

Создание и применение диагностического индекса, основанного на многопараметрическом анализе биомаркеров, для определения активности ревматоидного артрита

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

ФГБУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» РАМН, Москва, Россия

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Контакты: Александр Александрович Новиков
irramnlab@rambler.ru

Contact:
Aleksandr Novikov
irramnlab@rambler.ru

Поступила 11.12.13



А.А. Новиков – ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН, канд. биол. наук



Е.Н. Александрова – заведующая лабораторией иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН, доктор мед. наук



Е.Л. Насонов – директор ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН, академик РАН, доктор мед. наук, профессор

Ревматоидный артрит (РА) – гетерогенное заболевание, в основе патогенеза которого лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные и нередко на физиологические стимулы. Современные противоревматические препараты позволяют эффективно подавлять воспалительный процесс и в значительной мере сдерживать прогрессирование болезни. Однако их потенциал может быть реализован в полной мере лишь при использовании соответствующей тактики лечения, при этом регулярный контроль активности заболевания является ключевым компонентом ведения больных РА. Количественная оценка статуса пациента дает возможность разрабатывать стандартизованные показания для применения противоревматической терапии. Применение для оценки активности заболевания клинических индексов не позволяет добиться полной объективности получаемых результатов. Создаются диагностические индексы, основанные на многопараметрическом анализе биомаркеров. Накопление информации об особенностях белкового профиля при РА привело к созданию индекса для определения активности заболевания, основанного на измерении концентраций биомаркеров, ассоциирующихся со значениями как клинических индексов, так и их компонентов (multi-biomarker disease activity, MBDA) – VECTRA DA. В настоящее время MBDA является единственным клинически апробированным лабораторным индексом, который может быть использован для мониторинга активности РА, прогнозирования степени прогрессирования деструктивного поражения суставов, эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; биомаркеры; диагностический индекс.

Для ссылки: Новиков АА, Александрова ЕН, Насонов ЕЛ. Создание и применение диагностического индекса, основанного на многопараметрическом анализе биомаркеров, для определения активности ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2014;52(1):72–78.

ELABORATION AND APPLICATION OF THE DIAGNOSTIC INDEX BASED ON MULTIVARIATE ANALYSIS OF BIOMARKERS TO DETERMINE THE ACTIVITY OF RHEUMATOID ARTHRITIS

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

Rheumatoid arthritis (RA) is a heterogeneous disease. The pathogenesis of this disease is based on a complex combination of genetically determined and acquired defects of the regulatory mechanisms that limit the pathological activation of the immune system in response to potentially pathogenic stimuli and often to physiologic stimuli. Modern antirheumatic drugs can effectively suppress the inflammatory process and largely deter the disease progression. However, their potential can be fully used only provided that the appropriate treatment strategy is applied, with regular monitoring of disease activity being the key component in the management of RA patients. Quantitative assessment of the patient's status allows one to develop standardized indications for antirheumatic therapy. Application of clinical indices for assessment of the disease activity does not guarantee complete objectivity of the results. Diagnostic indices based on multivariate analysis of biomarkers are being elaborated. Accumulation of the data on features of protein profile in RA patients gave grounds for elaborating an index to determine disease activity. This index is based on measuring concentration of biomarkers associated both with clinical indices and their components (multi-biomarker disease activity, MBDA) – VECTRA DA. MBDA is currently the only clinically proven laboratory index that can be used to monitor RA activity and to predict the progression degree of destructive joint disease and therapy effectiveness.

Keywords: rheumatoid arthritis; biomarkers; diagnostic index.

For references: Novikov AA, Aleksandrova EN, Nasonov EL. Elaboration and application of the diagnostic index based on multivariate analysis of biomarkers to determine the activity of rheumatoid arthritis. Rheumatology Science and Practice. 2014;52(1):72–78. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2014-72-78>

