и ИМТ, однако были старше группы контроля (Таблица 3).

Таблица 3 – Демографические показатели участников исследования

Показатель	Группа				P
	РА- <i>de novo</i> (1)	РА-БПВП (2)	РА-ГИБП (3)	Контроль (4)	
Пол (мужской), n (%)	12 (32,4)	6 (17,1)	4 (12,1)	11 (35,5)	0,069
Возраст, лет Me [IQR]	60,00 [51,00-66,00]	56,00 [48,00-64,00]	57,00 [43,00-62,00]	41,00 [30,00-44,00]	0,573 p <sub>4-1</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> <0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> Me [IQR]	26,77 [23,92-30,12]	25,47 [22,92-28,05]	24,80 [22,58-28,26]	24,85 [23,16-26,53]	0,319
Примечание: n – абсолютное число больных, Me [IQR] – медиана и интерквартильный размах. ИМТ – индекс массы тела					

Пациенты основных групп были сопоставимы по наличию ожирения, курения, сахарного диабета 2 типа, остеопороза, дислипидемии, гиперурикемии, хронической болезни почек, однако отличались от группы контроля по наличию артериальной гипертензии (АГ), заболеваний парадонта, остеопороза (Таблица 4, Рисунок 5, 6).

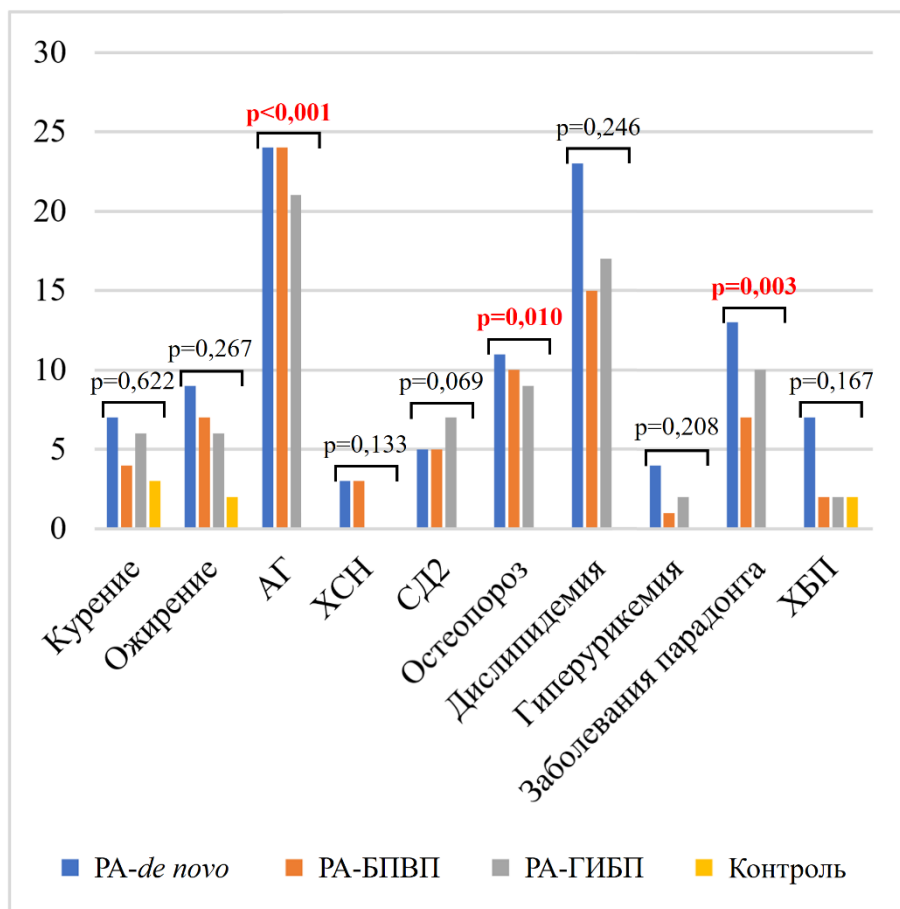
Таблица 4 – Факторы риска и сопутствующие заболевания участников исследования

Показатель	Группа				P
	РА- <i>de novo</i> (1)	РА-БПВП (2)	РА-ГИБП (3)	Контроль (4)	
Ожирение, n (%)	9 (24,3)	7 (20,0)	6 (18,2)	2 (6,5)	0,267
Курение, n (%)	7 (18,9)	4 (11,4)	6 (18,2)	3 (9,7)	0,622
АГ, n (%)	24 (64,9)	24 (68,6)	21 (63,6)	0 (0,0)	<0,001 p <sub>4-1</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> <0,001
ХСН, n (%)	3 (8,1)	3 (8,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,133
СД 2 типа, n (%)	5 (13,5)	5 (14,3)	7 (21,9)	0 (0,0)	0,069
Остеопороз, n (%)	11 (29,7)	10 (28,6)	9 (27,3)	0 (0,0)	0,010 p <sub>4-1</sub> = 0,005 p <sub>4-2</sub> = 0,006 p <sub>4-3</sub> = 0,007
Дислипидемия, n (%)	23 (62,2)	15 (42,9)	17 (51,5)	20 (64,5)	0,246

## Продолжение Таблицы 4

Гиперурикемия, n (%)	4 (10,8)	1 (2,9)	2 (6,1)	0 (0,0)	0,208
Заболевания пародонта, n (%)	13 (35,1)	7 (20,0)	10 (30,3)	0 (0,0)	0,003 p <sub>1-4</sub> = 0,001 p <sub>2-4</sub> = 0,034 p <sub>3-4</sub> = 0,004
ХБП, n (%)	7 (18,9)	2 (5,7)	2 (6,1)	2 (6,7)	0,167

Примечание: n – абсолютное число больных.  
АГ – артериальная гипертензия, СД – сахарный диабет, ХБП – хроническая болезнь почек, ХСН – хроническая сердечная недостаточность



Примечание: АГ – артериальная гипертензия, СД – сахарный диабет, ХБП – хроническая болезнь почек, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Рисунок 5 – Распространенность факторов риска и сопутствующие заболевания участников исследования

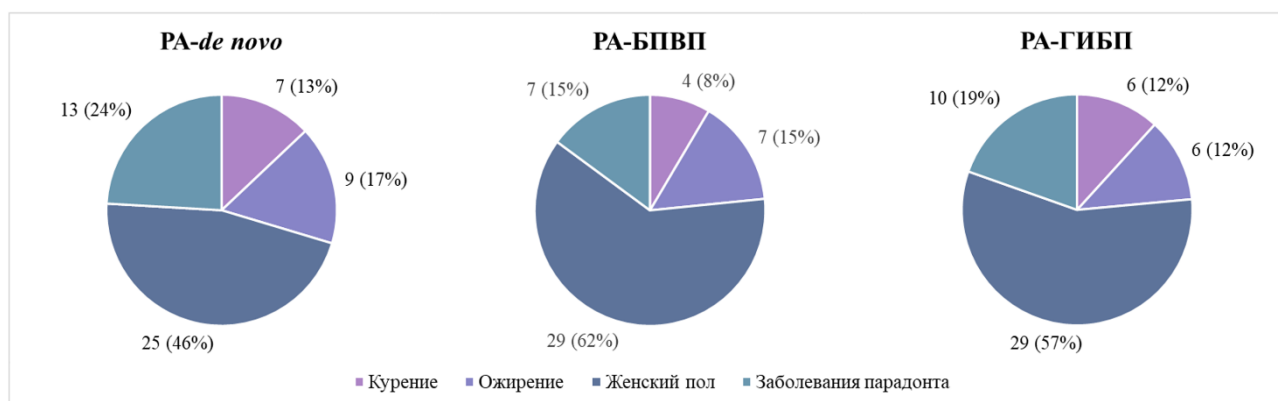


Рисунок 6 – Распространенность значимых факторов риска в основных группах пациентов

Активность заболевания по DAS28-СРБ была статистически значимо выше в группе РА-*de novo* в сравнении с группами РА-БПВП и РА-ГИБП. Основные группы пациентов с РА различались по рентгенологической стадии, функциональному классу, уровню РФ и АЦЦП (Таблица 5). Во всех группах пациентов была выявлена преимущественно 2 рентгенологическая стадия заболевания и 2 функциональный класс. В группе РА-*de novo* было выявлено 15 серонегативных пациентов (40,5%), в группе РА-БПВП – 7 (20,0%), а в группе РА-ГИБП – 5 (15,2%). АЦЦП был выявлен у более чем половины пациентов с РА: у 21 (56,8%) пациентов в группе РА-*de novo*, у 30 (85,7%) пациентов группы РА-БПВП и у 31 (93,9%) пациента группы РА-ГИБП. Ранний РА (длительностью до 1 года) был зарегистрирован у 21 (56,8%) пациентов в группе РА-*de novo*, тогда как в группах РА-БПВП и РА-ГИБП – у 2 (5,7%) и 2 (6,1%) пациентов соответственно.

Таблица 5 – Клинико-лабораторные характеристики РА у пациентов основных групп

Показатели	Группа			P
	РА- <i>de novo</i> (1)	РА-БПВП (2)	РА-ГИБП (3)	
Длительность заболевания (мес.), Me [IQR]	9,00 [6,00-12,00]	36,00 [24,00-48,00]	36,00 [12,00-48,00]	<0,001 p <sub>2-1</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001
Ранний РА, n (%)	21 (56,8)	2 (5,7)	2 (6,1)	<0,001 p <sub>1-2</sub> < 0,001 p <sub>1-3</sub> < 0,001

## Продолжение Таблицы 5

Рентгенологическая стадия, n (%)	1 стадия	9 (24,3)	1 (2,8)	2 (6,1)	<0,001
	2 стадия	24 (64,9)	22 (62,9)	17 (51,5)	
	3 стадия	4 (10,8)	9 (25,7)	13 (39,4)	
	4 стадия	0 (0)	3 (8,6)	1 (3,0)	
Функциональная недостаточность, n (%)	I ФК	11 (29,7)	3 (8,6)	2 (6,1)	<0,001
	II ФК	22 (59,5)	18 (51,4)	21 (63,6)	
	III ФК	4 (10,8)	14 (40,0)	10 (30,3)	
	IV ФК	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Активность DAS28-СРБ, m±SD		4,88±0,98	3,89±0,81	3,09±1,00	<0,001 p <sub>2-1</sub> = 0,042 p <sub>3-1</sub> = 0,026
Активность DAS28-СРБ, n (%)	Ремиссия	0 (0)	10 (28,5)	15 (45,5)	<0,001
	Низкая	1 (2,7)	12 (34,3)	11 (33,3)	
	Умеренная	19 (51,4)	13 (37,2)	7 (21,2)	
	Высокая	17 (45,9)	0 (0)	0 (0)	
РФ+, n (%)		22 (59,5)	28 (80,0)	28 (84,8)	0,034
АЦЦП+, n (%)		21 (56,8)	30 (85,7)	31 (93,9)	<0,001 p <sub>1-2</sub> = 0,014 p <sub>1-3</sub> = 0,001
Примечание: n – абсолютное число больных, Me [IQR] – медиана и интерквартильный размах, m±SD – среднее значение и стандартное отклонение. АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, РА – ревматоидный артрит, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка					

На момент включения в исследование пациенты основных групп, страдающие АГ, принимали антигипертензивные препараты: в группе РА-*de novo* 23 (62,2%), в группе РА-БПВП – 20 (57,1%), а в группе РА-ГИБП – 19 (57,6%). Пациенты группы РА-*de novo* не получали противоревматическую терапию, однако 3 (8,1%) пациента получали терапию ГКС менее 5 мг по преднизолону. В группе РА-БПВП 5 (14,3%) пациентов находились на комбинированной терапии метотрексат+лефлуномид.

Все пациенты в группе РА-ГИБП получали также базисную противоревматическую терапию, причем из этих пациентов 3 (9,0%) больных

находились на комбинированной терапии метотрексат+лефлуномид дополнительно к ГИБП. Подробная характеристика лекарственной терапии представлена в Таблице 6.

Таблица 6 – Основная лекарственная терапия в исследуемых группах пациентов

Показатели, n (%)	Группа			p
	РА- <i>de novo</i> (n=37)	РА-БПВП (n=35)	РА-ГИБП (n=33)	
Прием антигипертензивных препаратов	23 (62,2)	20 (57,1)	19 (57,6)	0,891
БПВП:	–	35 (100,0)	33 (100,0)	–
Метотрексат	–	27 (77,1)	21 (63,6)	0,290
Лефлуномид	–	11 (31,4)	17 (51,5)	0,093
ГИБП:	–	–	33 (100,0)	–
Ритуксимаб	–	–	8 (24,2)	–
Этанерцепт	–	–	3 (9,1)	–
Адалимумаб	–	–	10 (30,3)	–
Левилимаб	–	–	6 (18,2)	–
Голимумаб	–	–	1 (3,0)	–
Олокизумаб	–	–	4 (12,1)	–
Тоцилизумаб	–	–	1 (3,0)	–
ГКС <5 мг/сут	3 (8,1)	9 (25,7)	7 (21,2)	0,130
Примечание: БПВП – базисный противовоспалительный препарат, ГИБП – генно-инженерный биологический препарат, ГКС – глюкокортикостероиды				

### 2.3. Лабораторно-инструментальные методы обследования

Всем участникам исследования проведено лабораторное обследование: выполнен общий анализ крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, скорость оседания эритроцитов (СОЭ)), биохимический анализ крови (глюкоза, липидный спектр, креатинин, мочевая кислота, РФ, АЦЩП, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, общий билирубин,

креатинин, калий, С-реактивный белок (СРБ), сывороточное железо). Проверялось наличие протеинурии у пациентов в общем анализе мочи. Биохимические исследования проводились на биохимическом анализаторе ADVIA® 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics®) с использованием реагентов «ADVIA». Всем пациентам забор крови проводился натощак, использовались вакуумные пробирки с активатором свертывания Improvacuter 5 мл. Показатели липидного спектра, мочевиная кислота определялись колориметрическим методом, уровень креатинина – кинетическим методом, уровень глюкозы натощак – гексокиназным методом. Участники исследования всех четырех групп различались по уровню РФ, АЦП, гемоглобина, лейкоцитов, глюкозы и мочевой кислоты, креатинина и показателям системного воспалительного ответа (СОЭ, СРБ) (Таблица 7).

Таблица 7 – Лабораторные данные участников исследования

Показатели	Группа				p
	РА- <i>de novo</i> (1)	РА-БПВП (2)	РА-ГИБП (3)	Контроль(4)	
РФ, МЕ/мл Ме [IQR]	35,00 [10,00-135,00]	49,00 [23,65-125,00]	60,40 [28,00-130,00]	–	p <sub>2-1</sub> = 0,011 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> = 0,005
АЦП, Ед/мл Ме [IQR]	43,00 [10,00-500,00]	180,00 [40,00-500,00]	180,00 [40,00-400,00]	–	p <sub>2-1</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> = 0,067
Гемоглобин, г/л Ме [IQR]	130,00 [119,00-136,00]	130,00 [120,00-136,50]	129,00 [119,00-133,00]	148,00 [134,50-158,00]	<0,001 p <sub>4-1</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> <0,001
Эритроциты, млн Ме [IQR]	4,50 [4,07-4,87]	4,27 [4,17-4,60]	4,32 [4,02-4,57]	4,80 [4,58-4,90]	<0,001 p <sub>4-1</sub> = 0,013 p <sub>4-2</sub> = 0,003 p <sub>4-3</sub> <0,001
Лейкоциты, тыс. Ме [IQR]	7,23 [6,45-9,14]	6,06 [5,11-7,50]	5,64 [4,68-7,70]	6,40 [5,50-7,20]	0,004 p <sub>2-1</sub> = 0,014 p <sub>3-4</sub> = 0,010 p <sub>4-1</sub> = 0,047
Тромбоциты, тыс. Ме [IQR]	337,00 [263,00-461,00]	289,00 [260,50-365,00]	293,00 [235,00-339,00]	300,00 [229,00-313,00]	0,105
СОЭ, мм/час Ме [IQR]	25,00 [11,00-35,00]	16,00 [10,00-32,50]	15,00 [7,00-25,00]	8,00 [7,00-10,00]	<0,001 p <sub>4-1</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> = 0,005
Глюкоза, ммоль/л Ме [IQR]	5,25 [5,00-5,79]	4,95 [4,45-5,27]	5,36 [4,91-5,67]	5,10 [4,80-5,30]	0,009 p <sub>2-1</sub> = 0,034 p <sub>3-2</sub> = 0,028

## Продолжение Таблицы 7

Билирубин общий, мкмоль/л Me [IQR]	10,90 [8,40-13,90]	11,30 [8,20-13,95]	9,10 [8,50-12,00]	11,00 [10,50-14,00]	0,082
Мочевая кислота, мкмоль/л Me [IQR]	307,60 [263,10-350,00]	267,00 [201,35-303,50]	234,00 [199,00-282,00]	292,00 [218,00-366,00]	0,003 p <sub>3-1</sub> = 0,005 p <sub>4-3</sub> = 0,045
Креатинин, мкмоль/л Me [IQR]	82,00 [71,00-95,00]	75,00 [67,50-79,00]	70,00 [66,00-76,00]	87,70 [75,28-110,30]	<0,001 p <sub>3-1</sub> = 0,004 p <sub>4-2</sub> = 0,003 p <sub>4-3</sub> <0,001
K <sup>+</sup> , ммоль/л Me [IQR]	4,50 [4,10-4,70]	4,60 [4,30-4,80]	4,30 [4,30-4,70]	4,10 3,85-4,30]	<0,001 p <sub>4-1</sub> = 0,002 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> = 0,003
Железо, мкмоль/л Me [IQR]	12,90 [9,00-22,60]	14,10 [10,12-19,90]	15,70 [11,20-18,20]	17,70 [13,30-19,80]	0,469
Холестерин, ммоль/л, m±SD	5,01± 1,03	5,08±0,99	5,30±0,88	5,59±0,83	0,061
ЛПНП, ммоль/л Me [IQR]	2,80 [2,20-3,50]	2,80 [2,10-3,57]	3,00 [2,40-3,50]	3,31 [2,76-3,97]	0,055
АСТ, ммоль/л Me [IQR]	20,00 [17,00-25,00]	20,00 [16,00-27,00]	19,00 [17,00-26,00]	22,00 [20,00-26,00]	0,332
АЛТ, ммоль/л Me [IQR]	24,00 [16,00-29,00]	20,00 [17,00-27,50]	18,00 [15,00-25,00]	20,00 [27,00-24,00]	0,125
СРБ, мг/л Me [IQR]	12,00 [6,60-2,00]	6,40 [2,15-4,55]	3,10 [1,22-8,70]	1,00 [0,20-2,25]	<0,001 p <sub>2-1</sub> = 0,027 p <sub>3-1</sub> <0,001 p <sub>4-1</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> < 0,001 p <sub>4-3</sub> = 0,021
Примечание: n – абсолютное число больных, Me [IQR] – медиана и интерквартильный размах, m±SD – среднее значение и стандартное отклонение. АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспартатаминотрансфераза, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, РФ – ревматоидный фактор, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок					

Так, пациенты основных групп отличались от группы контроля более высокими уровнями островоспалительных маркеров (СОЭ, СРБ), а пациенты группы *РА-de novo* имели более высокий уровень лейкоцитов, СОЭ и СРБ, мочевой кислоты при сравнении с другими группами пациентов с РА. Уровень калия был ниже в группе контроля в сравнении с основными группами, но не выходил за пределы референсных значений. Уровень гемоглобина был статистически значимо ниже в группах пациентов с РА в сравнении с группой контроля. Следует отметить,

что, несмотря на различия в показателях креатинина, глюкозы, лейкоцитов, эритроцитов, калия между группами, все показатели были в пределах референсных значений. Также уровни СОЭ и СРБ в группе РА-ГИБП были ниже в сравнении с группой РА-*de novo* и РА-БПВП, однако данные тенденции не имели статистической значимости.

## **2.4. Исследование метаболомного профиля**

### **2.4.1. Забор крови и пробоподготовка для последующего определения метаболитов**

У всех участников исследования между 08:00 и 09:00 утра были взяты образцы крови из вены после ночного голодания в пробирки, содержащие дегидратдикалиевой соль этилендиаминтетрауксусной кислоты в первые дни госпитализации, а здоровым добровольцам – сразу после включения в исследования. Образцы центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 минут. Полученную плазму крови хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа. Все пациенты были проинформированы, что за три дня до взятия крови нельзя было изменять характер питания, необходимо было исключить прием витаминов и биологически активных добавок. Кроме прочего, стоит отметить, что пациентов, придерживающихся вегетарианской диеты, в исследовании не было.

### **2.4.2. Целевое метаболомное профилирование**

Количественный целевой анализ метаболитов был выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. В рамках анализа проводили количественное определение 85 метаболитов, относящихся к классам производных триптофана, аминокислотам, ацилкарнитинам, метаболитам цикла холина, аргинина и монооксида азота. Для подготовки проб к хромато-масс-спектрометрическому анализу 10 мкл плазмы

крови смешивали с 40 мкл смеси изотопно-меченных внутренних стандартов в метаноле и высушивали в вакуумном концентраторе. К сухому остатку добавляли 50 мкл дериватирующего агента (фенилизотиоцианат в смеси этанол-пиридин-вода) и выдерживали при комнатной температуре на 20 минут. Далее высушивали для удаления избытка дериватизационного реагента и растворяли в 50% метаноле с добавлением 5 мМ ацетата аммония. Перед проведением анализа образцы центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин и прозрачный супернатант использовали для проведения инструментального анализа. Параметры инструментального анализа представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Параметры инструментального анализа

Хромато-масс-спектрометр	ВЭЖХ система Agilent 1200 с трехкврупольным масс-спектрометром Agilent 6460 (Palo Alto, CA, U.S.A.)
Колонка	Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 50 мм; 1,7 мкм) (Waters Corp., U.S.A)
Предколонка	Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 5 мм; 1,7 мкм) (Waters Corp., U.S.A)
Фаза А	0,1% (л/л) муравьиная к-та в воде
Фаза Б	0,1% (л/л) муравьиная к-та в ацетонитриле
Температура колонки	40°C
Градиент	0,5 мин – 1% В, 1 мин – 30% В, 3 мин – 75% В, 3,5 мин – 95% В, 4,5 мин – 95% В, 4,6 мин – 1% В, 6 мин – 1% В
Скорость потока	500 мкл/мин
Объем пробы	10 мкл
Напряжение на капилляре	3500 В
Давление в небулайзере	30 psi
Температура осушающего газа	300°C
Скорость потока в небулайзере	11 л/мин
Температура поддувочного газа	300°C
Скорость потока поддувочного газа	11 л/мин

Количественный анализ выполняли в программе MassHunter software (Agilent, Palo Alto, CA, U.S.A.), рассчитывая соотношение площади пиков целевых соединений к площади соответствующего им внутреннего стандарта. Линейный диапазон соответствует физиологическим концентрациям аналита в плазме крови.

Методики анализа были валидированы в соответствии с требованиями по валидации биоаналитических методик [165]. Для этих целей проводили оценку

селективности, линейности, правильности и прецизионности, степени извлечения, эффекту матрицы и стабильности аналитического метода.

Исследование проводилось в Лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технического парка биомедицины ФГАУО ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## 2.5. Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v.4.6.1 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин ( $m$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха ( $IQR$ ). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. 95% доверительные интервалы для процентных долей рассчитывались по методу Клоппера-Пирсона. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий). Оценку различия выборочных средних рассматриваемых групп пациентов выполняли с помощью параметрических (Student t-test для двух групп и ANOVA для трех групп) или непараметрических (метод Манн-Уитни для двух групп и метод Крускал-Уоллис для трех групп) методов анализа на языке программирования Python (пакет `scipy stats`). Корреляции рассчитывали с помощью корреляционного анализа Пирсона на

языке программирования Python (пакет `scipy stats`). Для построения графиков боксплот использовали язык программирования Python (пакеты `seaborn`, `matplotlib`). Метод главных компонент (МГК) и ортогональный метод частичных наименьших квадратов для дискриминационного анализа (OPLS-DA) выполняли в ПО Umetrics SIMCA P+ (Umeå, Sweden). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия  $\chi$ -квадрат Пирсона. Апостериорные сравнения выполнялись с помощью критерия  $\chi$ -квадрат Пирсона с поправкой Холма. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

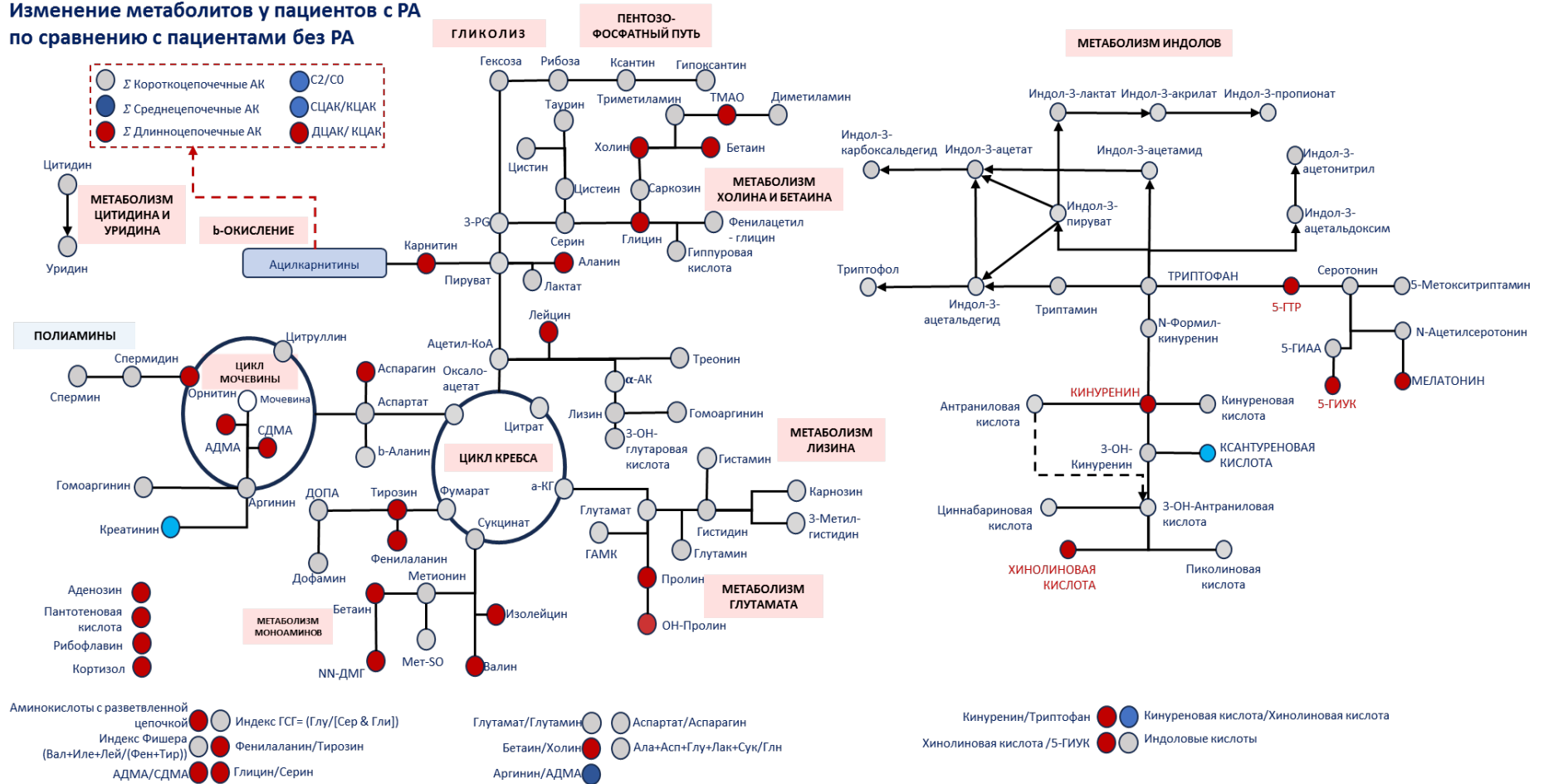
### 3.1. Сравнение метаболомного профилирования пациентов с ревматоидным артритом, не принимающих терапию, и здоровых добровольцев

При сравнении метаболомных профилей плазмы крови пациентов группы *RA-de novo* и контрольной группы были установлены статистически значимые изменения в концентрационных уровнях метаболитов (Рисунок 7).