Ревматоидный артрит (РА) — гетерогенное заболевание, в основе патогенеза которого лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные и нередко на физиологические стимулы [1]. Этим определяется чрезвычайное разнообразие клинических, патологических и иммунологических проявлений, сочетание которых делает РА похожим на клинко-иммунологический синдром. Современные противоревматические препараты позволяют эффективно подавлять воспалительный процесс и в значительной мере сдерживать прогрессирование болезни. Однако их потенциал может быть реализован в полной мере лишь при использовании соответствующей тактики лечения. Опыт таких клинических исследований, как TICORA, CAMERA, BeSt, FinRACO, и результаты работы Международной экспертной комиссии по лечению до достижения цели (Treatment to Target Expert Committee) показали, что регулярный контроль активности заболевания является ключевым компонентом ведения больных РА [2–5]. Количественная оценка статуса пациента дает возможность разрабатывать стандартизованные показания для применения противоревматической терапии [6]. В применяющиеся для оценки активности заболевания индексы Disease Activity Score (DAS), Simplified Disease Activity Index (SDAI) и Clinical Disease Activity Index (CDAI) входит оценка ряда клинических параметров врачом и общая оценка активности больным (ООАБ), а Routine Assessment of Patient Index Data-3 (RAPID-3) полностью основан на оценке собственного состояния пациентом. Лабораторные показатели: СОЭ и уровень С-реактивного белка (СРБ), входящие в DAS28-СОЭ/DAS28-СРБ и SDAI не являются специфичными для РА маркерами воспаления [7–16]. Все вышеперечисленное не может не влиять на объективность получаемых результатов. В связи с этим ведется поиск протеомных биомаркеров, способных наиболее точно отражать активность РА.

В ходе прогрессирования РА в периферической крови происходит достоверное изменение уровней различных аутоантител, острофазовых белков, цитокинов, маркеров хрящевого и костного метаболизма [17, 18]. Развитие протеомных технологий, позволяющих одновременно определять множество аналитов в одном образце биоматериала, позволило создавать диагностические индексы, основанные на многопараметрическом анализе биомаркеров, — многопараметрические диагностические индексы (МДИ). Так, в онкологии, кардиологии и эндокринологии уже

применяются МДИ, полученные на основе анализа геномных и протеомных данных [19–24]. Накопление информации об особенностях белкового профиля при РА привело к созданию МДИ для определения активности заболевания, основанных на измерении концентраций биомаркеров, ассоциирующихся со значениями как клинических индексов, так и их компонентов. В зарубежной литературе описано два подобных МДИ. Первый, основанный на связи изменения плазменных концентраций интерлейкина 6 (ИЛ6), макрофагального белка воспаления 3, трансформирующего фактора роста α , хемокина CXCL13, макрофагального колониестимулирующего фактора и 4-1BB-лиганда со степенями активности РА, не получил внедрения в клиническую практику [25]. Для создания второго индекса (multi-biomarker disease activity, MBDA) был применен мультистадийный подход, включающий в себя поиск, валидацию биомаркеров и создание на основании полученных данных MBDA (табл. 1) [26].

В данном исследовании принимали участие пациенты из США (Oklahoma City cohort — OK; Brigham and Woman's Rheumatoid Arthritis Sequential Study — BRASS; Index For Rheumatoid Arthritis Measurement — InFoRM), Великобритании, Нидерландов (Computer-Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis — CAMERA), получавшие различную противоревматическую терапию (табл. 2). Включение в исследование большой и гетерогенной группы больных авторы обосновывают необходимостью выделения популяционно независимых биомаркеров и увеличения статистической значимости ожидаемых результатов (см. табл. 2) [26]. Однако следует учитывать, что в дизайне исследования существуют и отрицательно влияющие на его достоверность аспекты: вариабельность результатов при определении концентраций биомаркеров различными методами, обладающими различными аналитическими характеристиками, а также популяционные и демографические особенности обследованных групп больных.

На первом этапе исследования проводился первичный отбор биомаркеров с использованием данных литературы в текстовой базе медицинских и биологических публикаций Национального центра биотехнологической информации США (NCBI) — PubMed и привлечением таких биоинформационных средств, как программа IRIDESCENT (for Implicit Relationship IDentification by in-Silico Construction of an Entity-based Network from Text) и Ingenuity Pathways Analysis (Ingenuity Systems, Inc, США) [27]. Последующее определение биомаркеров в сыворотке крови проводилось с использованием иммуноферментно-

Таблица 1 Алгоритм создания MBDA для определения активности РА*

Этап	Стадия	Биомаркеры, n	Пациенты, n	Образцы сыворотки крови, n
1. Поиск кандидатных биомаркеров	—	130	20	20
2. Валидация кандидатных биомаркеров	I	113	128	128
	II	75	320	320
	III	65	85	255
	IV	16	119	119
3. Валидация MBDA	—	25 [#]	24	107
4. Апробация MBDA	—	25	708	708

Примечание. *Адаптировано [26]; [#] — добавлены биомаркеры, потенциально связанные с развитием эрозивного поражения суставов.