Было выявлено, что у пациентов с *RA-de novo* происходят значимые нарушения в метаболизме ацилкарнитинов. Так, свободный карнитин, коротко- и длинноцепочечные ацилкарнитины статически значимо были выше в группе пациентов *RA-de novo* в сравнении с группой контроля, в то время как среднецепочечные ацилкарнитины были статистически значимо ниже (Таблица 9).

На 1 этапе при оценке уровня АК было выявлено статически значимое различие производных триптофана, аспарагина, тирозина, фенилаланина. Среди производных катаболизма триптофана, преимущественно отвечающих за общее воспаление в организме, статистически значимые изменения в плазме пациентов *RA-de novo* наблюдались в уровнях метаболитов распада кинуренина (хинолиновая кинуреновая и ксантуреновая кислоты) и метаболитах серотонинового пути (гидроксииндолуксусная кислота (ГИУК), мелатонин) (Таблица 10, Рисунок 10).

### Изменение метаболитов у пациентов с РА по сравнению с пациентами без РА



Примечание: красный цвет свидетельствует о повышении концентрации метаболита в группе пациентов РА-*de novo* в сравнении с группой контроля, а синий – о понижении.

Рисунок 7 – Общая схема метаболизма метаболитов, концентрационный уровень которых в плазме крови статистически значимо отличался у пациентов группы РА-*de novo* и контрольной группой

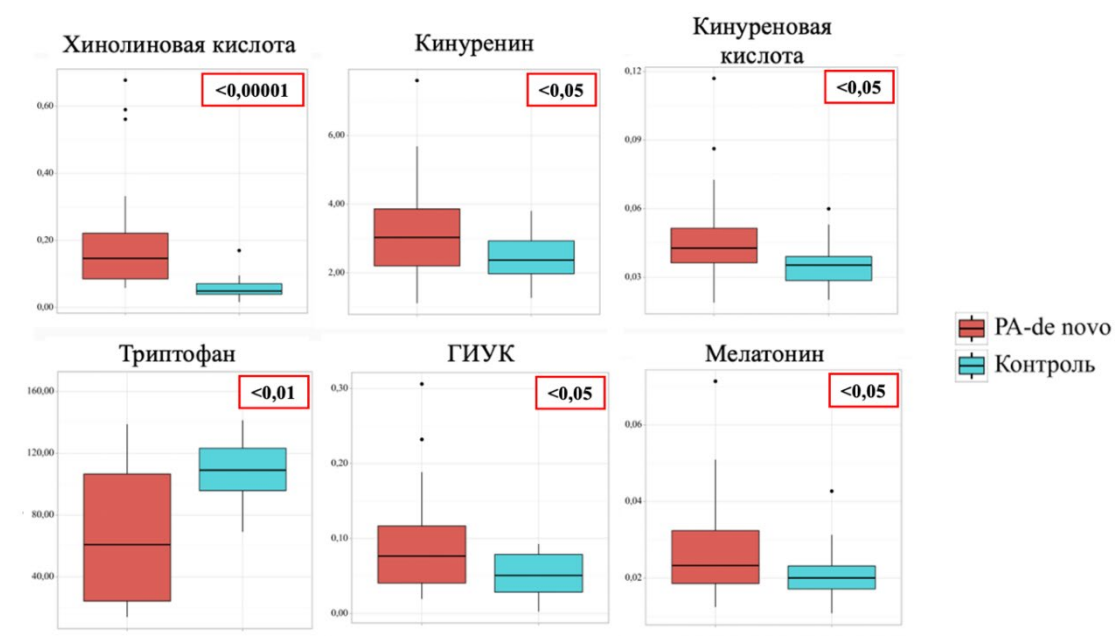
Таблица 9 – Сравнение концентрации ацилкарнитинов в группе PA-*de novo* и группе контроля

Метаболит	Условное обозначение	Направление изменения в группе PA- <i>de novo</i>	Уровень исследуемых метаболитов в группе PA- <i>de novo</i> , Ме [Q1; Q3]	Уровень исследуемых метаболитов в группе контроля, Ме [Q1; Q3]	p
<i>Короткоцепочечные ацилкарнитины</i>					
L-карнитин	C0	Повышение	44,24 [36,33; 58,24]	38,23 [33,03; 46,30]	<0,05
Ацетилкарнитин	C2	Понижение	0,16 [0,13; 0,26]	0,21 [0,17; 0,27]	<0,01
Пропионилкарнитин	C3	Понижение	0,43 [0,30; 0,64]	0,36 [0,26; 0,45]	<0,05
Бутирилкарнитин	C4	Повышение	0,17 [0,13; 0,25]	0,14 [0,10; 0,21]	<0,05
Глутарилкарнитин	C5-DC	Повышение	0,14 [0,10; 0,21]	0,11 [0,08; 0,16]	<0,05
<i>Среднецепочечные ацилкарнитины</i>					
Октаноилкарнитин	C8	Понижение	0,10 [0,07; 0,15]	0,14 [0,09; 0,20]	<0,05
Деканоилкарнитин	C10	Понижение	0,10 [0,06; 0,17]	0,13 [0,10; 0,22]	<0,01
Децеаноилкарнитин	C10-1	Понижение	0,02 [0,01; 0,03]	0,02 [0,01; 0,03]	<0,05
Декадиеноноилкарнитин	C10-2	Понижение	0,02 [0,01; 0,03]	0,02 [0,01; 0,03]	<0,05
Додеканоилкарнитин	C12	Понижение	0,03 [0,02; 0,04]	0,04 [0,03; 0,06]	<0,01
Тетрадецеаноил	C14-1	Понижение	0,04 [0,02; 0,06]	0,05 [0,04; 0,09]	<0,01
Тетрадекадиеноилкарнитин	C14-2	Понижение	0,04 [0,02; 0,08]	0,09 [0,06; 0,14]	<0,00001
3-Гидроксигексадекадиеноилкарнитин	C14-OH	Понижение	0,00 [0,00; 0,01]	0,01 [0,00; 0,01]	<0,001
	Medium-chain	Понижение	0,44 [0,30; 0,75]	0,58 [0,46; 0,87]	<0,001
	MCAC/SCAC	Понижение	0,05 [0,04; 0,06]	0,07 [0,05; 0,09]	<0,0001
<i>Длинноцепочечные ацилкарнитины</i>					
Гексадеканоилкарнитин	C16	Повышение	0,07 [0,06; 0,09]	0,06 [0,05; 0,08]	<0,01
Гексадецеаноилкарнитин	C16-1	Повышение	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,01]	<0,05
Октадецеаноилкарнитин	C18-1	Повышение	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,01]	<0,01
Линолеилкарнитин	C18-2	Повышение	0,04 [0,03; 0,05]	0,03 [0,02; 0,04]	<0,05
3-Гидроксиоктадецеаноилкарнитин	C18-OH	Повышение	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	<0,001
3-Гидроксиоктадецеаноилкарнитин	C18-1-OH	Повышение	0,00 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,00]	<0,00001
	Long-chain	Повышение	0,80 [0,62; 1,03]	0,68 [0,59; 0,81]	<0,05
	LCAC/SCAC	Повышение	0,09 [0,07; 0,11]	0,08 [0,06; 0,09]	<0,05
Примечание: Ме [Q1;Q3] – медиана и 1-й и 3-й квартили. LCAC/SCAC – отношение длинноцепочечных к короткоцепочечным ацилкарнитинам, long-chain – длинноцепочечные ацилкарнитины, MCAC/SCAC – отношение среднецепочечных к короткоцепочечным ацилкарнитинам, medium-chain – среднецепочечные ацилкарнитины					

Таблица 10 – Сравнение концентрации аминокислот в группе PA-*de novo* и группе контроля

Метаболит	Уровень исследуемых метаболитов в группе PA- <i>de novo</i> , Ме [Q1; Q3]	Уровень исследуемых метаболитов в группе контроля, Ме [Q1; Q3]	p
Триптофан	60,87 [24,34; 106,55]	109,04 [95,78; 123,20]	<0,01
ГИУК	0,07 [0,04; 0,11]	0,05 [0,04; 0,07]	<0,05
Мелатонин	0,02 [0,02; 0,03]	0,02 [0,02; 0,02]	<0,05
Хинолиновая кислота	0,14 [0,08; 0,23]	0,06 [0,05; 0,08]	<0,00001
Кинуреновая кислота	0,04 [0,04; 0,05]	0,04 [0,03; 0,04]	<0,05
Кинуренин	3,03 [2,21; 3,86]	2,37 [1,98; 2,94]	<0,05
Кинуреновая кислота / хинолиновая кислота	0,36 [0,16; 0,55]	0,67 [0,47; 0,92]	<0,00001
Ксантуреновая кислота	0,05 [0,04; 0,09]	0,13 [0,07; 0,21]	<0,001
Хинолиновая кислота / ГИУК	1,84 [1,06; 3,33]	1,09 [0,71; 2,15]	<0,01

Примечание: Ме [Q1;Q3] – медиана и 1-й и 3-й квартили.  
ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота



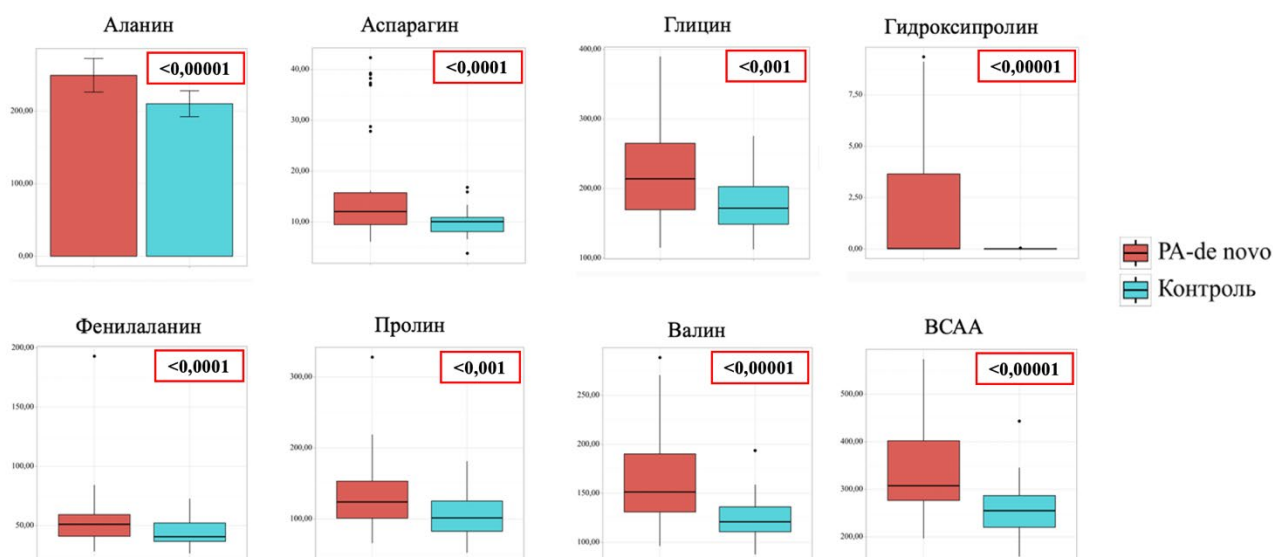
Примечание: ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота

Рисунок 8 – Сравнение концентрации аминокислот производных триптофана в группе PA-*de novo* и группе контроля

Были выявлены статистически значимые различия в концентрациях АК, связанных с ТКК (аспарагин, тирозин, фенилаланин), ВСАА (лейцин, изолейцин, валин), метаболизмом глутамата (пролин, гидроксипролин), метаболизмом холина (глицин) (Таблица 11, Рисунок 9).

Таблица 11 – Сравнение концентрации аминокислот в группе РА-*de novo* и группе контроля

Метаболит	Уровень исследуемых метаболитов в группе РА- <i>de novo</i> , Ме [Q1; Q3]	Уровень исследуемых метаболитов в группе контроля, Ме [Q1; Q3]	p
ВСАА	312,90 [277,77; 408,59]	248,62 [219,76; 286,58]	<0,00001
Валин	151,52 [131,12; 191,71]	118,92 [104,53; 134,05]	<0,00001
Сумма лейцин + изолейцин	162,46 [144,26; 219,56]	127,39 [108,62; 150,63]	<0,00001
Гидроксипролин	0,02 [0,01; 3,65]	0,01 [0,01; 0,02]	<0,00001
Аланин, m±SD	250,41±73,12	205,66±52,13	<0,00001
Фенилаланин	52,30 [40,97; 60,56]	39,29 [34,57; 46,87]	<0,0001
Глицин /Серин	1,66 [1,44; 1,95]	1,34 [1,16; 1,59]	<0,0001
Аспарагин	12,07 [9,52; 16,09]	9,42 [8,17; 11,15]	<0,0001
Пролин	124,79 [100,77; 155,08]	94,63 [80,66; 122,03]	<0,001
Тирозин	0,49 [0,30; 126,15]	0,29 [0,24; 0,38]	<0,001
Глицин	213,02 [170,31; 264,33]	176,73 [151,49; 197,37]	<0,001
Аспартат / аспарагин	1,01 [0,25; 1,57]	1,22 [0,88; 1,69]	<0,05
Примечание: Ме [Q1;Q3] – медиана и 1-й и 3-й квартили, m±SD – среднее значение и стандартное отклонение. ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью			



Примечание: ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью

Рисунок 9 – Сравнение концентрации аминокислот цикла трикарбоновых кислот, метаболизма глутамата, холина и ВСАА в группе PA-*de novo* и группе контроля

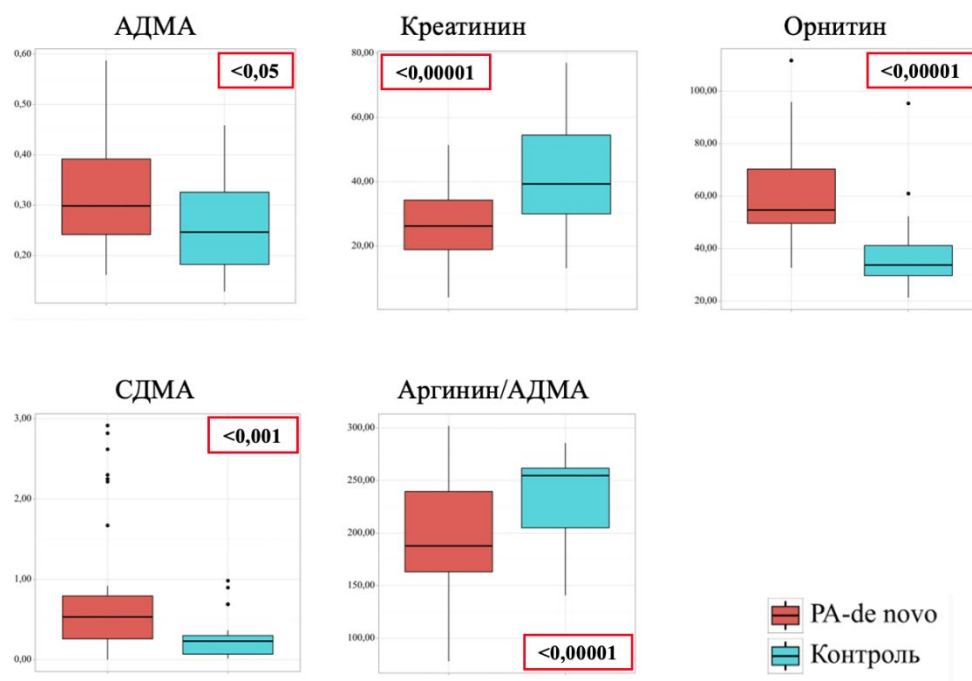
Были установлены статистически значимые отклонения в концентрациях метаболитов, относящихся к циклу оксида азота и мочевины. Так, наблюдались повышенные концентрации орнитина, асимметричного диметиларгинина (АДМА), симметричного диметиларгинина (СДМА). С другой стороны, отмечались пониженные концентрации креатинина и отношения аргинина к АДМА (Таблица 12, Рисунок 10).

Таблица 12 – Изменения концентрации метаболитов цикла NO и мочевины в плазме пациентов группы PA-*de novo* и группы контроля

Метаболит	Уровень исследуемых метаболитов в группе PA- <i>de novo</i> , Ме [Q1; Q3]	Уровень исследуемых метаболитов в группе контроля, Ме [Q1; Q3]	p
Орнитин	55,09 [49,91; 70,66]	34,20 [28,38; 42,36]	<0,00001
АДМА	0,30 [0,24; 0,39]	0,25 [0,18; 0,33]	<0,005
Аргинин / АДМА	188,03 [163,35; 233,08]	254,91 [208,22; 278,75]	<0,00001
Общий ДМА (СДМА)	0,53 [0,26; 0,79]	0,23 [0,07; 0,30]	<0,001
Креатинин	25,46 [18,35; 34,00]	37,44 [29,65; 47,20]	<0,00001

Примечание: Ме [Q1;Q3] – медиана и 1-й и 3-й квантили.

АДМА – асимметричный диметиларгинин, ДМА – диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин



Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин

Рисунок 10 – Сравнение концентраций аминокислот цикла оксида азота и мочевины в группе PA-*de novo* и группе контроля

Выявлены статистически значимые повышенные концентрационные уровни производных метаболизма холина (диметилглицин, бетаин, холин), нейротрансмиттера аденозина, водорастворимого витамина рибофлавина, а также пониженные – нуклеозида уридина (Таблица 13, Рисунок 11).

Таблица 13 – Изменения концентрации метаболитов цикла нейротрансмиттеров, водорастворимых витаминов и нуклеозидов

Метаболит	Уровень исследуемых метаболитов в группе PA- <i>de novo</i> , Me [Q1; Q3]	Уровень исследуемых метаболитов в группе контроля, Me [Q1; Q3]	p
Диметилглицин	0,23 [0,18; 0,30]	0,11 [0,09; 0,15]	<0,00001
Бетаин	30,39 [24,31; 40,41]	20,12 [15,41; 26,74]	<0,00001
Холин	12,49 [9,24; 15,43]	8,61 [7,29; 10,46]	<0,0001
Аденозин	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	<0,0001
Бетаин /Холин	3,07 [2,26; 3,93]	2,48 [1,55; 3,14]	<0,01
Уридин	0,91 [0,72; 1,29]	1,18 [0,90; 1,56]	<0,01

## Продолжение Таблицы 13

Рибофлавин	0,00 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,00]	<0,05
Примечание: Me [Q1;Q3] – медиана и 1-й и 3-й квартили.			

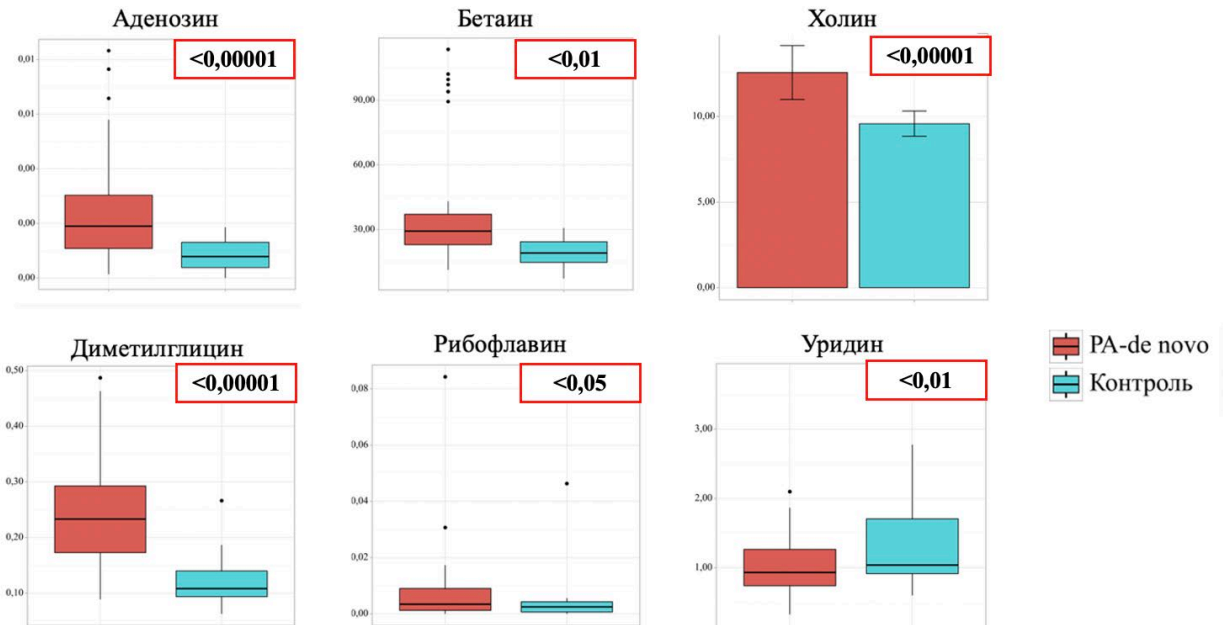


Рисунок 11 – Сравнение концентраций производных метаболизма холина и бетаина в группе PA-de novo и группе контроля

### 3.2. Мультивариантный анализ

В целях выявления панели метаболитов, способной предсказать наличие у пациента РА, нами был выполнен мультивариантный анализ. Для общего обзора данных применяли метод главных компонент (МГК), представляющий собой статистический метод понижения размерности многомерных данных (Рисунок 12). Данный метод частично разделяет исследуемые группы пациентов PA-de novo и группу контроля.



Таблица 14 – Предполагаемая панель наиболее значимых метаболитов, разделяющая пациентов группы РА-*de novo* и контрольной группы с соответствующими им координатами S-plot значениями VIP-score

Метаболит	p[1]	p(corr)[1]	VIP-score
<b>ВСАА</b>	0,380	0,440	3,965
<b>Аргинин / АДМА</b>	-0,343	-0,300	3,696
<b>Орнитин</b>	0,317	0,606	3,328
Глутамин	0,263	0,181	3,056
<b>Валин</b>	0,289	0,463	3,006
<b>Глицин</b>	0,309	0,409	2,676
<b>Лейцин + Изолейцин</b>	0,241	0,395	2,529
<b>Креатинин</b>	-0,268	-0,504	2,380
Лизин	0,217	0,333	2,148
Аланин	0,206	0,222	1,921
<b>Фенилаланин</b>	0,189	0,432	1,832
<b>Бетаин</b>	0,176	0,494	1,754
<b>Тирозин</b>	0,141	0,364	1,442
<b>С0 карнитин</b>	0,105	0,260	1,122
<b>Пролин</b>	0,131	0,159	1,097
Гистидин	-0,090	-0,195	1,046

Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью

Таким образом, на данном этапе исследования была выявлена предварительная панель метаболитов плазмы крови, ответственных за патогенез *de novo* РА. Данные метаболиты являются интермедиатами цикла мочевины и монооксида азота, АК, опосредованно связанными с циклом ТКК, свободного карнитина и бетаина.

### 3.3. Корреляционный анализ метаболитов с клинико-лабораторными показателями

Для установления метаболитов, которые коррелируют с клиническими и лабораторными показателями степени активности РА был проведен корреляционный анализ, в результате которого для группы пациентов РА-*de novo* были выявлены значимые корреляции между показателями активности, серопозитивности, признаками прогрессирования и метаболитами триптофана,

цикла оксида азота и мочевины, АК, цикла метионина и ацилкарнитинами (Таблицы 15-19 соответственно).

При корреляционном анализе в группе метаболитов триптофана была выявлена прямая корреляционная связь хинолиновой кислоты и отношения хинолиновой кислоты/ГИУК и обратная корреляционная связь триптофана с уровнем РФ, прямая корреляционная связь мелатонина и хинолиновой кислоты с активностью заболевания по DAS28-СРБ, и обратная корреляционная связь уровня триптофана, ксантуреновой кислоты, индолов с активностью заболевания по DAS28-СРБ, прямая корреляционная связь уровня мелатонина и хинолиновой кислоты, отношения хинолиновой кислоты/ГИУК и обратная корреляционная связь уровня триптофана, индолов и кинуренина/триптофана с уровнем АЦЦП, прямая корреляционная связь мелатонина и хинолиновой кислоты с уровнем СОЭ.

В рамках настоящего исследования были выявлены высокие уровни ВСАА (лейцин, валин, изолейцин), а также гистидина, входящих в уровень панели значимых метаболитов. При проведении корреляционного анализа была выявлена прямая корреляционная связь аспарагина, тирозина и ВСАА с уровнем СРБ, прямая корреляционная связь пролина и фенилаланина/тирозина и обратная корреляционная связь глутаминовой кислоты с уровнем РФ, прямая корреляционная связь аспарагина, аспарагиновой кислоты, тирозина, ВСАА и фенилаланина, пролина, отношения фенилаланин/тирозин, отношения глицин/серин, валин и обратная корреляционная связь глутаминовой кислоты, отношения глутаминовая кислота/глутамин с активностью заболевания по DAS28-СРБ, прямая корреляционная связь аспарагина, глутаминовой кислоты, фенилаланина, тирозина, ВСАА с уровнем АЦЦП и обратная корреляционная связь глутамин, глутаминовой кислоты, тирозина с уровнем АЦЦП, прямая корреляционная связь тирозина с функциональной недостаточностью, прямая корреляционная связь глутаминовой кислоты, фенилаланина, тирозина, ВСАА и фенилаланин/тирозина с уровнем СОЭ.