Таблица 2 Клинико-лабораторная характеристика пациентов с РА, вошедших в исследование*

Показатель	Стадии валидации биомаркеров				Валидация MBDA
	I	II	III	IV	
Число пациентов/биообразцов [#]	128/128	320/320	85/255	119/119	24/107
Доля женщин, %	82	80	91	77	75
Средний возраст, годы, М±SD	60±13	59±14	59±13	60±14	56±13
Доля курящих, %	н/д	13	4	22	н/д
СРБ, мг/л, Ме [25-й; 75-й перцентили]	14 [4,0; 32]	14 [5,1; 45]	14 [4,0; 47]	18 [6,9; 47]	25 [7,6; 70]
РФ+, %	83	83	64	97	н/д
АЦЦП+, %	63	62	62	61	н/д
DAS28-СРБ, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5,8 [4,7; 6,5]	4,0 [2,9; 5,3]	3,8 [2,7; 5,0]	5,2 [4,1; 6,2]	3,3 [2,2; 4,4]
ЧБС, Ме [25-й; 75-й перцентили]	12 [4,8; 20,0]	2,0 [0; 8,3]	7,0 [2,0; 14]	8,0 [3,0; 15]	3,0 [0,0; 8,0]
ЧПС, Ме [25-й; 75-й перцентили]	16 [12; 21]	6,5 [2; 13]	2,0 [0,0; 10]	14 [8,0; 20]	4,0 [1,0; 7,0]
ОААБ, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5,0 [2,9; 7,0]	2,5 [1,0; 5,0]	3,0 [1,0; 5,0]	5,0 [2,0; 6,5]	н/д
Метотрексат, %	53	61	48	64	100
НПВП, %	69	76	64	81	100
ГК, %	24	27	27	33	н/д
ГИБП, %	65	53	43	50	50

Примечание. *Адаптировано [26]; [#] – сыворотка крови, н/д – нет данных, РФ – ревматоидный фактор, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты, ГИБП – генно-инженерные биологические препараты, ГК – глюкокортикоиды.

го анализа (ИФА), технологий xMAP и Meso Scale Discovery (MSD) [28]. В процессе разработки MBDA определялась степень ассоциации каждого биомаркера с такими индексами активности РА, как DAS28-СРБ, DAS28-СОЭ, CDAI, SDAI, а также числом припухших (ЧПС) и болезненных (ЧБС) суставов, ОААБ [29]. В ходе статистической обработки при сведении данных из нескольких источников возникла необходимость их нормировки. Вычислялись коэффициенты корреляции Пирсона, Спирмена, при многопараметрическом анализе применялся метод наименьших квадратов (Ordinary Least Squares – OLS) и понижения размерности (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator – LASSO), а также модель Elastic Net [30, 31]. В ходе второго этапа отбирались биомаркеры, наиболее сильно связанные с индексом активности РА (DAS28-СРБ), его отдельными параметрами, а также с ультразвуковыми признаками синовита, общим счетом Sharp/van der Heijde. На третьем этапе из отобранных биомаркеров формировался MBDA. После оценки статистической силы связи с DAS28-СРБ его диагностическая эффективность подтверждалась путем построения характеристической кривой (ROC-анализ). При тщательном анализе данных из 130 изначально выбранных биомаркеров в MBDA вошли 12. Так, например, были исключены: ИЛ8 из-за нестабильности уровня в сыворотке, ИЛ1β – в связи с недостоверностью измерения его содержания в биообразцах, а также обладающие низкой диагностической точностью передиолин, кальпротектин, апополипротеины AI и CIII. В результате наряду с СРБ, отражающим активность воспалительного процесса при РА, MBDA составили: ключевой провоспалительный цитокин ИЛ6; рецептор фактора некроза опухоли α (ФНОα) первого типа (ФНОР1); ростовые факторы: эпидермальный фактор роста (ЭФР) и васкулоэндотелиальный фактор роста (ВЭФР); хрящевой гликопротеин 39 (YKL-40); матриксные металлопротеиназы (ММП) 1 и 3; сывороточный амилоидный белок А (САА); адипоцитокينات: лептин и резистин. ИЛ6 синтезируется лимфоцитами, моноцитами, нейтрофила-