Таблица 15 – Значение коэффициентов корреляции Пирсона между клиническими и лабораторными показателями РА и метаболитами триптофана

Показатель	5-ОН триптофан	Индолуксусная к-та	Индолкарбок-альдегид	Кинурен. к-та	Кинуренин	Мелатонин	Хинол. к-та	Ксантуренин. к-та	Кинурен. к-та / Хинол. к-та	∑ индолов	Кин/Трп	Хинол. к-та / ГИУК
СРБ	-0,14	-0,04	-0,08	-0,18	-0,01	0,14	0,29	-0,22	-0,22	-0,16	-0,02	0,08
РФ	<b>-0,36</b>	-0,07	0,06	-0,25	0,10	0,08	<b>0,43</b>	-0,10	-0,16	-0,12	0,13	<b>0,42</b>
DAS28-СРБ	<b>-0,35</b>	-0,38	-0,31	-0,37	<b>-0,44</b>	<b>0,31</b>	<b>0,32</b>	<b>-0,32</b>	-0,16	<b>-0,45</b>	-0,35	0,08
АЦЦП	<b>-0,51</b>	-0,09	<b>-0,44</b>	-0,17	-0,05	<b>0,44</b>	<b>0,59</b>	-0,03	-0,31	-0,40	-0,30	<b>0,49</b>
Rg стадия	-0,01	0,12	0,03	-0,06	0,10	0,01	-0,07	0,04	-0,01	0,07	0,20	-0,05
ФК	0,11	0,17	0,03	0,10	0,06	-0,03	0,01	0,13	-0,01	0,14	0,07	-0,02
СОЭ	-0,14	0,20	<b>-0,34</b>	0,01	0,04	<b>0,36</b>	<b>0,57</b>	-0,07	<b>-0,42</b>	-0,04	0,13	0,03

Примечание: Значимые корреляции ( $p < 0,05$ ) при  $r_s \geq 0,3$  выделены полужирным красным шрифтом и возведены в черную рамку.  
 АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, ГИУК – гидроксииндолуксусная кислота, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия

Таблица 16 – Значение коэффициентов корреляции Пирсона между клиническими и лабораторными показателями РА и аминокислотами

Показатель	Ала	Асп	Асп	Глу	Глн	Гис	Фен	Про	ОН-Про	Тир	Цит	ВСА А	Фен/Тир	Гли/Сер	Глу/Глн	Асп/Асп	Лей+Иле	Вал
СРБ	0,15	0,25	<b>0,37</b>	0,12	0,11	<b>0,36</b>	0,21	0,10	0,23	<b>0,35</b>	<b>-0,26</b>	<b>0,36</b>	0,08	0,20	-0,24	-0,07	<b>0,26</b>	<b>0,39</b>
РФ	0,19	<b>0,28</b>	-0,05	<b>-0,30</b>	0,01	<b>-0,06</b>	-0,01	<b>0,31</b>	<b>0,07</b>	-0,04	<b>-0,27</b>	<b>0,29</b>	<b>0,33</b>	-0,35	-0,44	-0,14	0,14	<b>0,26</b>
DAS28-СРБ	0,25	<b>0,36</b>	<b>0,32</b>	<b>-0,34</b>	0,18	<b>0,38</b>	<b>0,32</b>	<b>0,30</b>	0,21	<b>0,32</b>	<b>-0,20</b>	<b>0,31</b>	<b>0,34</b>	<b>0,35</b>	<b>-0,34</b>	-0,20	<b>0,30</b>	<b>0,47</b>
АЦЦП	0,22	<b>0,43</b>	-0,05	<b>-0,45</b>	0,38	<b>0,31</b>	0,34	<b>0,41</b>	0,08	<b>-0,47</b>	-0,14	<b>0,31</b>	<b>0,58</b>	<b>0,30</b>	<b>-0,54</b>	-0,34	<b>0,28</b>	<b>0,45</b>
Rg стадия	0,23	0,06	0,29	<b>0,25</b>	0,15	<b>0,55</b>	<b>0,25</b>	0,23	<b>0,30</b>	<b>0,32</b>	-0,13	<b>0,42</b>	0,03	<b>0,32</b>	<b>-0,27</b>	-0,05	<b>0,36</b>	<b>0,42</b>
ФК	<b>0,34</b>	<b>0,35</b>	0,07	<b>-0,28</b>	<b>0,32</b>	<b>0,64</b>	<b>0,34</b>	<b>0,29</b>	<b>0,34</b>	<b>0,38</b>	-0,09	<b>0,45</b>	0,13	0,39	<b>-0,24</b>	-0,08	<b>0,46</b>	<b>0,46</b>
СОЭ	0,16	<b>0,25</b>	0,09	-0,01	0,33	<b>0,37</b>	<b>0,66</b>	0,42	<b>0,26</b>	<b>0,36</b>	-0,08	<b>0,37</b>	<b>0,66</b>	0,08	-0,07	-0,03	<b>0,35</b>	<b>0,38</b>

Примечание: Значимые корреляции ( $p < 0,05$ ) при  $r_s \geq 0,3$  выделены полужирным красным шрифтом и возведены в черную рамку.  
 АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия

Таблица 17 – Значение коэффициентов корреляции Пирсона между клиническими и лабораторными показателями РА и продуктами метаболизма метионина, холина

Показатель	Бетаин	Холин	ДМГ	Метионин	Бетаин/Холин	Аденозин	Уридин	Рибофлавин
СРБ	<b>0,22</b>	<b>0,31</b>	<b>0,45</b>	-0,05	0,07	<b>0,21</b>	-0,16	-0,09
РФ	0,18	-0,01	0,08	-0,01	<b>0,32</b>	<b>0,48</b>	-0,01	-0,17
DAS28-СРБ	0,17	<b>0,22</b>	<b>0,23</b>	-0,33	0,12	0,16	<b>-0,29</b>	-0,10
Rg стадия	-0,02	-0,06	-0,07	-0,18	-0,08	-0,08	0,09	0,09
ФК	-0,06	-0,05	-0,01	-0,15	-0,08	<b>-0,24</b>	0,07	0,03
АЦЦП	<b>0,62</b>	-0,10	0,08	-0,10	<b>0,67</b>	<b>0,43</b>	-0,02	-0,05
СОЭ	<b>0,32</b>	<b>0,40</b>	0,15	-0,13	-0,06	<b>0,36</b>	-0,11	0,09

Примечание: Значимые корреляции ( $p < 0,05$ ) при  $r \geq 0,3$  выделены полужирным красным шрифтом и возведены в черную рамку.

АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, ДМГ – диметилглицин, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия

Таблица 18 – Значение коэффициентов корреляции Пирсона между клиническими и лабораторными показателями РА и ацилкарнитинами

Показатель	C0	C5-DC	C5-ОН	C8-1	C10-1	C10-2	C12	C12-1	C14	C14-1	C14-2	C14-ОН	C16-1	C16-ОН	C18-1	C18-2	C18-ОН	C18-1-ОН
СРБ	-0,17	<b>0,40</b>	0,27	0,25	<b>0,37</b>	0,20	0,21	<b>0,40</b>	0,20	0,26	0,02	0,26	<b>0,33</b>	-0,24	0,11	-0,22	-0,26	0,22
РФ	-0,12	0,26	<b>0,37</b>	0,25	0,13	0,14	0,12	0,21	0,12	0,21	0,14	0,10	0,11	0,17	0,19	-0,09	<b>0,34</b>	-0,20
DAS28-СРБ	-0,19	<b>0,31</b>	0,24	0,17	<b>0,30</b>	-0,02	0,12	<b>0,35</b>	0,07	0,15	0,12	0,12	0,17	<b>-0,35</b>	-0,06	-0,30	<b>0,31</b>	-0,29
Rg стадия	-0,25	0,08	0,25	0,19	0,07	-0,12	-0,01	0,18	-0,01	0,05	0,08	0,02	-0,01	-0,23	-0,03	<b>-0,37</b>	<b>0,52</b>	<b>-0,49</b>
ФК	-0,17	<b>0,33</b>	0,14	0,30	0,30	<b>0,41</b>	0,25	0,30	0,13	0,29	0,22	0,30	0,27	0,18	0,19	-0,05	0,03	0,24
АЦЦП	0,12	0,12	-0,03	0,09	0,01	0,24	-0,04	0,02	0,18	-0,02	-0,04	0,07	0,10	0,20	0,03	0,25	<b>0,38</b>	-0,10
СОЭ	-0,07	0,17	0,26	-0,05	0,20	0,15	0,03	0,28	0,10	0,15	-0,01	-0,05	0,17	0,01	0,02	-0,11	0,14	-0,05

Примечание: Значимые корреляции ( $p < 0,05$ ) при  $r \geq 0,3$  выделены полужирным красным шрифтом и возведены в черную рамку.

АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия

Таблица 19 – Значение коэффициентов корреляции Пирсона между клиническими и лабораторными показателями РА и метаболитами оксида азота

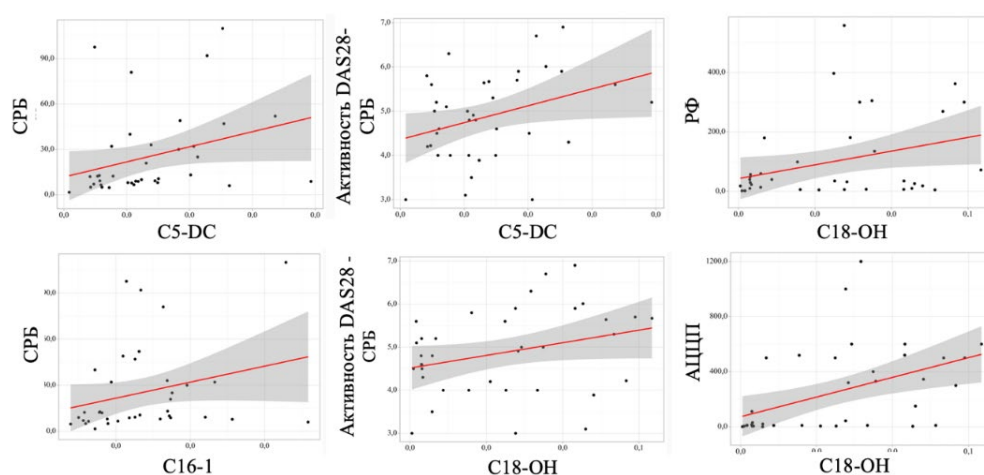
Показатель	АДМА	Аргинин	Креатинин	Орнитин	СДМА	АДМА /СДМА	Аргинин /АДМА
СРБ	-0,05	-0,05	0,06	-0,02	-0,20	<b>-0,34</b>	0,04
РФ	-0,25	-0,12	-0,15	-0,01	-0,13	0,13	0,16
DAS28-СРБ	-0,10	-0,03	0,01	0,03	0,28	<b>0,30</b>	0,14
АЦЦП	-0,17	-0,07	<b>-0,29</b>	0,12	0,12	0,01	0,10
Rg стадия	0,03	-0,03	-0,06	0,06	<b>0,40</b>	0,12	-0,15
ФК	0,06	-0,05	0,01	-0,01	<b>0,26</b>	-0,14	<b>-0,12</b>
СОЭ	-0,03	0,04	0,10	0,05	-0,01	-0,17	0,05

Примечание: Значимые корреляции ( $p < 0,05$ ) при  $r \geq 0,3$  выделены полужирным красным шрифтом и возведены в черную рамку.

АДМА – асимметричный диметиларгинин, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СДМА – симметричный диметиларгинин, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия

В группе продуктов метаболизма холина была выявлена прямая корреляционная связь холина и диметилглицина с уровнем СРБ, прямая корреляционная связь бетаина/холина и аденозина с уровнем РФ, обратная корреляционная связь метионина с активностью заболевания по DAS28-СРБ, прямая корреляционная связь аденозина, бетаин/холина и бетаина с уровнем АЦЦП и прямая корреляционная связь бетаина, холина и аденозина с уровнем СОЭ (Таблица 17).

При оценке взаимосвязи ацилкарнитинов с основными лабораторными показателями была выявлена прямая корреляционная связь среднецепочечных (С10-1, С12-1), длинноцепочечных (С16-1) и короткоцепочечных (С5-DC) ацилкарнитинов с уровнем СРБ, прямая корреляционная связь длинноцепочечных (С18-ОН) ацилкарнитинов с уровнем РФ, обратная корреляционная связь длинноцепочечных (С18-1-ОН, С18-2) и прямая длинноцепочечных (С18-ОН) ацилкарнитинов с рентгенологической стадией, прямая корреляционная связь короткоцепочечных (С5-DC) и среднецепочечных (С10-1, С12-1) ацилкарнитинов и обратная корреляционная связь длинноцепочечных (С16-ОН) ацилкарнитинов с активностью заболевания по DAS28-СРБ, прямая корреляционная связь длинноцепочечных (С18-ОН) ацилкарнитинов с АЦЦП (Таблица 18, Рисунок 14).



Примечание: АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка

Рисунок 14 – График регрессионной функции, характеризующий взаимосвязь концентрации ацилкарнитинов с СРБ, активностью DAS28-СРБ, АЦЦП и РФ

### **3.4. Сравнение метаболомного профиля пациентов с ревматоидным артритом, не получавших терапию, пациентов на базисной противоревматической терапии и пациентов на генно-инженерной биологической терапии**

На следующем этапе было проведено сравнение результатов метаболомного профилирования образцов крови пациентов в группах РА-*de novo*, РА-БПВП и РА-ГИБП для поиска маркеров, характерных для каждого из выбранных видов терапии.

#### **3.4.1. Унивариантный анализ результатов метаболомного профилирования**

Метаболиты, статистически значимо различавшиеся у пациентов группы РА-*de novo* и контрольной группы, были оценены также в оставшихся группах пациентов с РА. Так, при оценке концентрации ацилкарнитинов было выявлено, что в сравнении с группой РА-*de novo* уровень среднецепочечных ацилкарнитинов (С10-1, С14-1, С14-2) в группе РА-БПВП был статистически значимо выше, длинноцепочечного ацилкарнитина С18-1-ОН в группах РА-БПВП и РА-ГИБП – статистически значимо выше, короткоцепочечного ацилкарнитина С5-ОН в группе РА-ГИБП – статистически значимо ниже, длинноцепочечного ацилкарнитина С18-ОН в группе РА-БПВП – статистически значимо ниже. В группах РА-БПВП и РА-ГИБП в сравнении с РА-*de novo* отмечались более низкие уровни длинноцепочечного ацилкарнитина С16-1 и более высокие уровни среднецепочечного ацилкарнитина С8, однако данные тенденции не имели статистической значимости (Рисунок 15).

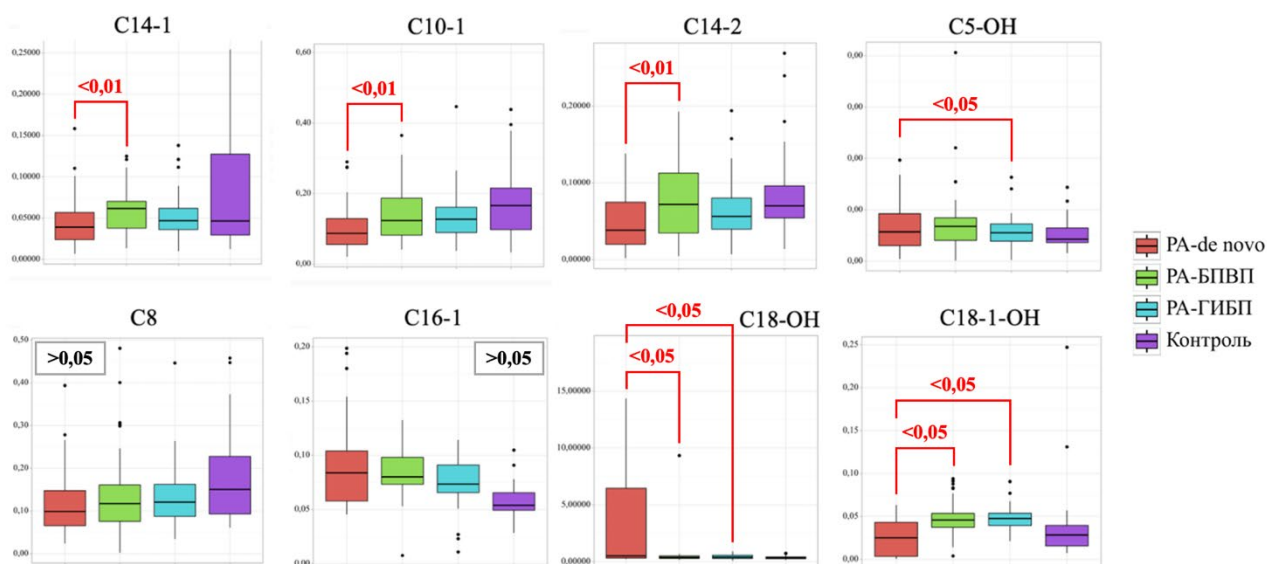


Рисунок 15 – Сравнение концентраций ацилкарнитинов в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и контрольной группе

При анализе ацилкарнитинов было установлено, что концентрация общего количества длинноцепочечных ацилкарнитинов статистически значимо выше во всех группах пациентов с РА в сравнении с группой контроля (Рисунок 16).

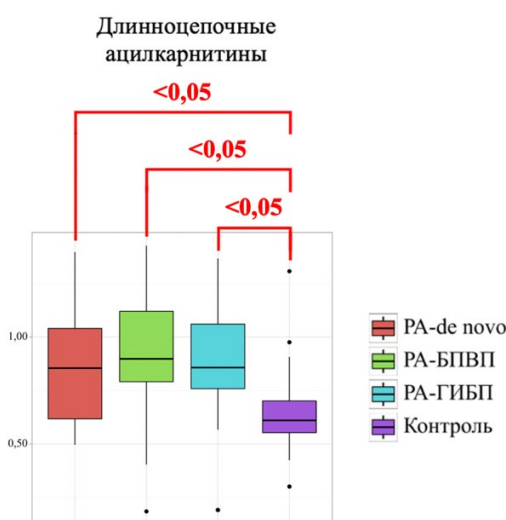
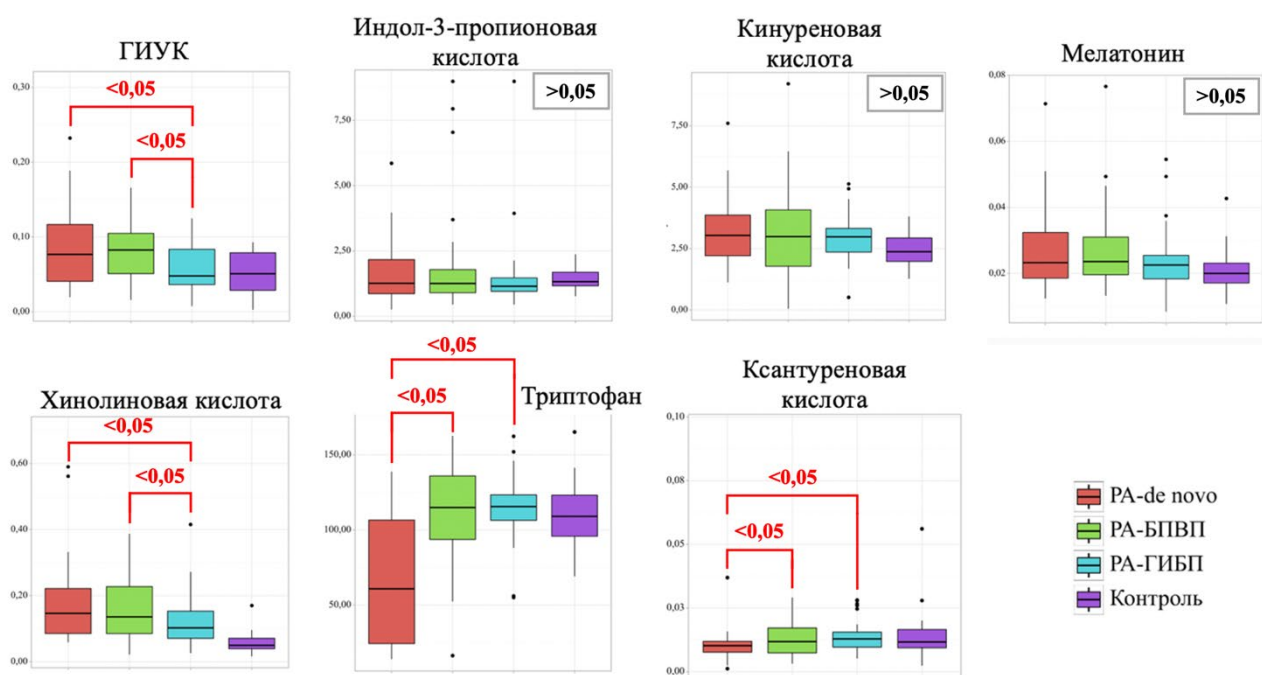


Рисунок 16 – Сравнение концентраций общего уровня длинноцепочечных ацилкарнитинов в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и группе контроля

При оценке уровня метаболитов триптофана было выявлено, что уровни ГИУК и хинолиновой кислоты статистически значимо ниже в группе РА-ГИБП в

сравнении с группой РА-БПВП и группой РА-*de novo*; уровни триптофана и ксантуреновой кислоты – статистически значимо выше в группе РА-ГИБП и РА-БПВП в сравнении с группой РА-*de novo*; кинуреновой кислоты / хинолиновой кислоты – статистически значимо выше в группе РА-ГИБП в сравнении с группой РА-БПВП. В сравнении с группой РА-*de novo* концентрация индол-3-пропионовой кислоты и мелатонина была ниже в группах РА-ГИБП и РА-БПВП, а кинуреновой кислоты – ниже в группе РА-ГИБП, однако данные тенденции не имели статистической значимости (Рисунок 17).



Примечание: ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота

Рисунок 17 – Сравнение концентраций метаболитов триптофана в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и контрольной группе

На этапе оценки уровня производных метаболизма холина было выявлено, что уровень диметилглицина статистически значимо ниже в группах пациентов РА-БПВП и РА-ГИБП в сравнении с группой РА-*de novo*; уровни холина и нейротрансмиттера аденозина – статически значимо ниже в группе РА-ГИБП в сравнении с группами РА-*de novo* и РА-БПВП; уровня нуклеозида уридина –

статистически значимо выше в группах пациентов РА-БПВП и РА-ГИБП в сравнении с группой РА-*de novo* (Рисунок 18).

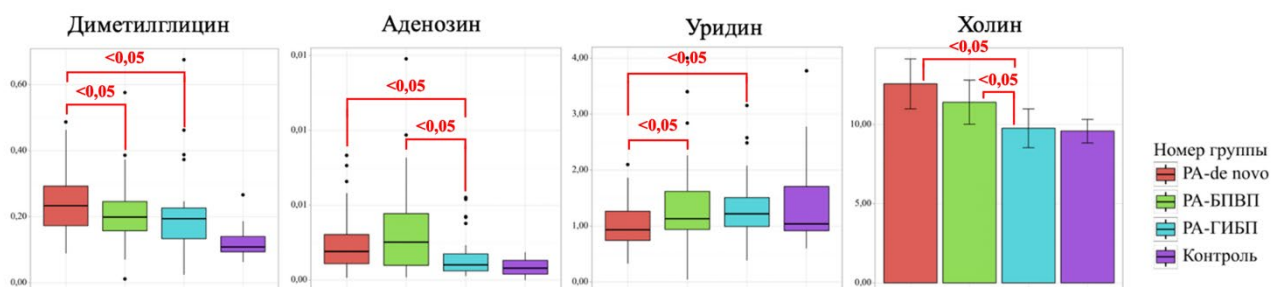
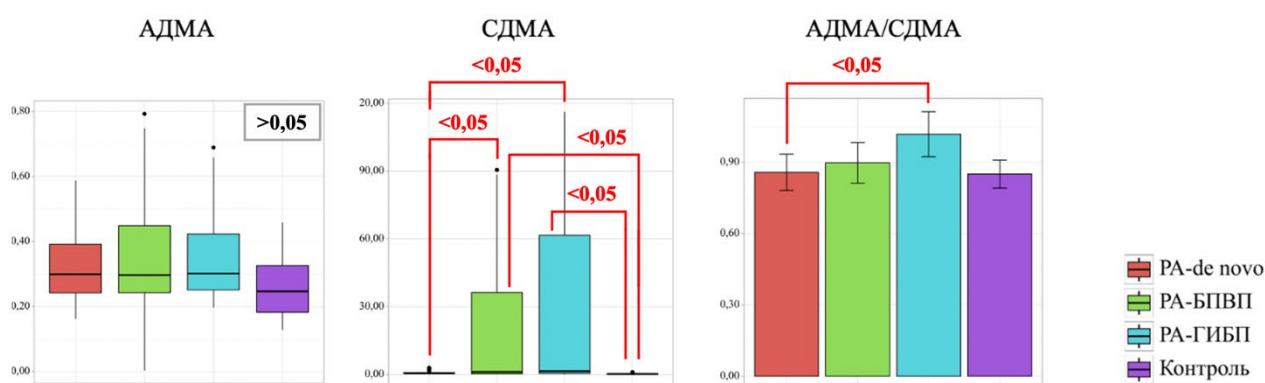


Рисунок 18 – Сравнение концентраций производных метаболизма холина, нейротрансмиттера аденозина и нуклеозида уридина в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и контрольной группе

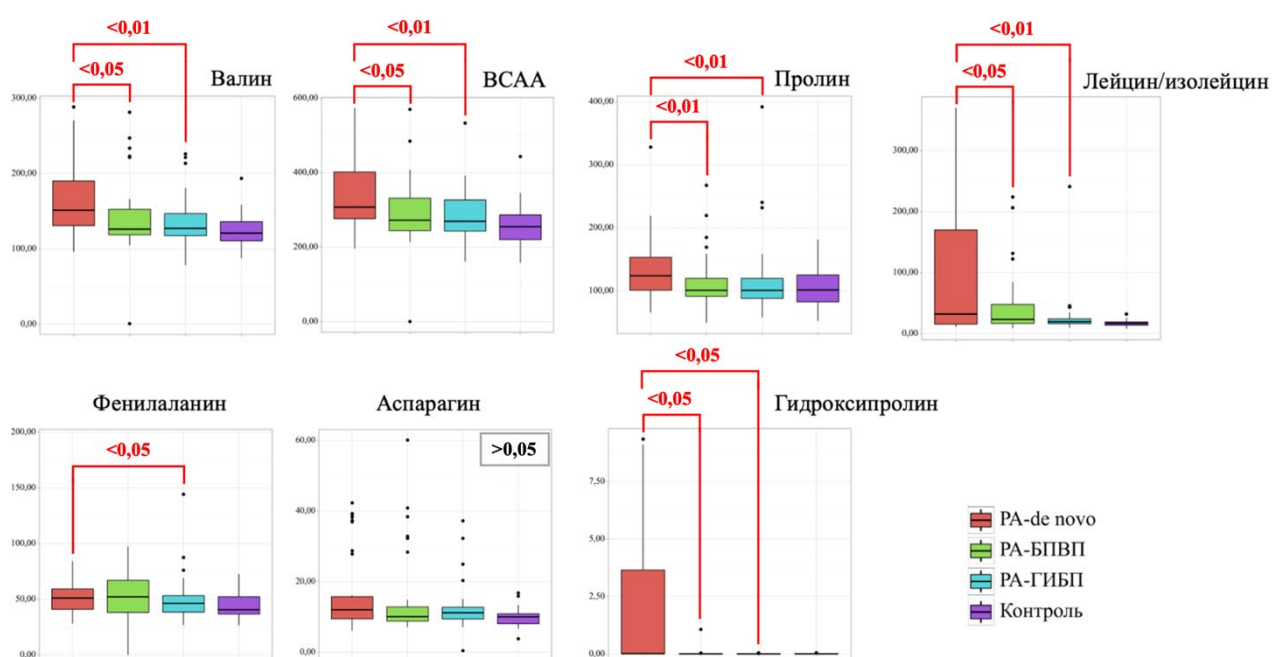
При анализе метаболитов монооксида азота и мочевины в группах пациентов с РА было выявлено, что соотношение АДМА/СДМА было статистически значимо выше в группе РА-ГИБП относительно группы РА-*de novo* и группы контроля; уровень СДМА – статистически значимо выше в группе РА-ГИБП и РА-БПВП относительно группы РА-*de novo* и группы контроля. Статистически значимого изменения уровня орнитина, АДМА, аргинин/АДМА, креатинина в группах РА-*de novo*, РА-БПВП и РА-ГИБП выявлено не было (Рисунок 19).



Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин

Рисунок 19 – Сравнение концентраций производных метаболитов оксида азота и мочевины в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и группе контроля

При оценке уровня метаболитов АК в группах пациентов с РА было выявлено, что уровни ВСАА, лейцина+изолейцина, валина, пролина и гидроксипролина статистически значимо ниже в группе РА-БПВП и РА-ГИБП относительно группы РА-*de novo*; а уровень фенилаланина – статистически значимо ниже в группе РА-ГИБП относительно группы РА-*de novo*. В сравнении с группой РА-*de novo* концентрация аспарагина была ниже, а уровни цитруллина и глутаминовой кислоты выше в группах РА-ГИБП и РА-БПВП, однако данные тенденции не имели статистической значимости (Рисунок 20).



Примечание: ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью

Рисунок 20 – Сравнение концентраций метаболитов производных аминокислот в группах РА-*de novo*, РА-БПВП, РА-ГИБП и группы контроля

На Рисунке 21 представлена схема метаболизма, объединяющая метаболиты, чей концентрационный уровень статистически значимо отличался у пациентов РА-*de novo*, пациентов РА-БПВП и пациентов РА-ГИБП.

На данном этапе проводилась оценка влияния различных видов терапии на метаболомный профиль. Так, различия преимущественно наблюдались в уровнях метаболитов, относящихся к катаболизму триптофана, длинноцепочечных и среднецепочечных ацилкарнитинов и аминокислотного метаболизма (Таблица 20).



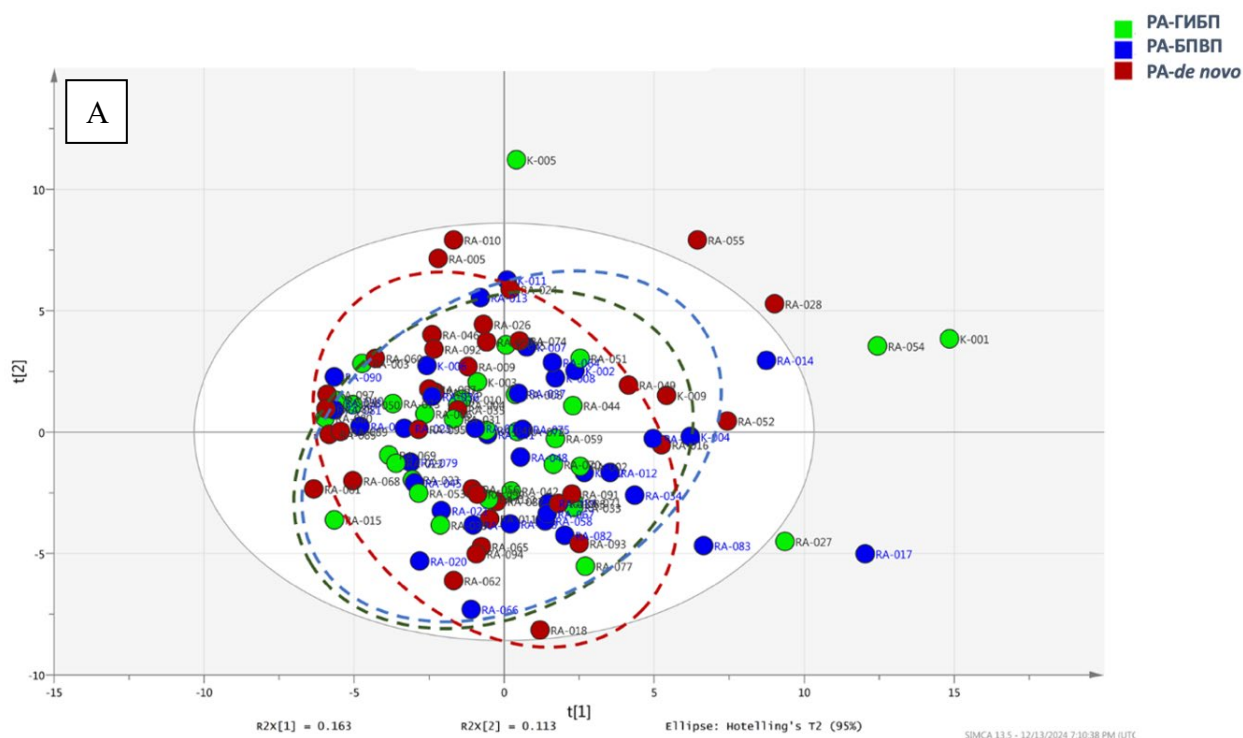
Таблица 20 – Результат сравнения метаболомного профиля пациентов групп РА-*de novo*, РА-БПВБ, РА-ГИБП

Метаболит	p	РА- <i>de novo</i> vs РА-БПВБ		РА-ГИБП vs РА-БПВБ		РА-ГИБП vs РА- <i>de novo</i>	
		p	Направление изменения в группе РА-БПВБ	p	Направление изменения в группе РА-ГИБП	p	Направление изменения в группе РА-ГИБП
АДМА / СДМА	<0,01	–	–	–	–	<0,05	повышение
Пролин	<0,01	–	понижение	–	–	<0,01	понижение
Гидроксипролин	<0,05	<0,05	понижение	–	–	<0,05	понижение
Фенилаланин	<0,05	–	–	–	–	<0,05	понижение
Лейцин + Изолейцин	<0,01	<0,05	понижение	–	–	<0,01	понижение
Валин	<0,001	<0,05	понижение	–	–	<0,01	понижение
ВСАА	<0,001	<0,05	понижение	–	–	<0,01	понижение
С5-ОН	<0,05	–	–	–	–	<0,05	понижение
С-10-1	<0,01	<0,01	повышение	–	–	–	–
С14-2	<0,05	<0,01	повышение	–	–	–	–
С14-1	<0,01	<0,01	повышение	–	–	–	–
С18-ОН	<0,05	<0,05	понижение	–	–	–	–
С18-1-ОН	<0,05	<0,05	повышение	–	–	<0,05	повышение
Триптофан	<0,05	<0,05	повышение	–	–	<0,05	повышение
ГИУК	<0,05	–	–	<0,05	понижение	<0,05	понижение
Хинолиновая кислота	<0,05	–	–	<0,05	понижение	<0,05	понижение
Ксантуреновая к-та	<0,001	–	повышение	<0,05	–	<0,05	повышение
Кинуреновая кислота / Хинолиновая кислота	<0,05	–	–	<0,05	повышение	–	–
Холин	<0,05	–	–	<0,05	понижение	<0,05	понижение
Диметилглицин	<0,01	<0,05	понижение	–	–	<0,01	понижение
Аденозин	<0,01	–	–	<0,05	понижение	<0,01	понижение
Уридин	<0,01	–	повышение	<0,05	–	<0,01	повышение

Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота, СДМА – симметричный диметиларгинин, ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью

### 3.4.2. Мультивариантный анализ результатов метаболомного профилирования

Данные метаболомного профиля всех групп пациентов с РА проанализированы методом МГК и методом OPLS-DA (Рисунок 22А и 22Б соответственно). В случае, если метод МГК не позволил разделить рассматриваемые группы пациентов, методом OPLS-DA удалось установить набор метаболитов, который наилучшим образом классифицировал пациентов с РА по рассматриваемым группам (Таблица 21).



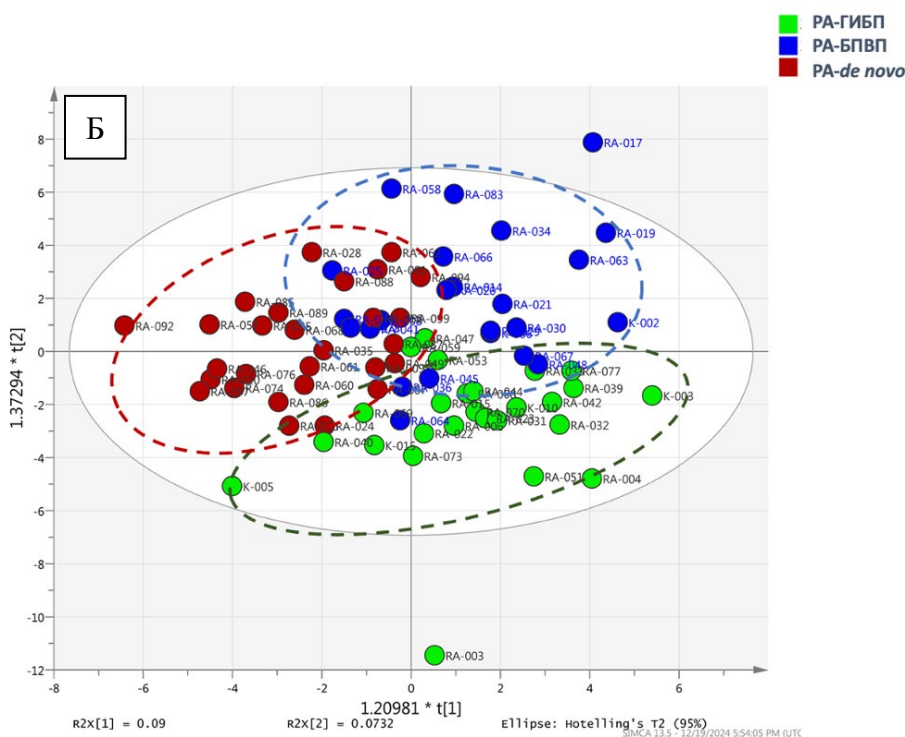


Рисунок 22 – А: график МГК для сравнения трех групп пациентов с РА, принимающих участие в эксперименте; Б: график OPLS-DA для сравнения трех групп пациентов с РА

Таблица 21 – Метаболиты, наиболее значимо характеризующие различия в метаболомном профиле всех групп пациентов с РА

Метаболит	VIP-score
<b>Ксантуреновая кислота</b>	1,93
<b>Валин</b>	1,83
<b>ВСАА</b>	1,77
<b>Уридин</b>	1,76
<b>Хинолиновая кислота/ГИУК</b>	1,73
<b>ГИУК</b>	1,69
<b>Хинолиновая кислота</b>	1,65
<b>С16-1 ацилкарнитин</b>	1,64
<b>Индол-3-пропионовая кислота</b>	1,64
<b>Лейцин + Изолейцин</b>	1,57
<b>С18-1-ОН ацилкарнитин</b>	1,55
<b>Карнозин</b>	1,54
<b>Серин</b>	1,46
<b>Треонин</b>	1,43
<b>С18-2 ацилкарнитин</b>	1,39
<b>С5-ОН ацилкарнитин</b>	1,39
<b>Кинуреновая кислота</b>	1,38
<b>Индол-3-уксусная кислота</b>	1,29

## Продолжение Таблицы 21

<b>Сумма длинноцепочечных ацилкарнитинов</b>	1,29
Индол-3-карбоксальдегид	1,25
C6-DC карнитин	1,25
Глицин	1,24
АДМА	1,21
Серотонин	1,14
C5-1 ацилкарнитин	1,09
C16 ацилкарнитин	1,08
Метилгистидин	1,07
LCAC/SCAC	1,05
Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, ГИУК – гидроксииндолуксусная кислота, ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью, LCAC/SCAC – отношение длинноцепочечных к короткоцепочечным ацилкарнитинам	

### 3.5. Установление метаболитов, характеризующих высокую вероятность отсутствия у пациента ответа на базисную терапию

У 21 из 37 пациентов из группы RA-*de novo* после назначения терапии БПВП (метотрексат) через 6 месяцев была проведена оценка ее эффективности путем оценки клинического состояния, активности заболевания по шкале DAS28-СРБ, лабораторных показателей островоспалительного ответа. Характеристика пациентов до и после терапии представлена в Таблице 22.

Таблица 22 – Характеристика пациентов, не ответивших на терапию БПВП через 6 месяцев

Показатель	До терапии		Через 6 месяцев терапии БПВП		P
	«Ответчики» (1)	«Не-ответчики» (2)	«Ответчики» (3)	«Не-ответчики» (4)	
Возраст, лет, m±SD	56,27±16,58	56,35±16,51	56,27±16,58	54,91±11,03	0,875
Пол (мужской), n (%)	4 (26,7)	4 (23,5)	5 (22,7)	3 (15,0)	0,851
Активность DAS28-СРБ, Me [IQR]	4,8 [4,40-5,45]	3,99 [3,32-4,98]	2,60 [2,50-3,00]	5,15 [4,47-5,87]	p <sub>1-3</sub> = 0,001 p <sub>2-4</sub> = 0,001 p <sub>3-4</sub> = 0,001 p <sub>1-2</sub> = 0,006

## Продолжение Таблицы 22

Rg-стадия (0-4), Me [IQR]	2,00 [1,50-2,00]	2,00 [2,00-3,00]	2,00 [1,00-2,00]	2,50 [2,00-3,00]	p <sub>1-3</sub> = 0,856 p <sub>2-4</sub> = 0,614 p <sub>3-4</sub> = 0,002 p <sub>1-2</sub> = 0,008
ФК (1-4), Me [IQR]	2,00 [1,00-2,00]	2,00 [2,00-3,00]	1,00 [1,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]	p <sub>1-3</sub> = 0,727 p <sub>2-4</sub> = 0,255 p <sub>1-2</sub> = 0,003 p <sub>3-4</sub> = 0,001
СРБ, мг/л Me [IQR]	10,00 [8,30-41,00]	9,35 [3,95-25,67]	2,00 [1,10-3,00]	11,00 [7,88-18,00]	p <sub>1-3</sub> = 0,001 p <sub>3-4</sub> = 0,001
СОЭ, мм/час Me [IQR]	30,00 [18,50-40,00]	7,00 [5,00-10,00]	16,50 [10,25-29,00]	20,50 [10,75-36,00]	p <sub>1-3</sub> = 0,001 p <sub>3-4</sub> = 0,001
РФ+, абс. (%)	10 (66,7)	16 (76,2)	–	–	p <sub>1-2</sub> = 0,709
АЦЦП+, абс. (%)	8 (53,3)	16 (76,2)	–	–	p <sub>1-2</sub> = 0,175
Примечание: Me [IQR] – медиана и интерквартильных размах, m±SD – среднее значение и стандартное отклонение. АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ФК – функциональный класс, DAS28-СРБ – индекс активности РА по 28 суставам и концентрации С-реактивного белка, Rg стадия – рентгенологическая стадия					

Исходно пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту, полу, лабораторной активности заболевания. Активность по DAS28-СРБ была статистически значимо выше в группе пациентов, ответивших в последующем на базисную терапию. Группы были сопоставимы по рентгенологической стадии и ФК, однако в группе пациентов «не-ответчиков» была выявлена преимущественно 3 и 4 рентгенологическая стадия и II и III ФК. В группе «не-ответчиков» количество серопозитивных пациентов по РФ и АЦЦП было больше, а уровень АЦЦП был статистически значимо выше относительно группы «не-ответчиков». При сравнении пациентов данных групп в динамике через 6 месяцев удалось выявить, что уровень активности по DAS28-СРБ был статистически значимо выше в группе «не-ответчиков», а при оценке рентгенологической стадии и ФК была выявлена тенденция к прогрессированию ФК и рентгенологической стадии в группе больных, не ответивших на лечение [166].

С помощью метода главных компонент с достоверной оценкой показателя VIP-score (variable importance in projection) нам удалось создать метаболомную панель предикторов потенциального отсутствия ответа на базисную противоревматическую терапию, представленную аминокислотами, ацилкарнитинами, метаболитами производных холина, триптофана. (Рисунок 23). VIP-score – показатель важности переменной в проекции, количественная мера, отражающая вклад каждой независимой переменной в объяснение общей дисперсии зависимой переменной в многомерных статистических моделях. VIP-score рассчитывается на основе значимости коэффициентов регрессии и доли объясненной дисперсии, позволяя идентифицировать наиболее информативные переменные для построения прогностических моделей и интерпретации данных. Значения VIP-score выше 1 обычно указывают на высокую значимость переменной, тогда как значения ниже 0,5 могут свидетельствовать о ее незначительности в контексте модели [167]. Метаболомные маркеры, характеризующие отсутствие ответа на базисную противоревматическую терапию представлены в Таблице 23.



Таблица 23 – Метаболомные маркеры, характеризующие отсутствие ответа на базисную противоревматическую терапию

Метаболиты	Направление изменения в группе без ответа	VIP-score
<i>Метаболизм аминокислот</i>		
Аспартат	повышение	1,79
Аспарагин	понижение	0,69
Аспартат / аспарагин	повышение	1,42
Глутамат	повышение	1,67
Глутамат / глутамин	повышение	1,51
Фенилаланин / тирозин	повышение	1,75
<i>Метаболизм ацилкарнитинов</i>		
C6-DC	понижение	0,56
C8 карнитин	понижение	0,96
C8-1 карнитин	<b>понижение</b>	1,25
C10-1 карнитин	<b>понижение</b>	0,96
<i>Метаболизм холина</i>		
Бетаин	понижение	1,03
ДМГ	<b>повышение</b>	1,73
Бетаин / холин	понижение	0,87
ТМАО	повышение	1,26
<i>Метаболизм триптофана</i>		
Триптофан	<b>понижение</b>	0,99
Хинолиновая кислота / ГИУК	понижение	1,14
Хинолиновая кислота	<b>повышение</b>	2,01
Кинуреновая кислота/ Хинолиновая кислота	<b>понижение</b>	1,56
Серотонин	повышение	1,45
<i>Другие метаболиты</i>		
АДМА	повышение	1,28
Креатинин	повышение	1,72
Уридин	<b>понижение</b>	1,96
Рибофлавин	понижение	0,79
Цитидин	понижение	1,08
Карнозин	повышение	1,93
Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота, ДМГ – диметилглицин, ТМАО – триметиламинооксид		

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основной проблемой в лечении РА является поиск наиболее подходящего способа оценки эффективности терапии и соответствующих подходов к достижению скорейшей клинической ремиссии у пациента. Несмотря на значительные успехи в области противоревматической терапии, зачастую лечение не способствует в полной мере замедлению прогрессирования заболевания. Принимая во внимание, что порядка 1/3 пациентов не достигают цели лечения, перспективным представляется поиск новых биомаркеров, которые потенциально смогут прогнозировать у пациента наличие или отсутствие ответа на лекарственный препарат, что подчеркивает важность персонифицированного подхода по ведению данной категории больных.

С появлением новых «омиксных» технологий в медицине произошли изменения во взглядах на патогенез РА. Подробное изучение изменений метаболомного статуса может быть полезным для выявления маркеров диагностики заболевания, определения возможных терапевтических мишеней ответственных за оценку эффективности терапии РА. Метаболомный анализ открывает новые горизонты в понимании патофизиологических процессов, связанных с развитием и лечением РА, позволяя взглянуть на молекулярные механизмы этих явлений. Выявленные с помощью метаболомного анализа биомаркеры могут представлять собой молекулы, ответственные в организме за патофизиологические пути, будучи вовлеченными в процесс развития заболевания. Так, определенные закономерности в изменениях концентрационных уровней метаболитов и, в целом, в метаболических путях у пациентов с РА могут свидетельствовать о различных механизмах активации иммунных клеток в рамках заболевания, что может оказывать влияние на исходы лечения, поэтому метаболомный анализ позволяет разработать новые терапевтические мишени и маркеры ответа на терапию. В последние годы активное исследование иммуннопатогенеза РА привело к пониманию взаимосвязи заболевания с

нарушением регуляции в иммунных клетках, в особенности в Т-клетках и макрофагах [136, 168].

В связи с высокой гетерогенностью заболевания и одновременно сложностью в валидации индивидуальных биомаркеров, на сегодняшний день не существует метаболомных маркеров, которые бы применялись для диагностики и контроля эффективности терапии РА [169]. В то же время, создание специфичных маркерных панелей позволит провести раннюю диагностику РА, а также предсказать индивидуальный ответ на тот или иной вид противоревматической терапии. Выявленные с помощью метаболомного анализа маркеры потенциально являются отражением механизмов иммунной активации клеток и процессов системного воспаления в рамках РА.

В результате проведенного исследования при сравнении пациентов с РА и здоровых добровольцев были выявлены различия концентрационных уровней коротко-, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов; АК: аспарагина, тирозина, фенилаланина, лейцина, изолейцина, валина, метаболизма глутамата (пролин, гидроксипролин), метаболизма холина (глицин), производных цикла оксида азота и мочевины: орнитина, АДМА, СДМА, метаболитов триптофанового цикла (триптофан, кинуренина, хинолиновая кислота, кинуреновая кислота, ксантуреновая кислота) и серотонинового пути (ГИУК, мелатонин); а также концентрационных уровней производных метаболизма холина (диметилглицин, бетаин, холин), нейротрансмиттера аденозина, водорастворимого витамина рибофлавина и нуклеозида уридина.

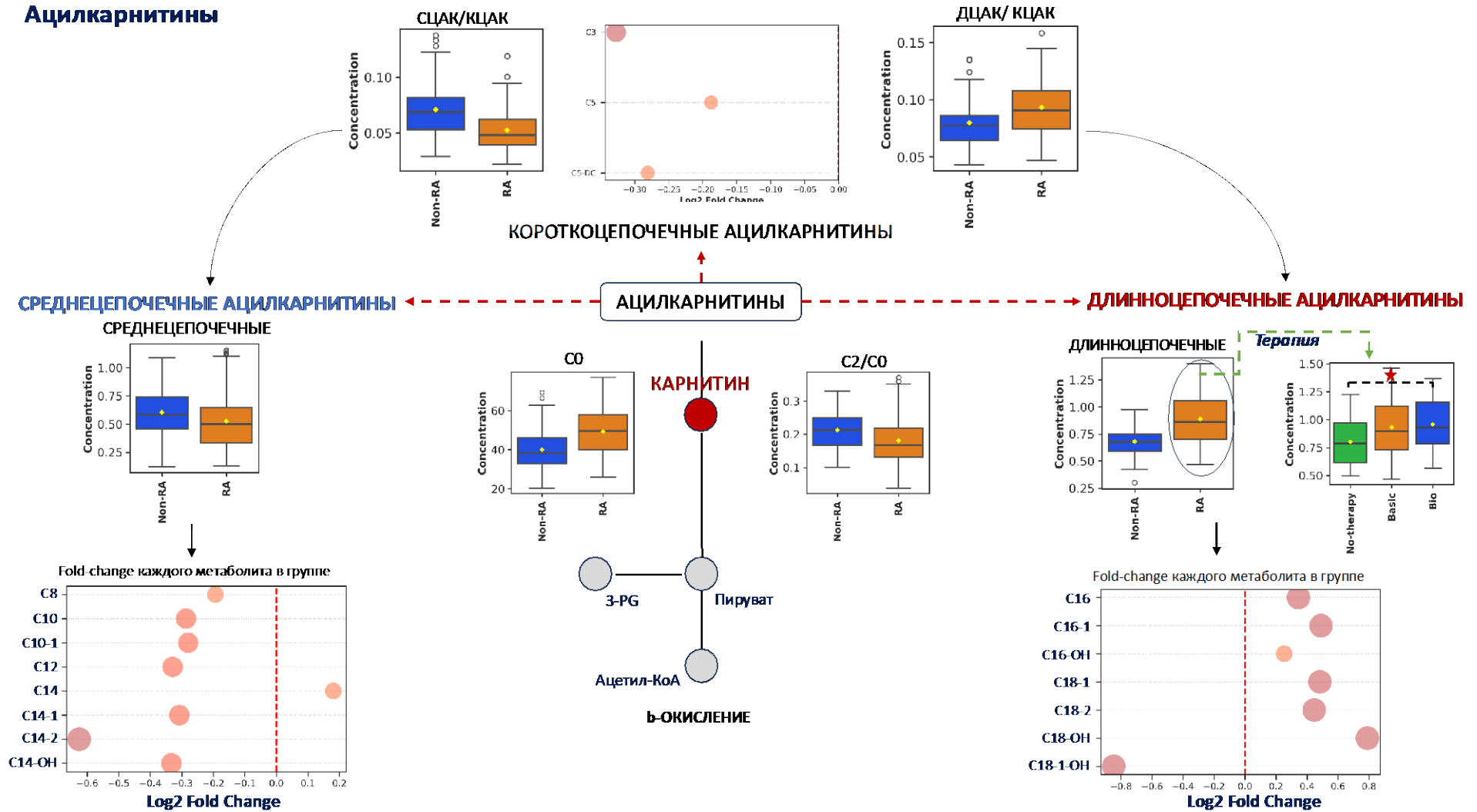
При анализе метаболомного профиля пациентов, находящихся на разных этапах лечения, были выявлены изменения в концентрациях в плазме крови АК валина, лейцина/изолейцина, пролина, фенилаланина, гидроксипролина; аспарагина, тирозина; метаболитов производных путей катаболизма триптофана (триптофана, хинолиновой кислоты, кинуреновой и ксантуреновой кислоты, ГИУК), холина, диметилглицина, аденозина, уридина, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов.

### *Средне- и длинноцепочечные ацилкарнитины*

Метаболические нарушения при РА включают изменения в липидном обмене. Ацилкарнитины – это производные карнитина, которые транспортируют ЖК в митохондрии. Дисбаланс в концентрационных уровнях ацилкарнитинов свидетельствует о нарушении окисления ЖК и митохондриальной дисфункции, что характеризует системный воспалительный процесс. В работе Beyer K. и соавт. уровни длинноцепочечных ацилкарнитинов C16-1 и C18-1 были выше у пациентов с активным РА и парадонтитом в сравнении с концентрацией данного метаболита у пациентов в ремиссии [170]. В исследовании Nur B. и соавт. было выявлено, что повышенный уровень длинноцепочечных ацилкарнитинов, наоборот, коррелировал с низкой активностью заболевания по DAS28 у пациентов с РА [161]. В проведенном в рамках диссертационной работы эксперименте были выявлены статистически значимые повышения уровней длинноцепочечных ацилкарнитинов у пациентов с РА, не получавших лечение на момент включения в исследование, в сравнении со здоровыми добровольцами, а также их суммарно высокий уровень у всех пациентов с РА (Рисунок 24). McCoin C.S. и соавт. предположили, что повышенные уровни длинноцепочечных ацилкарнитинов в ряде патологических состояний (тяжелая липотоксичность или нарушение окисления длинноцепочечных ЖК) могут вызывать воспаление и стресс мышечных клеток [171]. Кроме того, повышение уровней длинноцепочечных ацилкарнитинов приводит к нарушению целостности клеточных мембран и тем самым сокращает возможность клеток поддерживать гомеостаз, что может способствовать появлению аритмии, миопатии или некроза [172, 173]. Также в ряде работ установили взаимосвязь повышенного уровня ацилкарнитинов с лизисом эритроцитов [171]. В соответствии с Рисунком 25, в условиях *in vivo* при физиологических концентрациях длинноцепочечные ацилкарнитины взаимодействуют с клеточными мембранами, воздействуя на рецепторы или рецепторные комплексы (левая схема). В условиях повышенной выработки длинноцепочечных ацилкарнитинов происходит разрушение клеточной мембраны

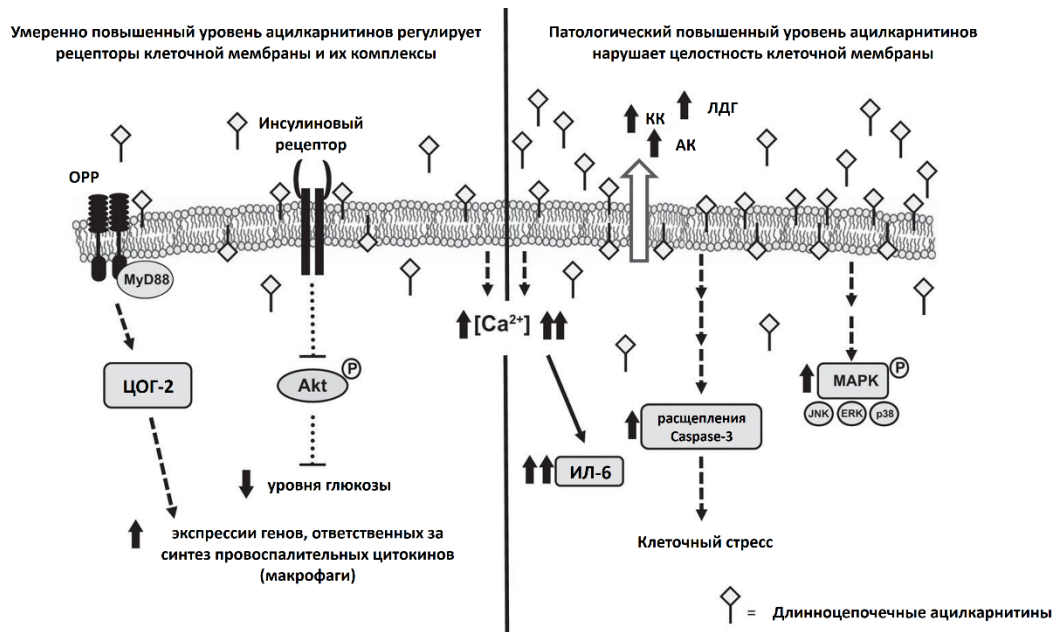
и увеличивается проницаемость клеток, что приводит к патологическим состояниям (правая схема).

**Ацилкарнитины**



Примечание: ДЦАК – длинноцепочечные ацилкарнитины, КЦАК – короткоцепочечные ацилкарнитины, СЦАК – среднецепочечные ацилкарнитины

Рисунок 24 – Изменения в уровнях ацилкарнитинов



Примечание: АК – аденилаткиназа, ИЛ-6 – интерлейкин 6, КК – креатинкиназа, ЛДГ – лактатдегидрогеназа, ОРР – образ-распознающие рецепторы, ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2

Рисунок 25 – Предполагаемая схема взаимодействия длинноцепочечных ацилкарнитинов с клеточными мембранами [адаптировано из 171]

Однако, при рассмотрении отдельного пула длинноцепочечных ацилкарнитинов нами была выявлена прямая корреляционная взаимосвязь длинноцепочечного ацилкарнитина С18-ОН с активностью заболевания по DAS28-СРБ, РФ и АЦЦП. При оценке данного ацилкарнитина в группах пациентов, находящихся на противоревматической терапии, было выявлено, что его уровень статистически значимо ниже, чем у пациентов, не получающих терапию РА. Кроме того, у пациентов с *de novo* РА была выявлена прямая корреляционная связь ацилкарнитина С16-1 с уровнем СРБ. При этом его концентрация в группах РА-БПВП и РА-ГИБП была статистически незначимо ниже в сравнении с группой РА-*de novo*. Все это позволяет предположить, что высокий уровень длинноцепочечных ацилкарнитинов в плазме крови свидетельствует о сохраняющемся сдвиге метаболического ремоделирования в сторону гликолиза и ухудшению компенсаторных механизмов клетки. Принимая во внимание тот факт, что высокие уровни длинноцепочечных ацилкарнитинов наблюдались также в группах пациентов с РА, получавших базисную и генно-инженерную биологическую терапию, можно предположить о вероятном негативном воздействии

медикаментозного лечения на клеточные мембраны или отсутствии влияния противоревматической терапии напрямую на процесс ОЖК. Однако данная гипотеза требует дополнительного подтверждения в последующих *in vitro* и *in vivo* экспериментах. Недостаточный метаболизм ЖК в митохондриях приводит к снижению скорости генерации АТФ и постоянному дефициту энергии [95]. С другой стороны, основываясь на результатах настоящего исследования, отдельные средне- и длинноцепочечные ацилкарнитины могут быть рассмотрены в качестве биомаркеров РА, а отдельные метаболиты (С18-ОН и С16-1) – в качестве маркеров эффективности терапии РА. Длинноцепочечные ацилкарнитины, согласно результатам научных исследований, активно принимают участие в системном воспалении, активируя провоспалительные цитокины [95].

В отличие от длинноцепочечных среднецепочечные ацилкарнитины были статистически значимо ниже в группе пациентов с РА, не получавших противоревматическую терапию, в сравнении с контрольной группой. Данный неоднозначный факт может быть интерпретирован различными путями образования ацилкарнитинов, зависящими от длины цепи ЖК. Обладающий высокой аффинностью к среднецепочечным ацилкарнителям пероксисомальный фермент карнитин-О-октаноилтрансфераза преимущественно отвечает за синтез среднецепочечных ацилкарнитинов. Иммунометаболические нарушения при РА могут воздействовать на активность карнитин-О-октаноилтрансферазы, тем самым вызывая снижение концентрации среднецепочечных ацилкарнитинов в плазме, что, согласно данным литературы, описано у пациентов со средиземноморской лихорадкой, целиакией и ВЗК [95]. Основываясь на работах зарубежных авторов, представляется возможным рассматривать данный иммунометаболический процесс, лежащий в основе упомянутых системных воспалительных заболеваний, в качестве возможного и для РА. Кроме того, уровень среднецепочечных ацилкарнитинов (С10-1, С14-1, С14-2) у пациентов группы РА-БПВП был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля, что может свидетельствовать об эффективности базисной терапии РА.

Таким образом, длинноцепочечные ацилкарнитины отражают активное *системное воспаление* при РА, это подтверждается как данными настоящего исследования, так и другими научными работами.

#### *Метаболизм триптофана*

Доказано, что изменения метаболитов производных триптофана встречается при ряде хронических воспалительных [174] и аутоиммунных заболеваний [175, 176], в том числе при РА [177]. В исследовании Moulin D. и соавт. было показано, что у пациентов с нелеченным РА в сравнении со здоровыми добровольцами наблюдался повышенный уровень хинолиновой кислоты, отражающей активное системное воспаление, и пониженный уровень ксантуреновой кислоты, которая обладает противовоспалительным эффектом. Данные метаболиты коррелировали с тяжестью и активностью заболевания [128]. В настоящем исследовании нами были выявлены изменения во всех трех путях катаболизма триптофана (Рисунок 26). Непосредственно сам триптофан был статистически значимо ниже в группе пациентов РА-*de novo* в сравнении с группой контроля. Примечательно, что у пациентов групп РА-БПВП и РА-ГИБП концентрация триптофана была статистически значимо выше в сравнении с пациентами, не получавшими терапию, что имеет патогенетическое обоснование и может свидетельствовать об эффективности терапии РА.



Продукты катаболизма триптофана рассматриваются в качестве регуляторов иммунных реакций, способствующих дифференцировке регуляторных Т-клеток и повышению провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ИФН- $\gamma$ ) в крови [129]. В первую очередь, при хроническом воспалении происходит активация провоспалительных цитокинов, вызывая нарушение метаболизма триптофана по кинурениновому пути. Нами установлено, что такие интермедиаты кинуренинового пути метаболизма триптофана, как кинуренин, хинолиновая кислота, кинуреновая кислота, а также соотношение кинуренин / триптофан были статистически значимо выше в группе пациентов РА-*de novo*. Кроме того, наблюдался низкий уровень кинуреновой кислоты в группе РА-ГИБП в сравнении с РА-*de novo*, однако данная тенденция не имела статистической значимости.

Соотношение кинуренин / триптофан является известным индикатором систематической активности фермента ИДО1 и отражает уровень иммунологической активации / толерантности. В ранее опубликованной работе Тукосински L.O. и соавт. [178] повышенная активность ИДО1 также наблюдалась в синовиальной жидкости пациентов с РА. Так, повышенная активность ИДО1 в синовиальных фибробластах при РА подавляет ответ Т-хелперов за счет понижения уровня триптофана, что, вероятно, является защитным механизмом организма в ответ на сверхактивную реакцию иммунной системы в непораженных артритах суставов.

Значимое повышение уровней триптофана у пациентов на базисной противоревматической и биологической терапии в условиях отсутствия различий в уровнях кинуренина может свидетельствовать об их воздействии на другие пути метаболизма триптофана (серотониновый и индольный).

Кинуренин, являясь продуктом распада триптофана, известен как эндогенный агонист арилового углеводородного рецептора (АУГ) [179]. АУГ, также известный как «диоксин» рецептор, играет центральную роль в процессах дифференцировки Т-клеток и способствует развитию коллаген-индуцированного артрита [86, 179], что может привести к прогрессированию *костно-деструктивных*

*изменений*. Таким образом, перспективным может являться развитие терапевтических подходов, направленных на подавление экспрессии ИДО1.

Концентрация хинолиновой кислоты, известной своими провоспалительными свойствами, значимо повышалась в плазме пациентов с РА-*de novo* в сравнении со здоровыми добровольцами. При оценке уровня метаболитов триптофана было выявлено, что уровни ГИУК и хинолиновой кислоты были статистически значимо ниже в группе РА-ГИБП в сравнении с группой РА-БПВП и группой РА-*de novo*. Хинолиновая кислота оказывает модулирующее действие на клеточную пролиферацию, выработку цитокинов и клеточную энергию [128].

Напротив, концентрация другого производного кинуренина, ксантуреновой кислоты, образование которой идет за счет трансаминирования 3-ОН-кинуренина, была статистически значимо ниже в группе пациентов с РА-*de novo* по сравнению со здоровыми добровольцами. Однако в группе РА-БПВП и РА-ГИБП концентрация ксантуреновой кислоты была статистически значимо выше в сравнении с пациентами РА-*de novo* что подтверждает ее *противовоспалительный* эффект. Также было выявлено более высокое соотношение кинуреновая кислота / хинолиновая кислота в группе РА-ГИБП в сравнении с группой РА-БПВП. Ксантуреновая кислота наряду с кинуреновой кислотой обладает выраженными противовоспалительными свойствами. Авторы работы продемонстрировали значимую обратную корреляцию данных метаболитов с параметрами активности РА (DAS28-СРБ, СРБ, СОЭ, цитокины) [128]. Нами была выявлена обратная корреляционная связь уровня триптофана, ксантуреновой кислоты, индолов с активностью заболевания по DAS28-СРБ.

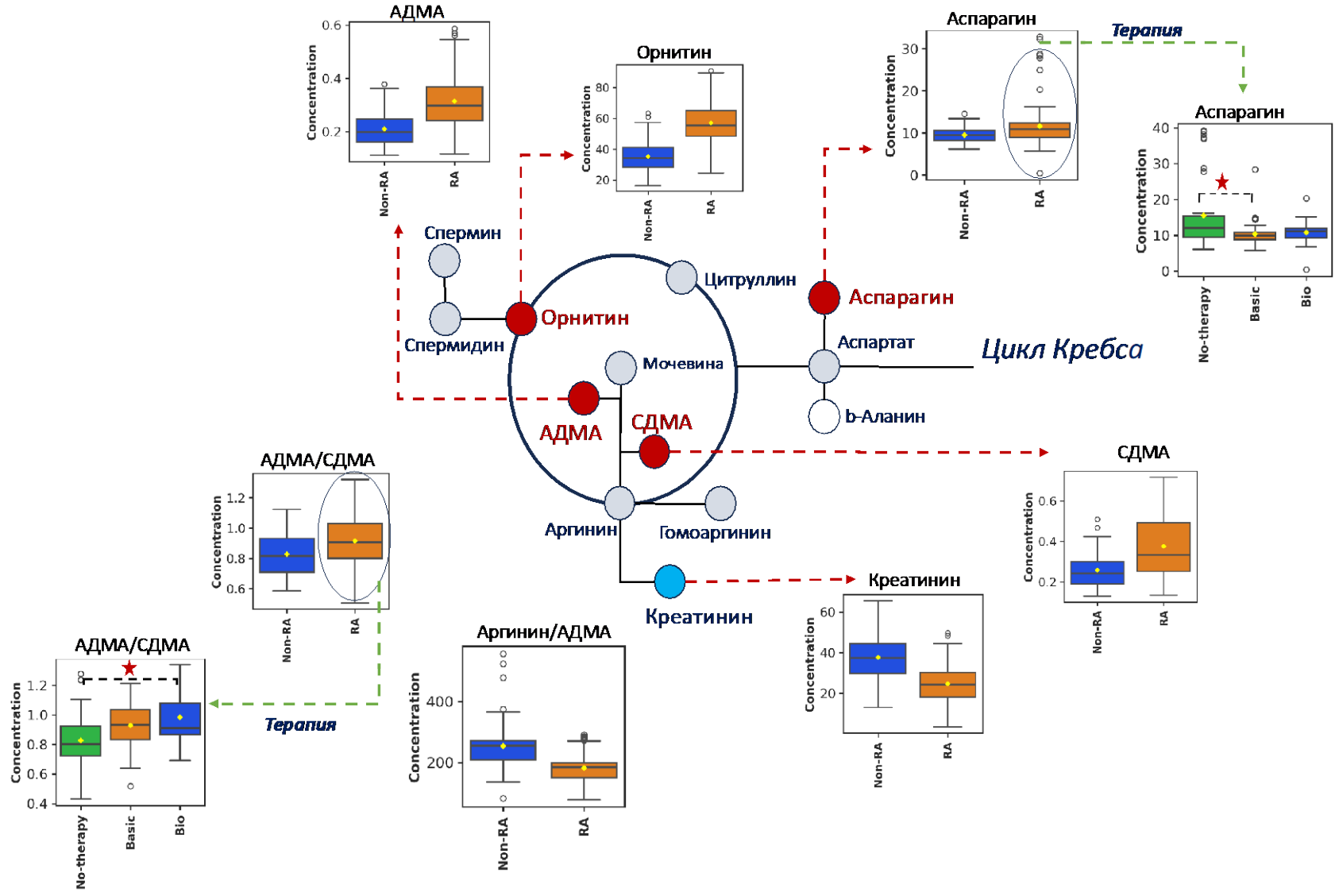
Выявленная в рамках данной работы повышенная активность кинуренинового пути может быть связана с его активацией в ответ на *воспаление* и попытку организма «сдержать» повышенную иммунную реактивность, характеризующую РА [180].

Серотониновый путь катаболизма триптофана ответственен за противовоспалительные и антиоксидантные эффекты за счет участия своих интермедиатов во множестве биохимических механизмов. При сравнении

рассматриваемых групп пациентов значимые различия были выявлены в уровнях 5-ОН-триптофана, мелатонина и ГИУК.

Мелатонин помимо основной функции, заключающейся в регуляции циркадных ритмов в организме, также ответственен за митохондриальный гомеостаз, пролиферацию, апоптоз, антиоксидантную активность и иммуномодуляцию. В ряде работ исследователи предполагали, что повышенный уровень мелатонина усиливает провоспалительную активность цитокинов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 [181, 182]. В рамках нашей работы был выявлен статистически значимо более высокий уровень мелатонина у пациентов с РА-*de novo* в сравнении с контрольной группой. При анализе групп РА-ГИБП и РА-БПВП был выявлен более низкий уровень мелатонина в сравнении с группой РА-*de novo*, что даже при отсутствии статистической значимости может косвенно свидетельствовать об эффективности противовоспалительной терапии.

Производные индольного пути катаболизма триптофана представляют собой результат деятельности микрофлоры кишечника. Суммарно производные индолов (индол-3-уксусная кислота, индол-3-масляная кислота, индол-3-карбоксальдегид, индол-3-молочная кислота) были статистически значимо ниже в крови всех групп пациентов с РА в сравнении с здоровыми добровольцами. Индольные производные триптофана известны своей способностью к активации АУГ, тем самым вызывая иммунорегуляторные эффекты [183]. В упомянутом выше исследовании Moulin D. и соавт. были также получены данные о низком содержании производных индола у пациентов с РА в сравнении со здоровым контролем [128]. Таким образом, изменения состава кишечной микробиоты, в том числе связанное с диетой, оказывает влияние на общий метаболизм триптофана, что вероятно может приводить к нарушению иммунной регуляции при РА.



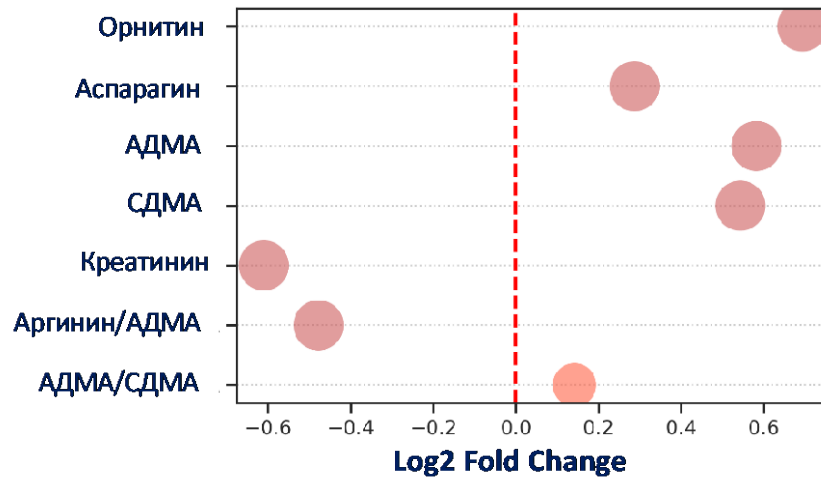
Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин

Рисунок 27 – Схема метаболизма производных аргинина

*Метаболизм аргинина. Цикл азота и мочевины*

Уровень производных аргинина – СДМА и АДМА – был статистически значимо выше в плазме пациентов с РА-*de novo* в сравнении со здоровыми добровольцами (Рисунок 27, 28). Данные метаболиты являются интермедиатами в цикле оксида азота, а их повышенная выработка свидетельствует о нарушении выработки NO. Аргиназы обычно локализованы в цитоплазме и митохондриях различных типов клеток, включая эндотелиальные и иммунные клетки (в особенности, моноциты и макрофаги). В условиях системного воспаления повышается уровень экспрессии аргиназ в данных типах клеток, что и приводит к повышению концентраций производных аргинина в плазме. Данный факт также подкрепляется статистически значимым более низким соотношением концентрации аргинина к АДМА в группе пациентов с РА-*de novo* в сравнении с контрольной группой. Однако, следует отметить, что повышенная активность аргиназ, вероятно, не оказывает непосредственного влияния на патогенез самого РА, но может воздействовать на активацию субклинической эндотелиальной дисфункции у пациентов с РА, обуславливая активный ангиогенез при РА. Тем самым, повышенная активность аргиназы потенцирует риск развития ССЗ у пациентов с РА. Выявленные закономерности в изменениях концентраций производных аргинина согласуются с результатами ряда ранее опубликованных работ [184-187].

Концентрация орнитина, еще одного производного аргинина, была статистически значимо выше в группе пациентов с РА-*de novo* в сравнении с группой контроля. Орнитин играет важную роль в синтезе коллагена, в связи с чем его повышенные уровни в плазме крови могут быть ассоциированы с компенсаторными или восстановительными механизмами в *костно-хрящевой ткани* при РА. Кроме того, являясь предшественником глутамата, орнитин косвенно влияет на экспрессию ФНО- $\alpha$  [115, 188, 189].



Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин

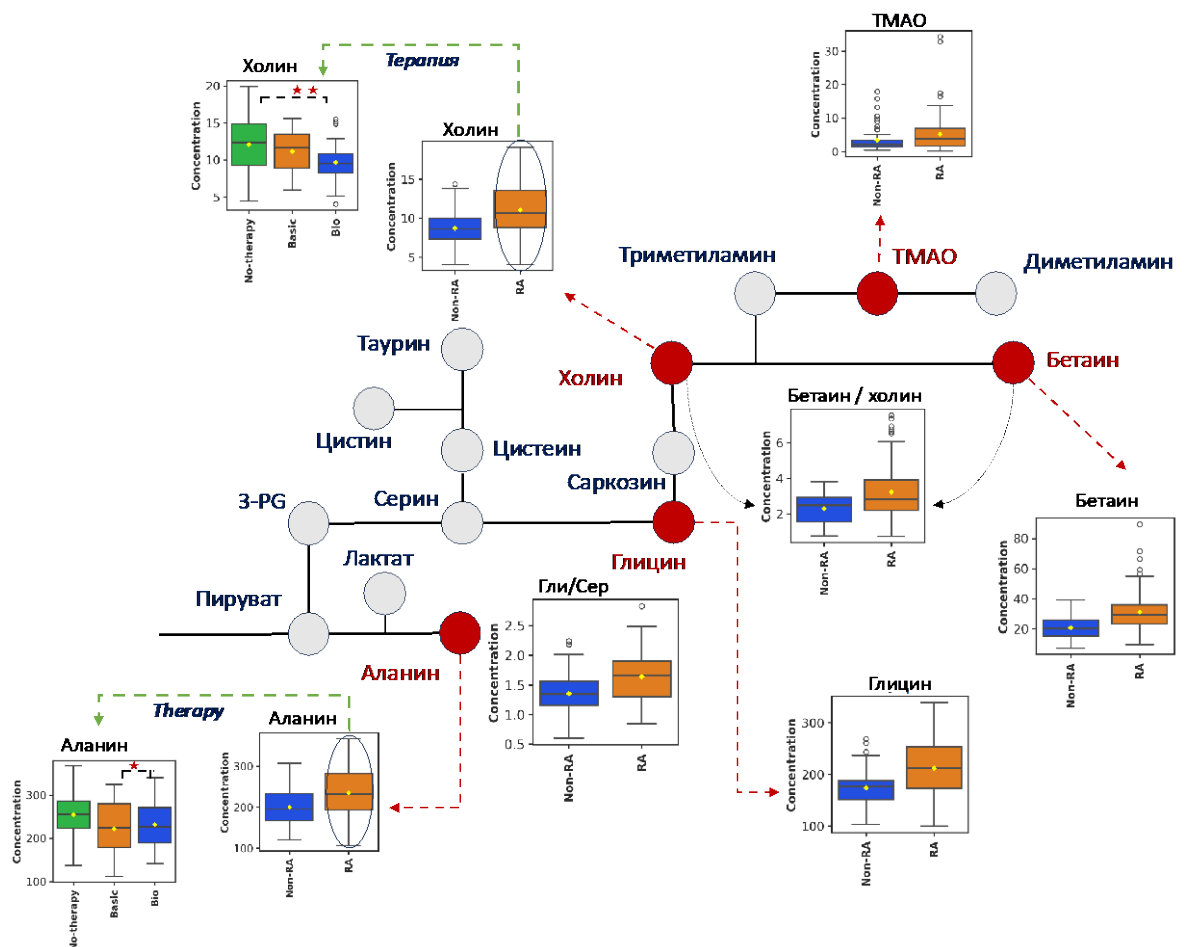
Рисунок 28 – Бабл-плот статистически значимо отличающихся метаболитов цикла NO и мочевины у пациентов RA-*de novo* в сравнении со здоровыми добровольцами

#### *Метаболизм производных холина. Метаболизм метионина*

Статистически значимо более высокие уровни холина и его производных (бетаина, ТМАО), метаболизма метионина (диметилглицина, аденозина) были выявлены у пациентов с RA-*de novo* в сравнении со здоровыми добровольцами (Рисунок 29, 30). В исследовании Fu В.С. и соавт. было продемонстрировано, что высокий уровень холина и ТМАО был связан с биомаркерами кардиометаболического риска у пациентов с ожирением [190]. Холин, ответственный за катализ биосинтеза фосфатидилхолина, обладает высокой экспрессией в синовиуме РА и индуцирует стимуляцию ФНО- $\alpha$  [129]. ТМАО, в свою очередь, обладает множественными эффектами в отношении развития и прогрессирования ССЗ. Прежде всего, ТМАО препятствует обратному транспорту холестерина, что является одним из пусковых механизмов атеросклероза. Также, ТМАО способствует агрегации тромбоцитов, что приводит к повышению риска ВТЭО. Кроме того, ТМАО активирует макрофаги и эндотелиоциты, что приводит к эндотелиальной дисфункции.

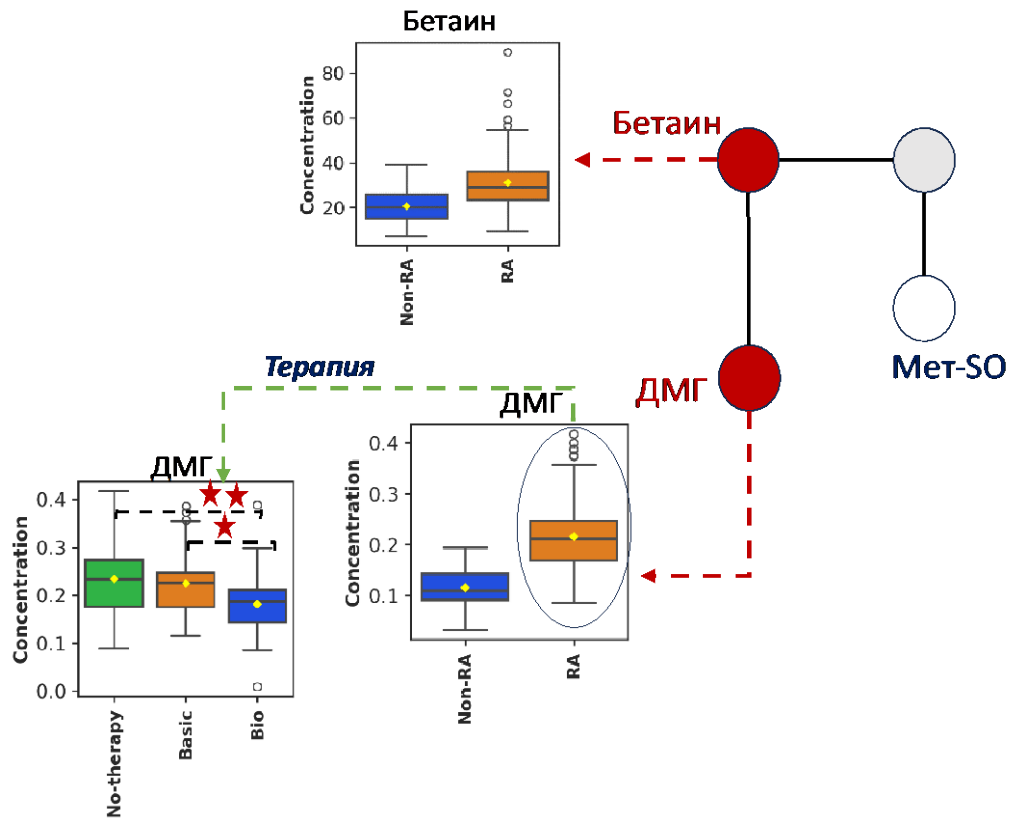
Таким образом, данные метаболиты известны как маркеры ССЗ, в связи с чем их повышенный уровень может свидетельствовать о наличии сердечно-сосудистого риска, сопряженного с РА.

Хронические воспалительные заболевания, такие как РА, характеризуются персистирующим воспалительным процессом, сопровождающимся устойчивой активацией инфламмосомы, которая поддерживается высокими концентрациями внеклеточного аденозина [191]. Кроме того, аденозин сам способен повторно стимулировать инфламмосому, продолжая круг и активируя воспаление [192]. В настоящем исследовании уровень аденозина в группе пациентов с РА-*de novo* был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля, а у пациентов, находящихся на терапии ГИБП значимо ниже, чем в группе РА-*de novo*. Кроме того, уровень аденозина напрямую коррелировал с уровнем СОЭ, что свидетельствует о его воспалительной роли.



Примечание: ТМАО – триметиламиноксид

Рисунок 29 – Метаболизм холина и его производных



Примечание: ДМГ – диметилглицин, Мет-SO – метионин

Рисунок 30 – Метаболизм метионина

### Метаболизм аминокислот

Концентрации пролина и его гидроксипролированного производного были статистически значимо выше в группе пациентов с RA-*de novo* в сравнении с контрольной группой (Рисунок 31). Пролин является важной АК, участвующей в синтезе белка. Его дисбаланс приводит к нарушениям в цикле ТКК и дальнейшему повреждению *костно-хрящевой ткани*. Кроме того, пролин как предшественник глутамата может вызывать экспрессию ФНО- $\alpha$ . Повышенный уровень пролина способствует выбросу провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) [193, 194], которые в условиях гипоксии активируют макрофаги и фибробласты синовиальной ткани для секреции факторов роста, такого как фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF). VEGF является ключевым регулятором неоангиогенеза, поскольку связан с пролиферацией, миграцией и образованием сосудов, способствует предотвращением апоптоза эндотелиальных клеток [195]. Кроме того, пролин и гидроксипролин являются коолаген-специфическими

аминокислотами и способствуют прогрессированию атеросклероза, как проявлению ангиогенеза при РА [196]. Следует отметить, что у пациентов на противоревматической терапии (РА-БПВП и РА-ГИБП) уровень пролина был не только статистически значимо ниже в сравнении с группой РА-*de novo*, но и был сопоставим с уровнем пролина у здоровых добровольцев. Полученные данные позволяют рассматривать пролин как маркер эффективности противоревматической терапии.

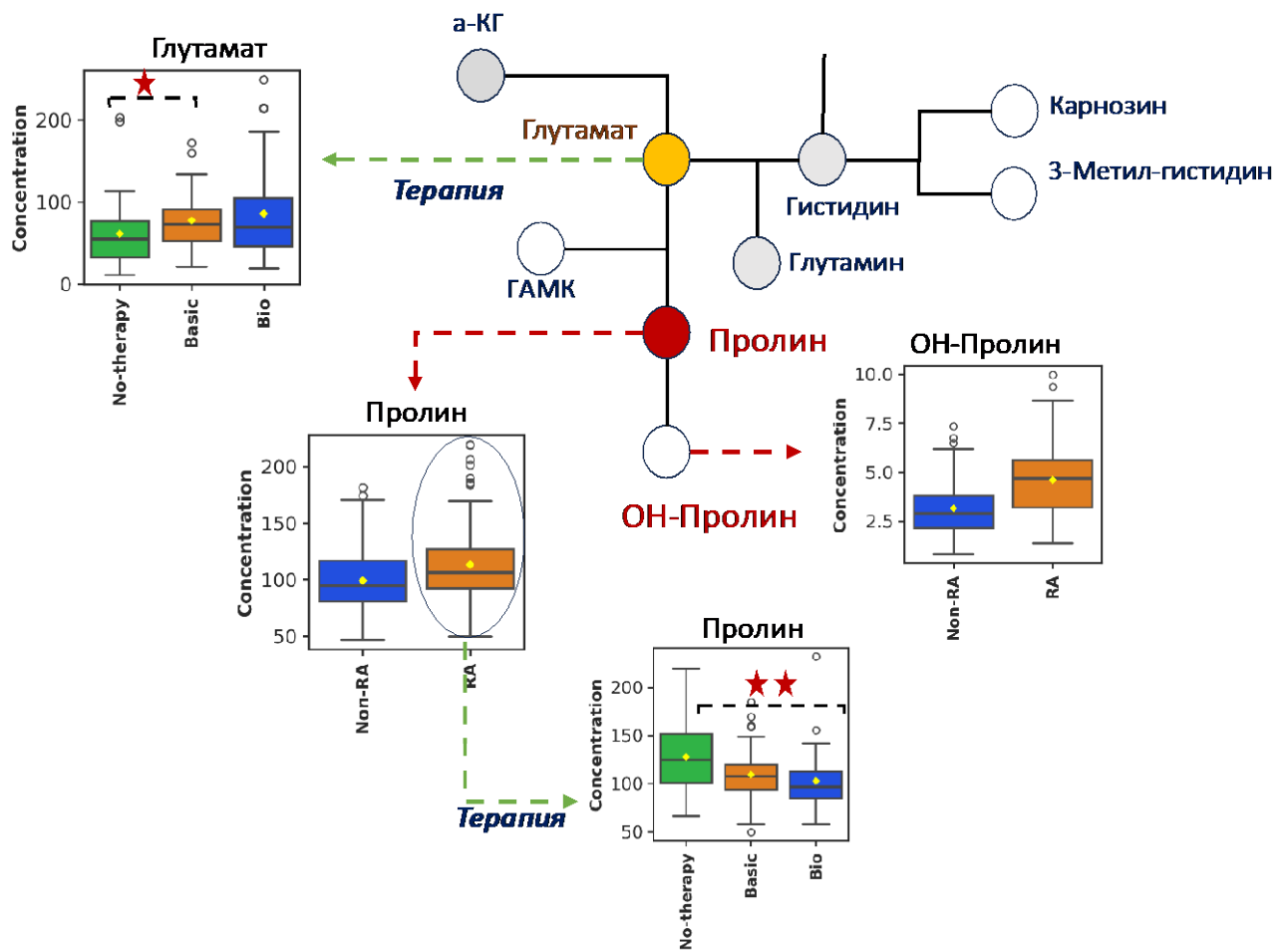


Рисунок 31 – Метаболизм пролина

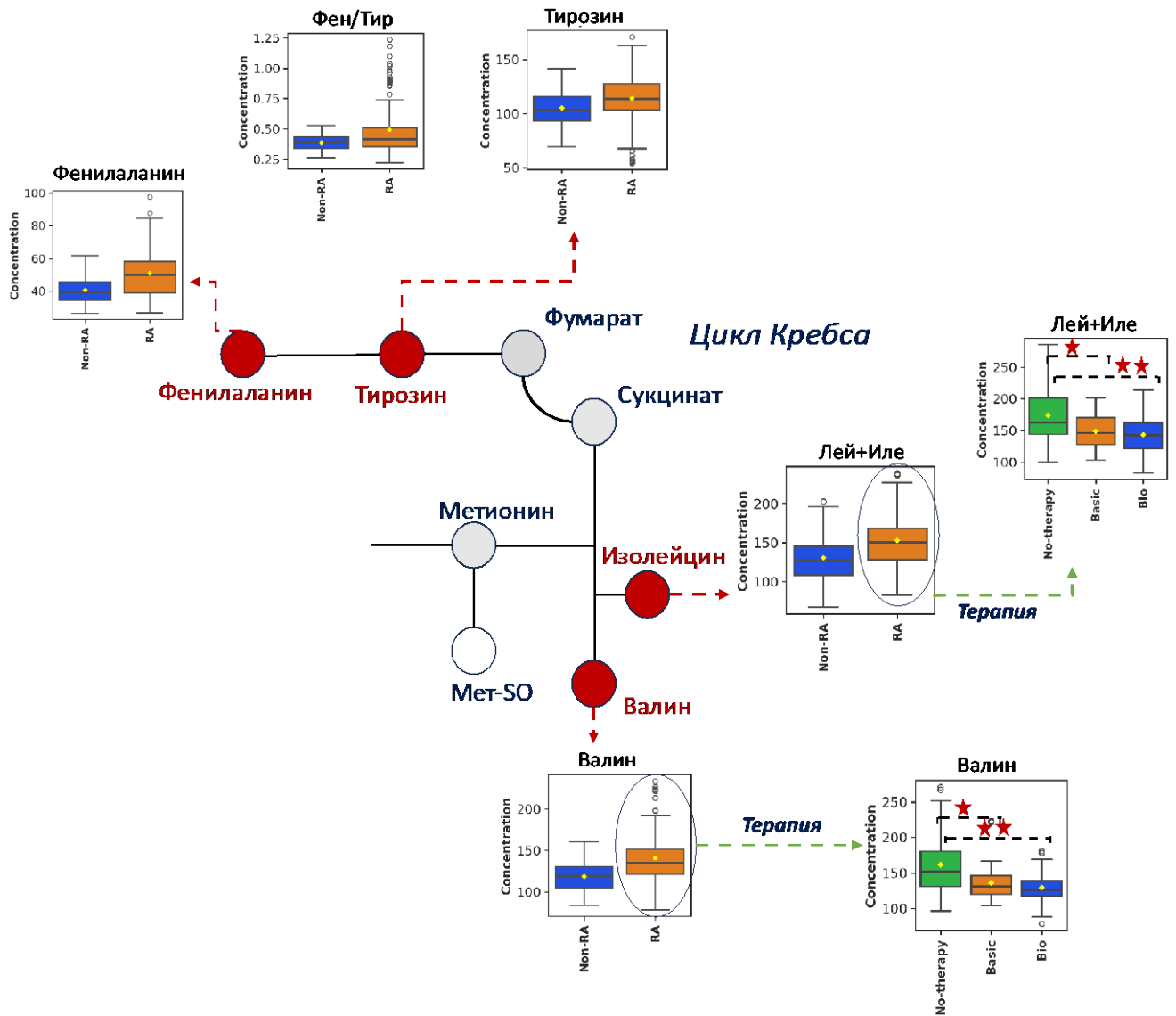


Рисунок 32 – Схема метаболизма аминокислот, ассоциированных с циклом Кребса

В проведенном в рамках данной работы эксперименте ароматические АК (АА) – фенилаланин и тирозин – значительно повышались у пациентов с РА-*de novo* в сравнении со здоровыми добровольцами, что соотносится с данными, изложенными в ряде других работ [113, 197]. Большинство исследований описывают вклад АА в развитие ССЗ, демонстрируя связь АА с ожирением, дислипидемией и АГ [198-201]. Помимо опосредованного действия через тирозин, фенилаланин может оказывать независимое влияние на эндотелиальную функцию посредством повышения синтеза кофермента тетрагидробиоптерина, необходимого для образования NO. Существует гипотеза о связи АА с активацией

иммунной системы и хроническим системным воспалением, что безусловно объясняет их высокий уровень в группах пациентов с РА [200, 202]. В исследовании Chang С.К. и соавт. у пациентов с РА уровень фенилаланина был статистически значимо выше, чем в группе здоровых добровольцев, более того у пациентов с РА и субклиническим атеросклерозом уровень фенилаланина был статистически значимо выше, чем в группе с РА и без субклинического атеросклероза, что подтверждает участие фенилаланина и его производных (тирозина) как в *системном воспалении*, так и в *ангиогенезе* [203]. В настоящем исследовании в группе РА-ГИБП уровень фенилаланина был статистически значимо ниже относительно группы РА-*de novo*, что подтверждает противовоспалительный эффект биологической терапии (Рисунок 32).

Уровни АК с разветвленной цепью (валин, лейцин, изолейцин) были статистически значимо выше у пациентов с РА-*de novo* в сравнении с группой контроля. Это может быть связано с возможной сверхактивацией энергетического обмена, вызванного общим воспалением организма при РА [204, 205]. Высокий уровень ВСАА в крови за счет увеличения производства реактивных форм кислорода и активации NF-κB может способствовать гиперэкспрессии провоспалительных цитокинов, таких как ФНО-α, ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-6 [118, 119]. В исследовании Намауа R. и соавт., в которое было включено более 19 тыс. женщин, было продемонстрировано, что более высокие концентрации ВСАА в плазме коррелируют с высоким уровнем высокочувствительного СРБ, фибриногена и ацетиллированного гликопротеина, что подтверждает влияние ВСАА на профиль воспалительных биомаркеров [206]. В другом исследовании на мышинной модели коллаген-индуцированного артрита, после разрушения коллагена в синовиальной жидкости было обнаружен высокий уровень ВСАА. В нашем исследовании был выявлен статистически значимо низкий уровень ВСАА, что подтверждает роль ВСАА в прогрессировании костно-деструктивных нарушений [207]. Тем самым, ВСАА увеличивают выработку активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу и митохондриальной дисфункции, в результате чего повышается активность заболевания и

прогрессирует деструкция суставов у пациентов с РА [207, 208]. В настоящем исследовании у пациентов в группах РА-ГИБП и РА-БПВП уровень ВСАА был статистически значимо ниже относительно группы РА-*de novo*. Кроме того,  $\Sigma$  лейцин + изолейцин в группе РА-ГИБП была сопоставима с группой контроля, что может подтверждать как эффект терапии РА, так и возможность применения данных АК в качестве биомаркеров эффективности терапии (Рисунок 33).

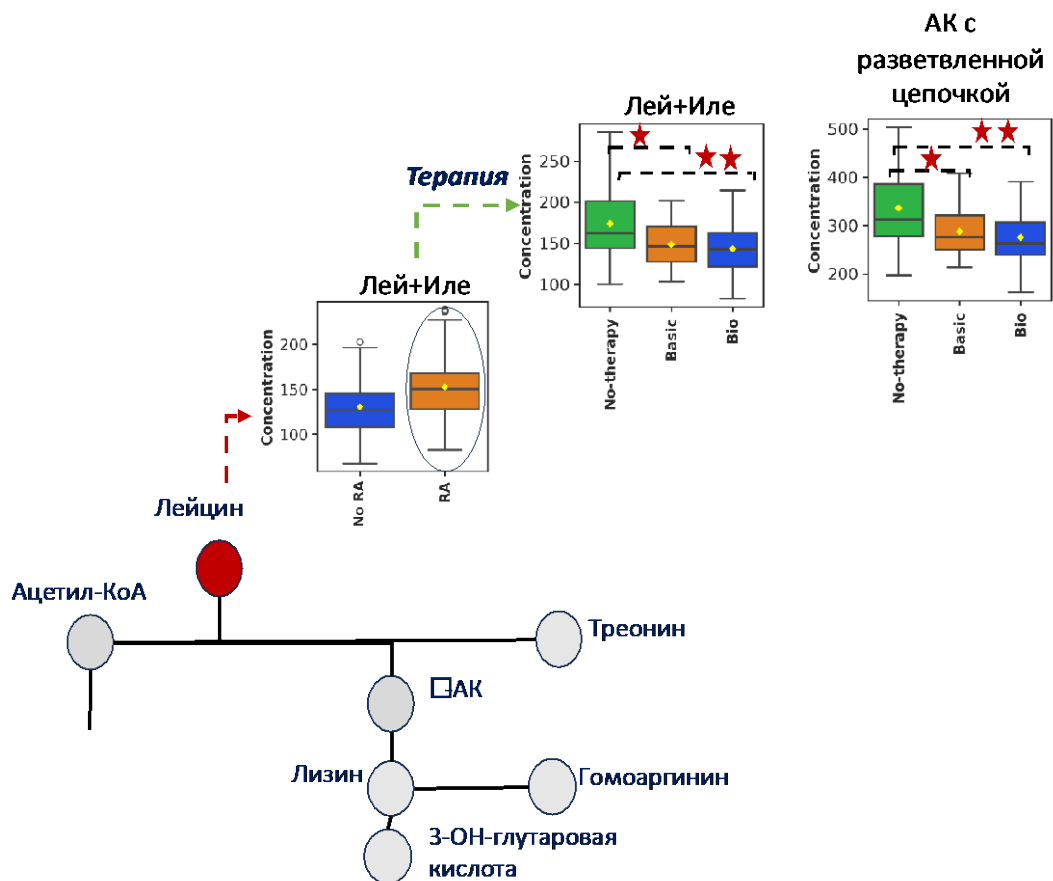
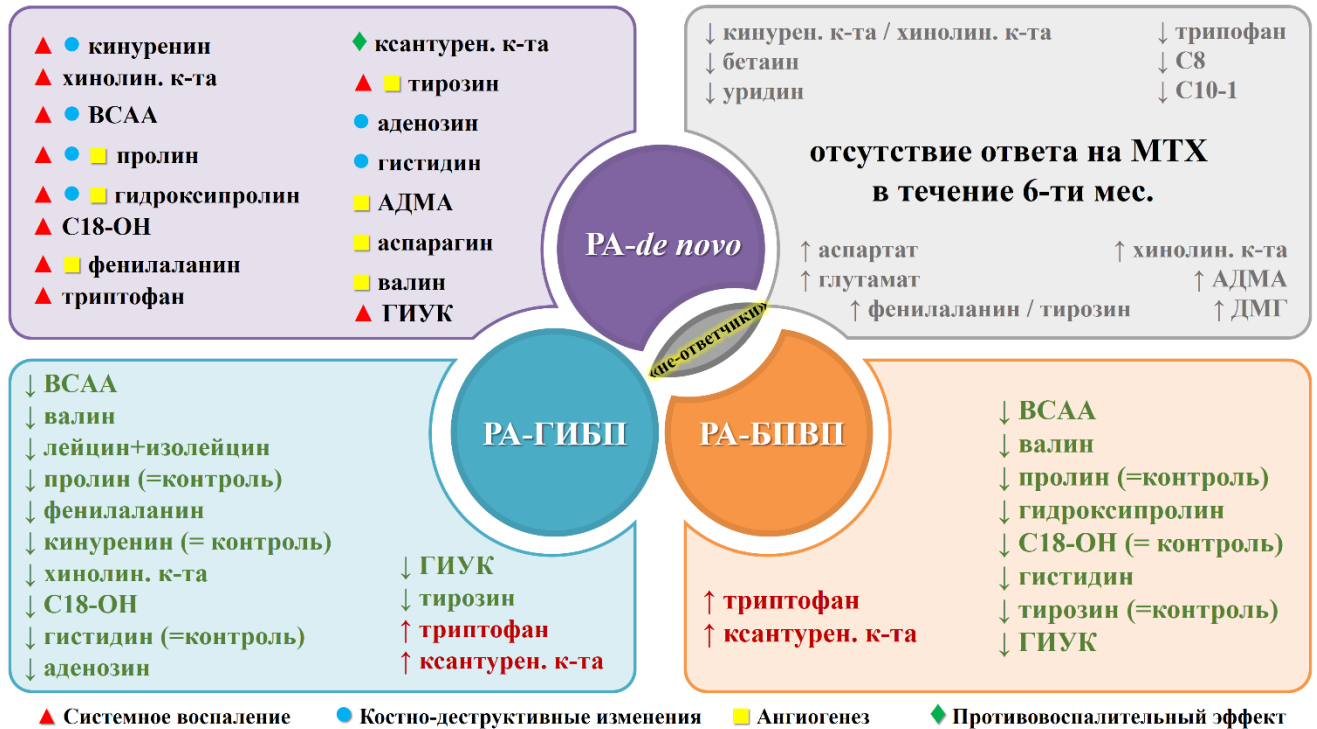


Рисунок 33 – Метаболизм аминокислот с разветвленной цепью

Следует отметить, что при детальном рассмотрении влияния различных видов терапии на метаболомный профиль крови пациентов, в ряде метаболитов в группе пациентов на биологической терапии наблюдалось изменение концентрации до уровня здоровых добровольцев. К таким метаболитам относились триптофан, ксантуреновая кислота, ВСАА и пролин.

На основании результатов настоящего исследования и данных мировой литературы проанализированные метаболиты можно условно разделить на следующие группы, согласно их патофизиологическому значению (Рисунок 34).



Примечание: АДМА – асимметричный диметиларгинин, БПВП – базисные противовоспалительные препараты, ГИБП – генно-инженерные биологические препараты, ГИУК – гидроксиндолуксусная кислота, ДМГ – диметилглицин, ВСАА – аминокислоты с разветвленной боковой цепью, МТХ – метотрексат

Рисунок 34 – Метаболиты – потенциальные биомаркеры для диагностики РА и прогнозирования отсутствия ответа на терапию БПВП

В рамках второго этапа настоящего исследования у 21 пациента из группы RA-*de novo* на фоне назначения противоревматической терапии (БПВП) была проведена оценка активности заболевания в динамике на основании исходного метаболомного профиля плазмы крови у пациентов. На основании полученных результатов, были выделены метаболиты, характеризующие отсутствие ответа на терапию, наиболее значимыми из которых, на основании проведенного анализа и данных литературы, триптофан, хинолиновая кислота, соотношение фенилаланин / тирозин, АДМА, диметилглицин.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление новых «омиксных» технологий в медицине дает возможность поиска новых диагностических и прогностических маркеров различных заболеваний, в том числе и ревматоидного артрита. В ходе настоящего исследования впервые в России проведен полный анализ метаболомного профиля у пациентов с ревматоидным артритом в сравнении со здоровыми добровольцами. Пациенты с РА были разделены на 3 группы в зависимости от применения лекарственной терапии. Благодаря проведенному метаболомному анализу выявлены наиболее характерные метаболиты для больных РА по сравнению со здоровыми людьми: повышение концентраций всех длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16, C16-1, C18-1, C18-ОН, C18-1-ОН), свободного карнитина (C0), короткоцепочечного бутилкарнитина (C4) и глутарилкарнитина (C5DC), снижение уровня короткоцепочечного пропионилкарнитина (C3) и ацетилкарнитина (C2); среднецепочечных ацилкарнитинов (C8, C10, C10-1, C10-2, C12, C14-1, C14-2, C14-ОН), изменение уровня метаболитов производных триптофана: снижение уровня триптофана, повышение уровня хинолиновой, кинуреновой и гидроксиндолуксусной кислот, кинуренина, мелатонина, снижение уровня ксантуреновой кислоты; повышение уровня аминокислот, связанных с циклом трикарбоновых кислот: аспарагина, пролина, фенилаланина, аланина, тирозина, гидроксипролина, соотношения лейцин / изолейцин, глицина, валина; повышение уровня метаболитов азотистого обмена: орнитина, асимметричного диметиларгинина, симметричного диметиларгинина, соотношения аргинин / асимметричный диметиларгинин; повышение концентрации производных метаболизма холина: бетаина, диметилглицина, холина; нейротрансммиттера аденозина. Полученная метаболомная панель открывает перспективы ранней диагностики и прогнозирования развития РА.

В рамках следующего этапа исследования удалось выявить взаимосвязь основных значимых метаболитов с активностью заболевания, уровнем РФ и АЦЦП, а именно концентрации аминокислот с разветвленной цепью, пролина,

соотношения фенилаланин/тирозин, фенилаланина, метаболитов кинуренинового пути (хинолиновая кислота, соотношение хинолиновая кислота/ГИУК, длинноцепочечного ацилкарнитина C18-ОН, среднецепочечных ацилкарнитинов (C10-1, C12-1), короткоцепочечных (C5-DC). Очевидно, эти метаболиты могут являться дополнительными маркерами серопозитивного фенотипа РА и маркерами активности заболевания.

При сравнении групп пациентов, принимающих БПВП, ГИБП и не принимающих противоревматическую терапию, были выявлены значимые метаболиты, которые могут выполнять роль потенциальных биомаркеров эффективности терапии: аминокислоты с разветвлённой цепью: соотношение лейцин/изолейцин, валин; пролин; метаболиты триптофана: хинолиновая, ксантуреновая кислота, холин, диметилглицин, гидроксиндолуксусная кислота, триптофан, средне- (C10-1, C14-2, C14-1) и длинноцепочечный ацилкарнитин C18-ОН.

У 21 пациента из группы РА-*de novo*, не ответивших на базисную противоревматическую терапию через 6 месяцев, определены метаболиты исходного метаболомного профиля плазмы крови, которые могут служить потенциальными предикторами неэффективности БПВП: триптофан, хинолиновая кислота, соотношение фенилаланин / тирозин, асимметричный диметиларгинин и диметилглицин.

Выявленные изменения в концентрационных уровнях метаболитов и, в целом, в метаболических путях рассматриваемых групп пациентов в дальнейшем могут быть использованы для персонализации противоревматической терапии.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены метаболиты, отражающие системное воспаление (метаболиты триптофана, аминокислоты с боковой разветвлённой цепью, метаболиты глутамата (пролин и гидроксипролин), ароматические аминокислоты и длинноцепочечные ацилкарнитины); костно-деструктивные изменения (метаболиты триптофана, аминокислоты с боковой разветвлённой цепью, метаболиты глутамата (пролин и гидроксипролин) и нейротранмиттер аденозин); активацию ангиогенеза (аминокислоты с боковой разветвлённой цепью, метаболиты цикла мочевины и ароматические аминокислоты и метаболиты глутамата (пролин и гидроксипролин) при сравнительном анализе метаболомного профиля пациентов с РА, не принимающих противоревматическую терапию, и здоровых добровольцев.

2. Установлена прямая корреляционная связь умеренной силы метаболитов системного воспаления, а также прямая взаимосвязь слабой силы костно-деструктивных изменений с клинико-лабораторными показателями активности заболевания (DAS28-СРБ, СОЭ, СРБ). Выявлена прямая корреляция умеренной силы метаболитов ангиогенеза и костно-деструктивных изменений с диагностическими маркерами ревматоидного артрита (РФ и АЦЦП), также определена прямая корреляционная связь умеренной силы метаболитов ангиогенеза и прямая сильная взаимосвязь хронического болевого синдрома с признаками прогрессирования ревматоидного артрита (рентгенологической стадией и функциональным классом).

3. Установлено, что метаболиты системного воспаления, костно-деструктивных изменений, активации ангиогенеза при сравнении метаболомных профилей плазмы крови пациентов с ревматоидным артритом без терапии и на базисной и/или генно-инженерной биологической терапии наиболее выражены у пациентов с ревматоидным артритом, не принимающих противоревматическую терапию, а на фоне проводимой терапии уровень данных метаболитов приближается к показателям здоровых добровольцев, наиболее значимо в группе

пациентов, принимающих генно-инженерную биологическую терапию, что потенциально характеризует эффективность проводимой терапии.

4. Сформирована маркерная панель, которая прогнозирует отсутствие ответа на базисную противоревматическую терапию через 6 месяцев у пациентов с ревматоидным артритом на основании анализа взаимосвязи параметров активности и исходного метаболомного профиля: аспартат, глутамат, соотношение фенилаланин / тирозин, октаноилкарнитин, деценоилкарнитин, бетаин, диметилглицин, триптофан, хинолиновая кислота, соотношение кинуреновая кислота / хинолиновая кислота, асимметричный диметиларгинин, уридин.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определен набор метаболитов, рекомендуемый для разработки диагностической панели ревматоидного артрита; длинно- и среднецепочечные ацилкарнитины, свободный карнитин, метаболиты производных триптофана, аминокислоты, связанные с циклом трикарбоновых кислот, метаболиты азотистого обмена, производные метаболизма холина и нейротрансмиттер аденозина. Данная панель может быть использована для прогнозирования развития ревматоидного артрита с высокой степенью надежности (чувствительность 84%; специфичность 73%).

2. В качестве дополнительного маркера серопозитивного фенотипа ревматоидного артрита рекомендована панель метаболитов, включающая определение уровня ароматических аминокислот, метаболитов триптофана и аминокислот с разветвленной цепью (валин, лейцин, изолейцин)

3. Определение уровней метаболитов мелатонина, хинолиновой и ксантуреновой кислот, аспарагина, аминокислот с разветвленной цепью и тирозина, фенилаланина рекомендовано в качестве дополнительных маркеров активности ревматоидного артрита.

4. Предложена панель метаболитов – потенциальных предикторов ответа на противоревматическую терапию: аминокислоты с разветвленной цепью, метаболиты триптофана и глутамата и длинноцепочечный C18-ОН ацилкарнитин.

5. Аспаргат, глутамат, соотношение фенилаланин / тирозин, октаноилкарнитин, деценоилкарнитин, бетаин, диметилглицин, триптофан, хинолиновая кислота, соотношение кинуреновая кислота / хинолиновая кислота, асимметричный диметиларгинин, уридин рекомендованы в качестве предикторов риска «не-ответа» на базисную противоревматическую терапию.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

5-ОН триптофан – 5-гидрокситриптофан

BCAA – Branched Chain Aminoacids, аминокислоты с разветвленной боковой цепью

BCAT – Branched-Chain Amino acid aminotransferase, митохондриальная аминотрансфераза

ВСКА – Branched-Chain  $\alpha$ -Keto Acid, альфа-кетокислота с разветвленной цепью

НЕТЕ – гидроксикозатетраеновая кислота

HIF – гипоксия-индуцирующий фактор

HLA – human leucocyte antigen, лейкоцитарный антиген человека

LCAC/SCAC – отношение длинноцепочечных к короткоцепочечным ацилкарнитинам

Long-chain – длинноцепочечные ацилкарнитины

M – среднее арифметическое

Me – Медиана

MCAC/SCAC – отношение среднецепочечных к короткоцепочечным ацилкарнитинам

Medium-chain – среднецепочечные ацилкарнитины

mTOR – серин/треонин-протеинкиназная мишень рапамицина млекопитающих

NO – монооксид азота

OPLS-DA – дискриминантный ортогональный анализ

PCA – метод главных компонент

PGE – простагландин E

Q – квартиль

SD – стандартное отклонение

Short-chain – короткоцепочечные ацилкарнитины

TLR-4 – толл-подобный рецептор 4

VEGF – vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов

AA – ароматические аминокислоты

АГ – артериальная гипертензия

АДМА – асимметричный диметиларгинин

АДФ – аденозиндифосфат

АК – аминокислоты

Ала – аланин

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АС – анкилозирующий спондилит

Асп – аспарагиновая кислота

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфат

Ацетил-КоА – ацетилкафермент А

АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду

БПВП – базисный противовоспалительный препарат

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГИБП – генно-инженерный биологический препарат

ГИУК – гидроксипиридоксусная кислота

Гис – гистидин

Гли – глицин

Глу – глутаминовая кислота

Глн – глутамин

ГКС – глюкокортикостероиды

ГХ – газовая хроматография

ЖК – жирные кислоты

ЖХ – жидкостная хроматография

ЗК – здоровый контроль

ИВЗ – иммуновоспалительные заболевания

ИДО – индоламино-2,3-диоксигеназа

ИЛ – интерлейкин

ИФН – интерферон

КЭ – капиллярный электрофорез

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ММП – матриксная металлопротеиназа  
МПС – макрофагоподобные синовиоциты  
НАД – никотинамидадениндинуклеотид  
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотид фосфорилированный  
ОА – остеоартрит  
ОЖК – окисление жирных кислот  
Орн – орнитин  
ПДК – пируватдегидрогеназный комплекс  
Про – пролин  
РА – ревматоидный артрит  
РФ – ревматоидный фактор  
РФК – реактивные формы кислорода  
С0 – свободный карнитин  
С3 – пропионилкарнитин  
С4 – бутилкарнитин  
С5DC – глутарилкарнитин  
С8 – октаноилкарнитин  
С10 – деканоилкарнитин  
С10-1 – деценоилкарнитин  
С10-2 – декадиеноилкарнитин  
С12 – додеканоилкарнитин  
С14-1 – тетрадеценил  
С14-2 – тетрадекадиеноилкарнитин  
С14-ОН – 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитин  
С16 – гексадеканоилкарнитин  
С16:1 – гексадеценилкарнитин  
С18:2 – линолеилкарнитин  
С18-ОН – 3-гидроксиоктадеценилкарнитин  
С18-1-ОН – 3-гидроксиоктадеценилкарнитин  
Сер – серин

СД – сахарный диабет

СДМА – симметричный диметиларгинин

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТИА – транзиторная ишемическая атака

Тир – Тирозин

ТКК – трикарбоновые кислоты

ТЛТ – третичная лимфоидная ткань

ТМАО – триметиламиноксид

Три – триптофан

ФАД – флавинадениндинуклеотид

ФАДН – восстановленный флавинадениндинуклеотид

Фен – фенилаланин

ФНО – фактор некроза опухоли

ФПС – фибробластоподобные синовиоциты

ХБП – хроническая болезнь почек

ЭЛС – эктопическая лимфоидная структура

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мазуров, В.И. Клиническая ревматология. Руководство для врачей / В.И. Мазуров, И.З. Гайдукова, И.Б. Беляева. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : Е-нот, 2021. – 696 с.
2. Клинический случай дифференциальной диагностики полостных образований легких при ревматоидном артрите / Е.А. Зурилин, Н.А. Николаева, О.О. Воронкова, Л.М. Мусаева, Е.А. Коган, Е.Ф. Рогова, И.В. Меньшикова, М.В. Кожевникова, Ю.Н. Беленков // Пульмонология. – 2025. – Т. 35 – № 4. – С. 597–602.
3. Gabriel, S.E. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases / S.E. Gabriel, K. Michaud // Arthritis Research & Therapy. – 2009. – Vol. 11. – № 3. – P. 229.
4. Comparative analysis of approaches and treatment results of patients with early and nonearly rheumatoid arthritis / O.V. Pashanova, N.B. Lopatina, S.A. Krivosheev [et al.] // Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2019. – Vol. 7. – № 17. – P. 2802-2806.
5. Pratt, A.G. Seronegative rheumatoid arthritis: pathogenetic and therapeutic aspects / A.G. Pratt, J.D. Isaacs // Best Practice & Research. Clinical Rheumatology. – 2014. – Vol. 28. – № 4. – P. 651-659.
6. Energy metabolism disorder as a contributing factor of rheumatoid arthritis: a comparative proteomic and metabolomic study / X.Y. Yang, K.D. Zheng, K. Lin [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. – № 7. – P. e0132695.
7. Metabolic fingerprinting of joint tissue of collagen-induced arthritis (CIA) rat: *In vitro*, high resolution NMR (nuclear magnetic resonance) spectroscopy based analysis / N.K. Srivastava, S. Sharma, R. Sharma [et al.] // EXCLI Journal. – 2018. – Vol. 17. – P. 257.
8. <sup>1</sup>H NMR metabolomics identifies underlying inflammatory pathology in osteoarthritis and rheumatoid arthritis synovial joints / J.R. Anderson, S. Chokesuwattanaskul, M.M. Phelan [et al.] // Journal of Proteome Research. – 2018. – Vol. 17. – № 11. – P. 3780-3790.

9. Exploration of the serum metabolite signature in patients with rheumatoid arthritis using gas chromatography-mass spectrometry / J. Zhou, J. Chen, C. Hu [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2016. – Vol. 127. – P. 60-67.
10. Molecular alterations in skeletal muscle in rheumatoid arthritis are related to disease activity, physical inactivity, and disability / K.M. Huffman, R. Jessee, B. Andonian [et al.] // *Arthritis Research & Therapy*. – 2017. – Vol. 19. – № 1. – P. 12.
11. Urine metabolome profiling of immune-mediated inflammatory diseases / A. Alonso, A. Julià, M. Vinaixa [et al.] // *BMC Medicine*. – 2016. – Vol. 14. – № 1. – P. 133.
12. Spontaneous ultra-weak photon emission in correlation to inflammatory metabolism and oxidative stress in a mouse model of collagen-induced arthritis / M. He, E. van Wijk, H. van Wietmarschen [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2017. – Vol. 168. – P. 98-106.
13. Ревматоидный артрит. Клинические рекомендации : утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации / разработчик: Ассоциация ревматологов России. – Текст : электронный // Рубрикатор клинических рекомендаций : сайт. – 2025. – URL: [https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/250\\_3](https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/250_3) (дата обращения: 25.05.2025).
14. Global epidemiology of rheumatoid arthritis / A. Finckh, B. Gilbert, B. Hodkinson [et al.] // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2022. – Vol. 18. – № 10. – P. 591-602.
15. Global, regional, and national burden of rheumatoid arthritis, 1990–2020, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021 / R.J. Black, M. Cross, L.M. Haile [et al.] // *The Lancet Rheumatology*. – 2023. – Vol. 5. – № 10. – P. e594-e610.
16. Заболеваемость всего населения России в 2023 году: статистические материалы / И.А. Деев, О.С. Кобякова, В.И. Стародубов и др. – Москва : ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, 2024. – 154 с.
17. Галушко, Е.А. Распространенность ревматических заболеваний в России / Е.А. Галушко, Е.Л. Насонов // *Альманах клинической медицины*. – 2018. – Т. 46. – № 1. – С. 32-39.

18. van der Woude, D. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis / D. van der Woude, A.H.M. van der Helm-van Mil // Best Practice & Research. Clinical Rheumatology. – 2018. – Vol. 32. – № 2. – P. 174-187.
19. Pathogenesis of rheumatoid arthritis: targeting cytokines / J. Zwerina, K. Redlich, G. Schett [et al.] // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2005. – Vol. 1051. – № 1. – P. 716-729.
20. Aletaha, D. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review / D. Aletaha, J.S. Smolen // JAMA. – 2018. – Vol. 320. – № 13. – P. 1360-1372.
21. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update / J.S. Smolen, R.B.M. Landewé, S.A. Bergstra [et al.] // Annals of the rheumatic diseases. – 2023. – Vol. 82. – № 1. – P. 3-18.
22. EULAR definition of difficult-to-treat rheumatoid arthritis / G. Nagy, N.M.T. Roodenrijs, PM Welsing [et al.] // Annals of the rheumatic diseases. – 2021. – Vol. 80. – № 1. – P. 31-35.
23. Difficult-to-treat rheumatoid arthritis: what have we learned and what do we still need to learn? / Z.L.M. Hofman, N.M.T. Roodenrijs, E. Nikiphorou [et al.] // Rheumatology. – 2025. – Vol. 64. – № 1. – P. 65-73.
24. Труднолечимый ревматоидный артрит. Какой он? / А.В. Гордеев, Ю.А. Олюнин, Е.А. Галушко [и др.] // Современная ревматология. – 2021. – Т. 15. – № 5. – С. 7-11.
25. Труднолечимый ревматоидный артрит: предикторы и возможности предупреждения (анализ данных московского единого регистра артритов) / Е.В. Жилияев, Г.В. Лукина, Е.Н. Кольцова [и др.] // Клиницист. – 2024. – Т. 18. – № 4. – С. 27-36.
26. Пожаров, И.В. Возможности применения ингибиторов интерлейкина 6 у пациентов с труднолечимым ревматоидным артритом (результаты ретроспективного исследования) / И.В. Пожаров, Е.В. Жилияев, А.А. Клименко // Клиницист. – 2025. – Т. 19. – № 1. – С. 39-46.

27. Mechanisms underlying DMARD inefficacy in difficult-to-treat rheumatoid arthritis: a narrative review with systematic literature search / N.M.T. Roodenrijs, P.M.J. Welsing, J. van Roon [et al.] // *Rheumatology*. – 2022. – Vol. 61. – № 9. – P. 3552-3566.
28. FCGR2A/FCGR3A gene polymorphisms and clinical variables as predictors of response to tocilizumab and rituximab in patients with rheumatoid arthritis / A. Jiménez Morales, M. Maldonado-Montoro, J.E. Martínez de la Plata [et al.] // *The Journal of Clinical Pharmacology*. – 2019. – Vol. 59. – № 4. – P. 517-531.
29. Effect of Fc $\gamma$ -receptor 3a (FCGR3A) gene polymorphisms on rituximab therapy in Hungarian patients with rheumatoid arthritis / I. Pál, S. Szamosi, K. Hodosi [et al.] // *RMD open*. – 2017. – Vol. 3. – № 2. – P. e000485.
30. Pharmacometabolomics: A new horizon in personalized medicine / A.H. Emwas, K. Szczepski, R.T. McKay [et al.] // *Metabolomics – Methodology and Applications in Medical Sciences and Life Sciences* / Ed. by X. Zhan. – Rijeca: IntechOpen, 2021. – Ch. 3. – URL: <https://www.intechopen.com/chapters/77592> (дата обращения: 25.05.2025)
31. Pharmaco-metabolomics: an emerging "omics" tool for the personalization of anticancer treatments and identification of new valuable therapeutic targets / G. Corona, F. Rizzolio, A. Giordano [et al.] // *Journal of cellular physiology*. – 2012. – Vol. 227. – № 7. – P. 2827-2831.
32. Pharmacometabolomics reveals irinotecan mechanism of action in cancer patients / X. Bao, J. Wu, S. Kim [et al.] // *The Journal of Clinical Pharmacology*. – 2019. – Vol. 59. – № 1. – P. 20-34.
33. Pharmacometabolomics of docetaxel-treated human MCF7 breast cancer cells provides evidence of varying cellular responses at high and low doses / M. Bayet-Robert, D. Morvan, P. Chollet [et al.] // *Breast cancer research and treatment*. – 2010. – Vol. 120. – № 3. – P. 613-626.
34. Pharmacometabolomics study identifies circulating spermidine and tryptophan as potential biomarkers associated with the complete pathological response to trastuzumab-paclitaxel neoadjuvant therapy in HER-2 positive breast cancer / G. Miolo, E. Muraro, D. Caruso [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 26. – P. 39809.

35. Pharmacometabolomics reveals a role for histidine, phenylalanine, and threonine in the development of paclitaxel-induced peripheral neuropathy / Y. Sun, J.H. Kim, K. Vangipuram [et al.] // *Breast cancer research and treatment*. – 2018. – Vol. 171. – № 3. – P. 657-666.
36. Balashova, E.E. A metabolomics approach to pharmacotherapy personalization / E.E. Balashova, D.L. Maslov, P.G. Lokhov // *Journal of personalized medicine*. – 2018. – Vol. 8. – № 3. – P. 28.
37. Integration of pharmacometabolomics with pharmacokinetics and pharmacodynamics: towards personalized drug therapy / V. Kantae, E.H.J. Krekels, M.J.V. Esdonk [et al.] // *Metabolomics*. – 2017. – Vol. 13. – № 1. – P. 9.
38. Metabolomics reveals biomarkers in human urine and plasma to predict cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) activity / G. Magliocco, J. Desmeules, A. Matthey [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2021. – Vol. 178. – № 23. – P. 4708-4725.
39. Integrating clinical metabolomics-based biomarker discovery and clinical pharmacology to enable precision medicine / I. Kohler, T. Hankemeier, P.H. van der Graaf // *European journal of pharmaceutical sciences*. – 2017. – Vol. 109. – № 109S. – P. S15-S21.
40. Smolen, J.S. Rheumatoid arthritis / J.S. Smolen, D. Aletaha, I.B. McInnes // *Lancet*. – 2016. – Vol. 388. – № 10055. – P. 2023-2038.
41. McInnes, I.B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis / I.B. McInnes, G. Schett // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 365. – № 23. – P. 2205-2219.
42. Rheumatoid arthritis / J.S. Smolen, D. Aletaha, A. Barton [et al.] // *Nature reviews. Disease primers*. – 2018. – Vol. 4. – P. 18001.
43. B Cells in Rheumatoid Arthritis Pathogenic Mechanisms and Treatment Prospects / F. Wu, J. Gao, J. Kang [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 750753.
44. Bartok, B. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis / B. Bartok, G.S. Firestein // *Immunological reviews*. – 2010. – Vol. 233. – № 1. – P. 233-255.

45. Yoshitomi, H. Regulation of immune responses and chronic inflammation by fibroblast-like synoviocytes / H. Yoshitomi // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1395.
46. Synovial tissue heterogeneity in rheumatoid arthritis and changes with biologic and targeted synthetic therapies to inform stratified therapy / L. Ouboussad, A.N. Burska, A. Melville [et al.] // *Frontiers in medicine*. – 2019. – Vol. 6. – P. 45.
47. Bromley, M. Histopathology of the rheumatoid lesion / M. Bromley, D.E. Woolley // *Arthritis and rheumatism*. – 1984. – Vol. 27. – № 8. – P. 857-863.
48. T cell migration in rheumatoid arthritis / M. Mellado, L. Martínez-Muñoz, G. Cascio [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 384.
49. Interleukin-6 modulates production of T lymphocyte-derived cytokines in antigen-induced arthritis and drives inflammation-induced osteoclastogenesis / P.K. Wong, J.M. Quinn, N.A. Sims [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. – 2006. – Vol. 54. – № 1. – P. 158-168.
50. Komatsu, N. Autoimmune arthritis: the interface between the immune system and joints / N. Komatsu, H. Takayanagi // *Advances in immunology*. – 2012. – Vol. 115. – P. 45-71.
51. Wu, X. Insight into non-pathogenic Th17 cells in autoimmune diseases / X. Wu, J. Tian, S. Wang // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1112.
52. Onishi, R.M. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease / R.M. Onishi, S.L. Gaffen // *Immunology*. – 2010. – Vol. 129. – № 3. – P. 311-321.
53. Shen, F. Structure–function relationships in the IL-17 receptor: implications for signal transduction and therapy / F. Shen, S.L. Gaffen // *Cytokine*. – 2008. – Vol. 41. – № 2. – P. 92-104.
54. Hua, Z. TLR signaling in B-cell development and activation / Z. Hua, B. Hou // *Cellular & molecular immunology*. – 2013. – Vol. 10. – № 2. – P. 103-106.
55. van Delft, M.A.M. An overview of autoantibodies in rheumatoid arthritis / M.A.M. van Delft, T.W.J. Huizinga // *Journal of autoimmunity*. – 2020. – Vol. 110. – P. 102392.

56. Ingegnoli, F. Rheumatoid factors: clinical applications / F. Ingegnoli, R. Castelli, R. Gualtierotti // *Disease markers*. – 2013. – Vol. 35. – № 6. – P. 727-734.
57. Rheumatoid factor revisited / T. Dörner, K. Egerer, E. Feist, G.R. Burmester // *Current opinion in rheumatology*. – 2004. – Vol. 16. – № 3. – P. 246-253.
58. Anticitrullinated protein antibodies and rheumatoid factor fluctuate in early inflammatory arthritis and do not predict clinical outcomes / L. Barra, V. Bykerk, J.E. Pope [et al.] // *The Journal of rheumatology*. – 2013. – Vol. 40. – № 8. – P. 1259-1267.
59. Rönnelid, J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis—laboratory and clinical perspectives / J. Rönnelid, C. Turesson, A. Kastbom // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 685312.
60. Volkov, M. Autoantibodies and B Cells: The ABC of rheumatoid arthritis pathophysiology / M. Volkov, K.A. van Schie, D. van der Woude // *Immunological reviews*. – 2020. – Vol. 294. – № 1. – P. 148-163.
61. Kwon, E.J. Impact of posttranslational modification in pathogenesis of rheumatoid arthritis: focusing on citrullination, carbamylation, and acetylation / E.J. Kwon, J.H. Ju // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 19. – P. 10576.
62. The role of anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / W. Kurowska, E.H. Kuca-Warnawin, A. Radzikowska [et al.] // *Central European Journal of Immunology*. – 2017. – Vol. 42. – № 4. – P. 390-398.
63. Immune complexes containing citrullinated fibrinogen costimulate macrophages via Toll-like receptor 4 and Fc $\gamma$  receptor / J. Sokolove, X. Zhao, P.E. Chandra [et al.] // *Arthritis and rheumatism*. – 2011. – Vol. 63. – № 1. – P. 53-62.
64. Anti-citrullinated protein antibodies activated ERK1/2 and JNK mitogen-activated protein kinases via binding to surface-expressed citrullinated GRP78 on mononuclear cells / M.C. Lu, N.S. Lai, W.Y. Yin [et al.] // *Journal of clinical immunology*. – 2013. – Vol. 33. – № 3. – P. 558-566.
65. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis / R. Khandpur, C. Carmona-Rivera, A. Vivekanandan-Giri [et al.] // *Science translational medicine*. – 2013. – Vol. 5. – № 178. – P. 178ra40.

66. Single cell cloning and recombinant monoclonal antibodies generation from RA synovial B cells reveal frequent targeting of citrullinated histones of NETs / E. Corsiero, M. Bombardieri, E. Carlotti [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. – 2016. – Vol. 75. – № 10. – P. 1866-1875.
67. Edilova, M.I. A. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis / M.I. Edilova, A. Akram, A.A. Abdul-Sater // *Biomedical journal*. – 2021. – Vol. 44. – № 2. – P. 172-182.
68. Targeting macrophages: friends or foes in disease? / J.A. Ardura, G. Rackov, E. Izquierdo [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1255.
69. Macrophage M1/M2 polarization and rheumatoid arthritis: a systematic review / S. Tardito, G. Martinelli, S. Soldano [et al.] // *Autoimmunity reviews*. – 2019. – Vol. 18. – № 11. – P. 102397.
70. Метаболомное профилирование пациентов с ревматоидным артритом (пилотное исследование) / Л.М. Мусаева, И.В. Меньшикова, С.А. Апполонова, К.М. Шестакова // *Клинический разбор в общей медицине*. – 2024. – Т. 5. – №. 4. – С. 76-82.
71. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 2 : Биоэнергетика и метаболизм : учебник / Д. Нельсон, М. Кокс ; пер. с англ. под ред. Н.Б. Гусева. – 5-е изд., перераб. и доп. – Москва : Лаборатория знаний, 2022. – 689 с. – ISBN 978-5-93208-608-7.
72. Vignali, P.D.A. Metabolic regulation of T cell immunity / P.D.A. Vignali, J. Barbi, F. Pan // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2017. – Vol. 1011. – P. 87-130.
73. Goronzy, J.J. Mechanisms underlying T cell ageing / J.J. Goronzy, C.M. Weyand // *Nature Reviews Immunology*. – 2019. – Vol. 19. – № 9. – P. 573-583.
74. Causes of upregulation of glycolysis in lymphocytes upon stimulation. A comparison with other cell types / H. Stark, M. Fichtner, R. König [et al.] // *Biochimie*. – 2015. – Vol. 118. – P. 185-194.
75. Madeira, V.M.C. Overview of mitochondrial bioenergetics / V.M.C. Madeira // *Methods in molecular biology*. – 2012. – Vol. 810. – P. 1-6.

76. Maldonado, E.N. ATP/ADP ratio, the missed connection between mitochondria and the Warburg effect / E.N. Maldonado, J.J. Lemasters // *Mitochondrion*. – 2014. – Vol. 19. – P. 78-84.
77. Altered glucose metabolism and cell function in keloid fibroblasts under hypoxia / Q. Wang, P. Wang, Z. Qin [et al.] // *Redox biology*. – 2021. – Vol. 38. – P. 101815.
78. Global metabolite profiling of synovial fluid for the specific diagnosis of rheumatoid arthritis from other inflammatory arthritis / S. Kim, J. Hwang, J. Xuan [et al.] // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. e97501.
79. Liu, S. The regulatory role of  $\alpha$ -ketoglutarate metabolism in macrophages / S. Liu, J. Yang, Z. Wu // *Mediators of inflammation*. – 2021. – Vol. 2021. – P. 5577577.
80. Alpha-ketoglutarate, an endogenous metabolite, extends lifespan and compresses morbidity in aging mice / A. Asadi Shahmirzadi, D. Edgar, C.Y. Liao [et al.] // *Cell metabolism*. – 2020. – Vol. 32. – № 3. – P. 447-456.
81. Jose, C. Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation: a tumor's dilemma? / C. Jose, N. Bellance, R. Rossignol // *Biochimica et biophysica acta*. – 2011. – Vol. 1807. – № 6. – P. 552-561.
82. Weyand, C.M. Immunometabolism in the development of rheumatoid arthritis / C.M. Weyand, J.J. Goronzy // *Immunological reviews*. – 2020. – Vol. 294. – № 1. – P. 177-187.
83. T-cell metabolism in autoimmune disease / Z. Yang, E.L. Matteson, J.J. Goronzy [et al.] // *Arthritis research & therapy*. – 2015. – Vol. 17. – № 1. – P. 1-10.
84. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis / S. Takemura, A. Braun, C. Crowson [et al.] // *Journal of immunology*. – 2001. – Vol. 167. – № 2. – P. 1072-1080.
85. BLYS and APRIL in rheumatoid arthritis / T.M. Seyler, Y.W. Park, S. Takemura [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2005. – Vol. 115. – № 11. – P. 3083-3092.
86. CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> Т-лимфоциты как маркер иммунного старения у пациентов с началом ревматоидного артрита в пожилом возрасте / А.В. Аболешина, А.П. Алексанкин, Е.Г. Зоткин [и др.] // *Современная ревматология*. – 2025. – Т. 19. – № 5. – С. 13-19.

87. Choy, E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / E. Choy // *Rheumatology*. – 2012. – Vol. 51. – №. Suppl 5. – P. v3-v11.
88. Colville-Nash, P.R. Angiogenesis and rheumatoid arthritis: pathogenic and therapeutic implications / P.R. Colville-Nash, D.L. Scott // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 1992. – Vol. 51. – № 7. – P. 919-925.
89. Konisti, S. Hypoxia--a key regulator of angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis / S. Konisti, S. Kiriakidis, E.M. Paleolog // *Nature reviews. Rheumatology*. – 2012. – Vol. 8. – № 3. – P. 153-162.
90. Kelly, B. Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity / B. Kelly, L.A. O'Neill // *Cell research*. – 2015. – Vol. 25. – № 7. – P. 771-784.
91. Weyand, C.M. Immunometabolism in early and late stages of rheumatoid arthritis / C.M. Weyand, J.J. Goronzy // *Nature Reviews. Rheumatology*. – 2017. – Vol. 13. – № 5. – P. 291-301.
92. Metabolomic study of collagen-induced arthritis in rats and the interventional effects of Huang-Lian-Jie-Du-Tang, a traditional Chinese medicine / R. Yue, L. Zhao, Y. Hu [et al.] // *Evidence-based complementary and alternative medicine*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 439690.
93. Characterization of rheumatoid arthritis subtypes using symptom profiles, clinical chemistry and metabolomics measurements / H.A. van Wietmarschen, W. Dai, A.J. van der Kooij [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – № 9. – P. e44331.
94. The mitochondrial carnitine/acylcarnitine carrier: function, structure and physiopathology / C. Indiveri, V. Iacobazzi, A. Tonazzi [et al.] // *Molecular aspects of medicine*. – 2011. – Vol. 32. – № 4-6. – P. 223-233.
95. Acylcarnitines: nomenclature, biomarkers, therapeutic potential, drug targets, and clinical trials / M. Dambrova, M. Makrecka-Kuka, J. Kuka [et al.] // *Pharmacological reviews*. – 2022. – Vol. 74. – № 3. – P. 506-551.

96. Zales, V.R. Reversible cardiomyopathy due to carnitine deficiency from renal tubular wasting / V.R. Zales, D.W. Benson Jr. // *Pediatric cardiology*. – 1995. – Vol. 16. – № 2. – P. 76-78.
97. Primary carnitine deficiency due to a failure of carnitine transport in kidney, muscle, and fibroblasts / W.R. Treem, C.A. Stanley, D.N. Finegold [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 1988. – Vol. 319. – № 20. – P. 1331-1336.
98. Construct validation of the ACR 1991 revised criteria for global functional status in rheumatoid arthritis / G. Stucki, T. Stoll, P. Brühlmann [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. – 1995. – Vol. 13. – № 3. – P. 349-352.
99. Plasma acylcarnitine profiles suggest incomplete long-chain fatty acid  $\beta$ -oxidation and altered tricarboxylic acid cycle activity in type 2 diabetic African-American women / S.H. Adams, C.L. Hoppel, K.H. Lok [et al.] // *The Journal of nutrition*. – 2009. – Vol. 139. – № 6. – P. 1073-1081.
100. Acylcarnitines activate proinflammatory signaling pathways / J.M. Rutkowsky, T.A. Knotts, K.D. Ono-Moore [et al.] // *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*. – 2014. – Vol. 306. – № 12. – P. E1378-E1387.
101. Blood cytokine patterns suggest a modest inflammation phenotype in subjects with long-chain fatty acid oxidation disorders / C.S. McCain, M.B. Gillingham, T.A. Knotts [et al.] // *Physiological reports*. – 2019. – Vol. 7. – № 6. – P. e14037.
102. Fatty acid metabolites combine with reduced  $\beta$  oxidation to activate Th17 inflammation in human type 2 diabetes / D.A. Nicholas, E.A. Proctor, M. Agrawal [et al.] // *Cell metabolism*. – 2019. – Vol. 30. – № 3. – P. 447-461.
103. Methyl- $\gamma$ -butyrobetaine decreases levels of acylcarnitines and attenuates the development of atherosclerosis / R. Vilskersts, J. Kuka, E. Liepinsh [et al.] // *Vascular pharmacology*. – 2015. – Vol. 72. – P. 101-107.
104. Long-chain acylcarnitine content determines the pattern of energy metabolism in cardiac mitochondria / M. Makrecka, J. Kuka, K. Volska [et al.] // *Molecular and cellular biochemistry*. – 2014. – T. 395. – № 1-2. – C. 1-10.

105. Acute and long-term administration of palmitoylcarnitine induces muscle-specific insulin resistance in mice / E. Liepinsh, M. Makrecka-Kuka, E. Makarova [et al.] // *Biofactors*. – 2017. – Vol. 43. – № 5. – P. 718-730.
106. He, Z. Biomarker identification and pathway analysis of rheumatoid arthritis based on metabolomics in combination with ingenuity pathway analysis / Z. He, Z. Liu, L. Gong // *Proteomics*. – 2021. – Vol. 21. – № 11-12. – P. 2100037.
107. Metabolomics in rheumatoid arthritis: Advances and review / L. Xu, C. Chang, P. Jiang [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 961708.
108. Serum metabolic signatures of four types of human arthritis / M. Jiang, T. Chen, H. Feng [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2013. – Vol. 12. – № 8. – P. 3769-3779.
109. Liu, Y. Metabolomics approach to the exploration of amino acids metabolism changes associated with disease progression in a rat model of adjuvant-induced arthritis / Y. Liu, Y. Xie // *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology*. – 2021. – Vol. 40. – № 4. – P. 43-52.
110. Nandakumar, K.S. Efficient promotion of collagen antibody induced arthritis (CAIA) using four monoclonal antibodies specific for the major epitopes recognized in both collagen induced arthritis and rheumatoid arthritis / K.S. Nandakumar, R. Holmdahl // *Journal of immunological methods*. – 2005. – Vol. 304. – № 1-2. – P. 126-136.
111. Role of amino acids in rheumatoid arthritis studied by metabolomics / M. He, A.C. Harms, E. van Wijk [et al.] // *International journal of rheumatic diseases*. – 2019. – Vol. 22. – № 1. – P. 38-46.
112. Regulation and function of proline oxidase under nutrient stress / J. Pandhare, S.P. Donald, S.K. Cooper [et al.] // *Journal of cellular biochemistry*. – 2009. – Vol. 107. – № 4. – P. 759-768.
113. LC-MS-based serum metabolomics reveals a distinctive signature in patients with rheumatoid arthritis / J. Li, N. Che, L. Xu [et al.] // *Clinical rheumatology*. – 2018. – Vol. 37. – № 6. – P. 1493-1502.
114. Метаболомные изменения при ревматоидном артрите: фокус на генно-инженерную биологическую терапию / Л.М. Мусаева, И.В. Меньшикова, С.А.

Апполонова, К.М. Шестакова // Клинический разбор в общей медицине. – 2024. – Т. 5. – № 11. – С. 62-69.

115. Fernstrom, J.D. Branched-chain amino acids and brain function / J.D. Fernstrom // The Journal of nutrition. – 2005. – Vol. 135. – № 6. – P. 1539S-1546S.

116. Hagenfeldt, L. Influence of leucine on arterial concentrations and regional exchange of amino acids in healthy subjects / L. Hagenfeldt, S. Eriksson, J. Wahren // Clinical Science (London, England: 1979). – 1980. – Vol. 59. – № 3. – P. 173-181.

117. Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women / K.M. Huffman, S.H. Shah, R.D. Stevens [et al.] // Diabetes care. – 2009. – Vol. 32. – № 9. – P. 1678-1683.

118. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance / C.B. Newgard, J. An, J.R. Bain [et al.] // Cell metabolism. – 2009. – Vol. 9. – № 4. – P. 311-326.

119. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets / G.R. Drummond, S. Selemidis, K.K. Griendling [et al.] // Nature reviews. Drug discovery. – 2011. – Vol. 10. – № 6. – P. 453-471.

120. High concentration of branched-chain amino acids promotes oxidative stress, inflammation and migration of human peripheral blood mononuclear cells via mTORC1 activation / O. Zhenyukh, E. Civantos, M. Ruiz-Ortega [et al.] // Free radical biology & medicine. – 2017. – Vol. 104. – P. 165-177.

121. Determination of heterogeneous proteomic and metabolomic response in anti-TNF and anti-IL-6 treatment of patients with rheumatoid arthritis / A.A. Stepanov, K.A. Malsagova, A.T. Kopylov [et al.] // Life. – 2023. – Vol. 13. – № 2. – P. 596.

122. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands / B. Lamas, M.L. Richard, V. Leducq [et al.] // Nature medicine. – 2016. – Vol. 22. – № 6. – P. 598-605.

123. Agus, A. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease / A. Agus, J. Planchais, H. Sokol // Cell host & microbe. – 2018. – Vol. 23. – № 6. – P. 716-724.

124. Interferon- $\gamma$ -induced conversion of tryptophan: immunologic and neuropsychiatric aspects / B. Wirleitner, G. Neurauter, K. Schröcksnadel [et al.] // *Current medicinal chemistry*. – 2003. – Vol. 10. – № 16. – P. 1581-1591.
125. Decreased serum tryptophan in patients with HIV-1 infection correlates with increased serum neopterin and with neurologic/psychiatric symptoms / D. Fuchs, A.A. Möller, G. Reibnegger [et al.] // *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. – 1990. – Vol. 3. – № 9. – P. 873-876.
126. Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis / K. Schroecksnadel, C. Winkler, C. Duftner [et al.] // *Clinical rheumatology*. – 2006. – Vol. 25. – № 3. – P. 334-337.
127. Boros, F.A. Immunomodulatory effects of genetic alterations affecting the kynurenine pathway / F.A. Boros, L. Vécsei // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2570.
128. Counteracting tryptophan metabolism alterations as a new therapeutic strategy for rheumatoid arthritis / D. Moulin, M. Millard, M. Taïeb [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases*. – 2024. – Vol. 83. – № 3. – P. 312-323.
129. Кривова, А.В. Метаболомное профилирование у пациентов с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью : диссертация ... кандидата медицинских наук : 3.1.20. / Кривова Анастасия Викторовна; [Место защиты: ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) ; Диссовет ДСУ 208.001.21]. – Москва, 2023. – 153 с.
130. Regulation of glucose transporter protein-1 and vascular endothelial growth factor by hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  under hypoxic conditions in Hep-2 human cells / O. Xu, X. Li, Y. Qu [et al.] // *Molecular medicine reports*. – 2012. – Vol. 6. – № 6. – P. 1418-1422.
131. Circular RNA circRNF20 promotes breast cancer tumorigenesis and Warburg effect through miR-487a/HIF-1 $\alpha$ /HK2 / L. Cao, M. Wang, Y. Dong [et al.] // *Cell death & disease*. – 2020. – Vol. 11. – № 2. – P. 145.

132. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1 / W. Luo, H. Hu, R. Chang [et al.] // *Cell*. – 2011. – Vol. 145. – № 5. – P. 732-744.
133. Metformin attenuates hepatoma cell proliferation by decreasing glycolytic flux through the HIF-1 $\alpha$ /PFKFB3/PFK1 pathway / L. Hu, Z. Zeng, Q. Xia [et al.] // *Life sciences*. – 2019. – Vol. 239. – P. 116966.
134. Angiogenic activity of pyruvic acid in in vivo and in vitro angiogenesis models / M.S. Lee, E.J. Moon, S.W. Lee [et al.] // *Cancer research*. – 2001. – Vol. 61. – № 8. – P. 3290-3293.
135. McGettrick, A.F. How metabolism generates signals during innate immunity and inflammation / A.F. McGettrick, L.A.J. O'Neill // *Journal of biological chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – № 32. – P. 22893-22898.
136. Lactate buildup at the site of chronic inflammation promotes disease by inducing CD4<sup>+</sup> T cell metabolic rewiring / V. Pucino, M. Certo, V. Bulusu [et al.] // *Cell metabolism*. – 2019. – Vol. 30. – № 6. – P. 1055-1074.e8.
137. Lactate-induced M2 polarization of tumor-associated macrophages promotes the invasion of pituitary adenoma by secreting CCL17 / A. Zhang, Y. Xu, H. Xu [et al.] // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 8. – P. 3839-3852.
138. Quiñonez-Flores, C.M. Hypoxia and its implications in rheumatoid arthritis / C.M. Quiñonez-Flores, S.A. González-Chávez, C. Pacheco-Tena // *Journal of biomedical science*. – 2016. – Vol. 23. – № 1. – P. 62.
139. Serum amino acid profiles and their alterations in colorectal cancer / A.B. Leichtle, J.M. Nuoffer, U. Ceglarek [et al.] // *Metabolomics*. – 2012. – Vol. 8. – № 4. – P. 643-653.
140. Madsen, R. Chemometrics in metabolomics—a review in human disease diagnosis / R. Madsen, T. Lundstedt, J. Trygg // *Analytica chimica acta*. – 2010. – Vol. 659. – № 1-2. – P. 23-33.
141. Кожевникова, М.В. Метаболомное профилирование в диагностике и прогнозировании хронической сердечной недостаточности различной этиологии: дис. ... д-ра. мед. наук: 3.1.20 / Кожевникова Мария Владимировна; [Место защиты: ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет

- имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) ; Диссовет ДСУ 208.001.21]. – Москва, 2024. – 234 с.
142. HMDB 5.0: HMDB 5.0: the human metabolome database for 2022 / D.S. Wishart, A. Guo, E. Oler [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2022. – Vol. 50. – № D1. – С. D622-D631.
143. Data analysis strategies for targeted and untargeted LC-MS metabolomic studies: overview and workflow / E. Gorrochategui, J. Jaumot, S. Lacorte, R. Tauler // *Trends in analytical chemistry*. – 2016. – Vol. 82. – P. 425-442.
144. Подгорский, В.В. Что такое метаболомика? / В.В. Подгорский / *Метаболомика: анализ биохимического ответа живых систем вчера, сегодня, завтра*. Глава 1. – 2019. – С. 4-15.
145. Evaluating treatment responsiveness in rheumatoid arthritis through predictive metabolomic profiling: A systematic review of studies examining methotrexate, TNF, and IL-6 inhibitors as therapeutic interventions / L.M. Musaeva, K.M. Shestakova, S.N. Baskhanova [et al.] // *Clinical rheumatology*. – 2025. – Vol. 44. – № 3. – P. 923-952.
146. Extensive evaluation of sample preparation workflow for gas chromatography-mass spectrometry-based plasma metabolomics and its application in rheumatoid arthritis / Z. He, Q. Luo, Z. Liu, L. Gong // *Analytica Chimica Acta*. – 2020. – Vol. 1131. – P. 136-145.
147. GC/TOF-MS-based metabolomic profiling in cultured fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis / J.K. Ahn, S. Kim, J. Hwang // *Joint Bone Spine*. – 2016. – Vol. 83. – № 6. – P. 707-713.
148. Metabolomic profiles of induced pluripotent stem cells derived from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis / J. Kim, S.C. Kang, N.E. Yoon [et al.] // *Stem cell research & therapy*. – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 1-13.
149. Glutaminase 1 plays a key role in the cell growth of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis / S. Takahashi, J. Saegusa, S. Sendo [et al.] // *Arthritis research & therapy*. – 2017. – Vol. 19. – № 1. – P. 76.

150. Glycerophospholipid metabolism is involved in rheumatoid arthritis pathogenesis by regulating the IL-6/JAK signaling pathway / J. Su, S. Li, J. Chen [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2022. – Vol. 600. – P. 130-135.
151. Plasma metabolomic profiling as a tool to identify predictive biomarkers of methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis / M.R. Medcalf, L.E. Bantis, P. Shi [et al.] // *Seminars in arthritis and rheumatism*. – 2022. – Vol. 56. – P. 152056.
152. Funk, R.S. Metabolomic profiling identifies exogenous and microbiota-derived metabolites as markers of methotrexate efficacy in juvenile idiopathic arthritis / R.S. Funk, M.L. Becker // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 768599.
153. Plasma metabolome normalization in rheumatoid arthritis following initiation of methotrexate and the identification of metabolic biomarkers of efficacy / M.R. Medcalf, P. Bhadbhade, T.R. Mikuls [et al.] // *Metabolites*. – 2021. – Vol. 11. – № 12. – P. 824.
154. Identification of metabolic biomarkers in relation to methotrexate response in early rheumatoid arthritis / H.R. Gosselt, I.B. Muller, G. Jansen [et al.] // *Journal of personalized medicine*. – 2020. – Vol. 10. – № 4. – P. 271.
155. Crosstalk between metabolism and epigenetic modifications in autoimmune diseases: a comprehensive overview / Z. Wang, H. Long, C. Chang [et al.] // *Cellular and molecular life sciences*. – 2018. – Vol. 75. – № 18. – P. 3353-3369.
156. Biomarkers identified by serum metabolomic analysis to predict biologic treatment response in rheumatoid arthritis patients / S. Takahashi, J. Saegusa, A. Onishi, A. Morinobu // *Rheumatology*. – 2019. – Vol. 58. – № 12. – P. 2153-2161.
157. Variations in the metabolome in response to disease activity of rheumatoid arthritis / Z. Tatar, C. Migne, M. Petera [et al.] // *BMC musculoskeletal disorders*. – 2016. – Vol. 17. – № 1. – P. 353.
158. <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomic study for identifying serum profiles associated with the response to etanercept in patients with rheumatoid arthritis / R. Priori, L. Casadei, M. Valerio [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – № 11. – P. e0138537.
159. Metabolic profiling predicts response to anti-tumor necrosis factor  $\alpha$  therapy in patients with rheumatoid arthritis / S.R. Kapoor, A. Filer, M.A. Fitzpatrick [et al.] // *Arthritis & rheumatism*. – 2013. – Vol. 65. – № 6. – P. 1448-1456.

160. Metabolomic profiling reveals plasma GlycA and GlycB as a potential biomarkers for treatment efficiency in rheumatoid arthritis / I. Dudka, A. Chachaj, A. Sebastian [et al.] // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2021. – Vol. 197. – P. 113971.
161. Plasma metabolomic profiling in patients with rheumatoid arthritis identifies biochemical features predictive of quantitative disease activity / B. Hur, V.K. Gupta, H. Huang [et al.] // *Arthritis research & therapy*. – 2021. – Vol. 23. – № 1. – P. 164.
162. Exploring the inflammatory metabolomic profile to predict response to TNF- $\alpha$  inhibitors in rheumatoid arthritis / B.V.J. Cuppen, J. Fu, H.A. van Wietmarschen [et al.] // *PloS one*. – 2016. – Vol. 11. – № 9. – P. e0163087.
163. Metabolomics profiling predicts outcome of tocilizumab in rheumatoid arthritis: an exploratory study / J.D. Murillo-Saich, C. Diaz-Torne, M.A. Ortiz [et al.] // *Metabolomics*. – 2021. – Vol. 17. – № 9. – P. 74.
164. Ревматоидный артрит. Клинические рекомендации : утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации / разработчик: Ассоциация ревматологов России. – Текст : электронный // Рубрикатор клинических рекомендаций : сайт. – 2021. – URL: [https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/250\\_2](https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/250_2) (дата обращения: 25.05.2025).
165. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry / US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). – Silver Spring, MD : Center for Drug Evaluation and Research, 2018. – 44 p. – URL: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> (дата обращения: 25.05.2025).
166. Метаболомные предикторы отсутствия ответа на терапию метотрексатом у пациентов с ревматоидным артритом / Л.М. Мусаева, И.В. Меньшикова, С.А. Апполонова, К.М. Шестакова // *Медицинский алфавит*. – 2025. – № 32. – С. 49-54.
167. Wold, S. PLS-regression: a basic tool of chemometrics / S. Wold, M. Sjöström, L. Eriksson // *Chemometrics and intelligent laboratory systems*. – 2001. – Vol. 58. – № 2. – P. 109-130.

168. Coutant, F. Shaping of monocyte-derived dendritic cell development and function by environmental factors in rheumatoid arthritis / F. Coutant // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 24. – P. 13670.
169. Роль своевременного контроля эффективности терапии ревматоидного артрита / Л.М. Мусаева, Ю.А. Прокофьева, И.В. Меньшикова, А.Э. Расулова // *Consilium Medicum*. – 2023. – Т. 25. – № 11. – С. 791-795.
170. Lipid, fatty acid, carnitine-and choline derivative profiles in rheumatoid arthritis outpatients with different degrees of periodontal inflammation / K. Beyer, S.A. Lie, B. Bjørndal [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 5332.
171. Long-chain acylcarnitines activate cell stress and myokine release in C2C12 myotubes: calcium-dependent and-independent effects / C.S. McCain, T.A. Knotts, K.D. Ono-Moore [et al.] // *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*. – 2015. – Vol. 308. – № 11. – P. E990-E1000.
172. Drenckhahn, D. Experimental myopathy induced by amphiphilic cationic compounds including several psychotropic drugs / D. Drenckhahn, R. Lüllmann-Rauch // *Neuroscience*. – 1979. – Vol. 4. – № 4. – P. 549-562.
173. Corr, P.B. Arrhythmogenic amphiphilic lipids and the myocardial cell membrane / P.B. Corr, R.W. Gross, B.E. Sobel // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 1982. – Vol. 14. – № 11. – P. 619-626.
174. Microbial tryptophan metabolism tunes host immunity, metabolism, and extraintestinal disorders / M. Liu, M. Nieuwdorp, W.M. de Vos, E. Rampanelli // *Metabolites*. – 2022. – Vol. 12. – № 9. – P. 834.
175. Kynurenine and neopterin levels in patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis during drug treatment / C.M. Forrest, A. Kennedy, T.W. Stone [et al.] // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2003. – Vol. 527. – P. 287-295.
176. Association of increased treg cell levels with elevated Indoleamine 2, 3-dioxygenase activity and an imbalanced Kynurenine pathway in Interferon-Positive primary Sjögren's syndrome / N.I. Maria, C.G. van Helden-Meeuwsen, Z. Brkic [et al.] // *Arthritis & rheumatology*. – 2016. – Vol. 68. – № 7. – P. 1688-1699.

177. Tryptophan metabolism in rheumatoid arthritis is associated with rheumatoid factor and predicts joint pathology evaluated by the rheumatoid arthritis MRI score (RAMRIS) / G. Pongratz, T. Lowin, P. Sewerin [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. – 2019. – Vol. 37. – № 3. – P. 450-457.
178. Synovial fibroblasts selectively suppress Th1 cell responses through IDO1-mediated tryptophan catabolism / L.O. Tykocinski, A.M. Lauffer, A. Bohnen [et al.] // *The journal of immunology*. – 2017. – Vol. 198. – № 8. – P. 3109-3117.
179. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells / J.D. Mezrich, J.H. Fechner, X. Zhang [et al.] // *The journal of immunology*. – 2010. – Vol. 185. – № 6. – P. 3190-3198.
180. Сравнительный анализ содержания триптофана и его метаболитов у пациентов с ревматоидным артритом и здоровых добровольцев / Л.М. Мусаева, И.В. Меньшикова, С.А. Апполонова [и др.] // *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. – 2025. – Т. 27. – № 8. – С. 82-88.
181. Modulation by melatonin of the pathogenesis of inflammatory autoimmune diseases / G.J. Lin, S.H. Huang, S.J. Chen [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2013. – Vol. 14. – № 6. – P. 11742-11766.
182. Melatonin serum levels in rheumatoid arthritis / A. Sulli, G.M. Maestroni, B. Villaggio [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 966. – № 1. – P. 276-283.
183. Roager, H.M. Microbial tryptophan catabolites in health and disease / H.M. Roager, T.R. Licht // *Nature communications*. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 3294.
184. Non-invasive assessment of coronary flow reserve and ADMA levels: a case-control study of early rheumatoid arthritis patients / M. Turiel, F. Atzeni, L. Tomasoni [et al.] // *Rheumatology*. – 2009. – Vol. 48. – № 7. – P. 834-839.
185. Elevated plasma asymmetric dimethyl-L-arginine levels are linked to endothelial progenitor cell depletion and carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis / A. Surdacki, J. Martens-Lobenhoffer, A. Wloch [et al.] // *Arthritis & rheumatism*. – 2007. – Vol. 56. – № 3. – P. 809-819.

186. Dimitroulas, T. Asymmetric dimethylarginine as a surrogate marker of endothelial dysfunction and cardiovascular risk in patients with systemic rheumatic diseases / T. Dimitroulas, A. Sandoo, G.D. Kitas // *International journal of molecular sciences*. – 2012. – Vol. 13. – № 10. – P. 12315-12335.
187. Cumulative inflammation associates with asymmetric dimethylarginine in rheumatoid arthritis: a 6 year follow-up study / A. Sandoo, T. Dimitroulas, J. Hodson [et al.] // *Rheumatology*. – 2015. – Vol. 54. – № 7. – P. 1145-1152.
188. Plasma arginine and ornithine are the main citrulline precursors in mice infused with arginine-free diets / J.C. Marini, I.C. Didelija, L. Castillo, B. Lee // *The journal of nutrition*. – 2010. – Vol. 140. – № 8. – P. 1432-1437.
189. Excitatory amino acids, TNF- $\alpha$ , and chemokine levels in synovial fluids of patients with active arthropathies / T. McNearney, B.A. Baethge, S. Cao [et al.] // *Clinical & experimental Immunology*. – 2004. – Vol. 137. – № 3. – P. 621-627.
190. Associations of plasma trimethylamine N-oxide, choline, carnitine, and betaine with inflammatory and cardiometabolic risk biomarkers and the fecal microbiome in the Multiethnic Cohort Adiposity Phenotype Study / B.C. Fu, M.A.J. Hullar, T.W. Randolph [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. – 2020. – Vol. 111. – № 6. – P. 1226-1234.
191. Ohta, A. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage / A. Ohta, M. Sitkovsky // *Nature*. – 2001. – Vol. 414. – № 6866. – P. 916-920.
192. Expression of specific inflammasome gene modules stratifies older individuals into two extreme clinical and immunological states / D. Furman, J. Chang, L. Lartigue [et al.] // *Nature medicine*. – 2017. – Vol. 23. – № 2. – P. 174-184.
193. Crosstalk among disrupted glutamatergic and cholinergic homeostasis and inflammatory response in mechanisms elicited by proline in astrocytes / S.O. Loureiro, D.S.V. Sidegum, H. Biasibetti [et al.] // *Molecular neurobiology*. – 2016. – Vol. 53. – P. 1065-1079.

194. Association between human metabolomics and rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis / L. Song, J. Wang, Y. Zhang [et al.] // Archives of medical research. – 2024. – Vol. 55. – № 1. – P. 102907.
195. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis / H.A. Elshabrawy, Z. Chen, M.V. Volin [et al.] // Angiogenesis. – 2015. – Vol. 18. – № 4. – P. 433-448.
196. Vettore, L.A. Proline metabolism and redox; maintaining a balance in health and disease / L.A. Vettore, R.L. Westbrook, D.A. Tennant // Amino Acids. – 2021. – Vol. 53. – № 12. – P. 1779-1788.
197. Metabolomics in the development and progression of rheumatoid arthritis: a systematic review / C. Li, B. Chen, Z. Fang [et al.] // Joint Bone Spine. – 2020. – Vol. 87. – № 5. – P. 425-430.
198. Rapid and precise measurement of serum branched-chain and aromatic amino acids by isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry / R. Yang, J. Dong, H. Guo [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 12. – P. e81144.
199. Mitchell, B.M. Phenylalanine improves dilation and blood pressure in GTP cyclohydrolase inhibition-induced hypertensive rats / B.M. Mitchell, A.M. Dorrance, R.C. Webb // Journal of cardiovascular pharmacology. – 2004. – Vol. 43. – № 6. – P. 758-763.
200. Immune activation and inflammation in patients with cardiovascular disease are associated with higher phenylalanine to tyrosine ratios: the ludwigshafen risk and cardiovascular health study / C. Murr, T.B. Grammer, A. Meinitzer [et al.] // Journal of amino acids. – 2014. – Vol. 2014. – P. 783730.
201. Ароматические аминокислоты: фенилаланин и тирозин у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца / А.В. Кривова, М.В. Кожевникова, Е.О. Коробкова [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2022. – Т. 18. – № 3. – С. 297-305.
202. Factors associated with elevated plasma phenylalanine in patients with heart failure / C.W. Cheng, M.H. Liu, H.Y. Tang [et al.] // Amino acids. – 2021. – Vol. 53. – № 2. – P. 149-157.

203. Lipid metabolomic signature might predict subclinical atherosclerosis in patients with active rheumatoid arthritis / C.K. Chang, K.H. Chang, W.C. Cheng [et al.] // *Clinical and experimental rheumatology*. – 2023. – Vol. 41. – № 5. – P. 1120-1128.
204. Mero, A. Leucine supplementation and intensive training / A. Mero // *Sports medicine*. – 1999. – Vol. 27. – № 6. – P. 347-358.
205. Isoleucine or valine deprivation stimulates fat loss via increasing energy expenditure and regulating lipid metabolism in WAT / Y. Du, Q. Meng, Q. Zhang, F. Guo // *Amino acids*. – 2012. – Vol. 43. – № 2. – P. 725.
206. Association of plasma branched-chain amino acid with biomarkers of inflammation and lipid metabolism in women / R. Hamaya, S. Mora, P.R. Lawler [et al.] // *Circulation: genomic and precision medicine*. – 2021. – Vol. 14. – № 4. – P. e003330.
207. The association between dietary intake of branched-chain amino acids and odds and severity of rheumatoid arthritis / M. Soleimani Damaneh, N. Aryaeian, S. Khajoenia [et al.] // *Scientific reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 6309.
208. Oxidative stress impairs energy metabolism in primary cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis / E. Balogh, D.J. Veale, T. McGarry [et al.] // *Arthritis research & therapy*. – 2018. – Vol. 20. – № 1. – P. 95.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Рентгенологическая стадия (по Штейнброкеру, в модификации)

Стадия	Рентгенологические изменения
1 стадия	околосуставной остеопороз
2 стадия	остеопороз + сужение суставной щели, могут быть единичные эрозии
3 стадия	признаки предыдущей стадии + множественные эрозии + подвывихи в суставах
4 стадия	признаки предыдущей стадии + костный анкилоз

Таблица А.2 – Функциональный класс

Функциональный класс	Критерии
I	полностью сохранены: самообслуживание, непрофессиональная и профессиональная деятельность
II	сохранены: самообслуживание, профессиональная деятельность, ограничена: непрофессиональная деятельность
III	сохранено: самообслуживание, ограничены: непрофессиональная и профессиональная деятельность
IV	ограничены: самообслуживание, непрофессиональная и профессиональная деятельность

Таблица А.3 – Индекс DAS28-СРБ

Активность ревматоидного артрита	Значение DAS28-СРБ
Ремиссия	$<2,6$
Низкая	$\geq 2,6$ и $\leq 3,2$
Умеренная	$>3,2$ и $\leq 5,1$
Высокая	$>5,1$