ми, эозинофилами, В-клетками, фибробластами, тучными клетками, эндотелиальными клетками, синовиальными фибробластами и макрофагами. При РА наблюдается значительное увеличение уровня ИЛ6 в синовиальной ткани, синовиальной жидкости и плазме крови [32–34]. Патогенетическое действие ИЛ6 при РА состоит в стимуляции пролиферации В-клеток, секреции иммуноглобулинов, синтеза СРБ, дифференцировки плазматических клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. ИЛ6 может принимать участие в развитии окколосуставного остеопороза и суставной деструкции через влияние на дифференцировку остеокластов и увеличение активности протеолитического фермента аггреканазы и ускорения деградации протеогликана [34]. ФНОР1 – рецептор, экспрессирующийся на клеточных мембранах и ответственный за инициацию транскрипции генов, а при определенных условиях индуцирующий апоптоз [35, 36]. ФНОР1, реагируя с мембранной протеиназой «ФНОα-конвертирующим энзимом» (ТАСЕ), переходит в растворимую форму, являющуюся естественным антагонистом ФНОα [37]. Важно отметить, что концентрация этого рецептора возрастает именно при РА, что может способствовать дифференцировке этого заболевания с подагрическим артритом и остеоартрозом. При РА происходит гиперсекреция ЭФР макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками синовиальной ткани. ЭФР принимает участие в развитии процессов пролиферации и дифференциации стромальных клеток, а также индуцирует гиперпродукцию провоспалительных медиаторов и протеиназ данным типом клеток [38–41]. ВЭФР секретируется макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, полиморфно-ядерными клетками [42, 43]. Он участвует в неоангиогенезе, стимулируя пролиферацию эндотелиальных клеток и образование новых сосудов. При РА отмечено повышение секреции ВЭФР клетками синовиальной оболочки и увеличение его концентрации в синовиальной жидкости и сыворотке крови. ВЭФР-опосредованный рост сосудистой ткани играет важную роль в патогенезе РА и является характер-

ным признаком ревматоидного синовита на ранних стадиях. Также ВЭФР способен повышать проницаемость сосудов, увеличивая отеки и соответственно степень припухлости суставов [44]. ММП1 синтезируется фибробластами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, эндотелиальными клетками и остеобластами. Ее продукцию могут стимулировать такие цитокины, как ФНО α и ЭФР. ММП1 опосредует деградацию коллагеновых нитей при remodelировании экстрацеллюлярного матрикса [45]. ММП3 участвует в процессах тканевого remodelирования, является активатором ММП1 и катализатором деградации таких компонентов соединительной ткани, как протеогликаны, коллагены, ламинин, фибронектин [46, 47]. YKL-40 секретируется, главным образом, хондроцитами и дифференцированными макрофагами и способен стимулировать пролиферацию хондроцитов и фибробластов, тем самым замедляя хрящевую деструкцию. У пациентов с РА обнаружен слабый Т-клеточный ответ на данный гликопротеин [48–52]. К синтезу лептина и резистина, кроме жировой, способны синовиальная и костная ткани. Эти адипоцитокнины участвуют в процессах костного remodelирования. Выявлена корреляция между уровнями циркулирующего резистина и СРБ. Этот факт позволил предположить, что гиперрезистинемия может служить маркером системного воспаления, в пользу чего свидетельствует и высокое содержание резистина в сыворотке пациентов с РА [53–63]. САА является острофазовым белком, синтезируемым гепатоцитами, синовиальными фибробластами и хондроцитами. Он способен индуцировать провоспалительную активность фибробластов, макрофагов, Т-клеток, хемотаксис, а также экспрессию молекул адгезии и ММТ [64–68].

Изменения уровней этих 12 биомаркеров, вовлеченных в патогенез РА, наиболее тесно связаны с ЧПС, ЧБС и ООАБ при РА [26]. Результаты оценки активности РА посредством MBDA выражаются в условных единицах от 1 до 100. Результат ≤ 29 соответствует низкой активности; 30–44 – умеренной; ≥ 45 – высокой [69]. При дальнейшей валидации MBDA показал среднюю степень корреляции ($r=0,57$) с DAS28-СРБ и «хорошую» диагностическую эффективность согласно оценке площади под ROC-кривой – 0,76 [70]. Данные о согласованности MBDA с DAS28-COЭ ($r=0,66$), SDAI ($r=0,67$), CDAI ($r=0,56$), а также его способности отражать активность заболевания

в динамике были получены на когорте пациентов с ранним РА ($n=125$) включенных в исследование BeSt (Behandel Strategieën, Нидерланды) [71]. Кроме этого существует возможность использования MBDA для выявления ремиссии заболевания и оценки рентгенологического прогрессирования у пациентов с низкой активностью РА [72–74]. Представляется интересным, что MBDA в равной степени коррелирует с клиническими проявлениями активности заболевания как при РА, так и при недифференцированном артрите [75]. В клинической практике оценка динамики MBDA может использоваться для решения вопроса о коррекции терапии (отмена, смена дозировки, добавление или назначение препарата другой фармакологической группы). Так, по данным W. Li и соавт. [76], подобные решения принимались клиницистами в 38% случаев.

Все больший интерес вызывает возможность применения MBDA для оценки эффективности терапии РА. Продемонстрировано, что MBDA способен отражать риск развития рентгенологических признаков суставной деструкции у больных ранним РА в течение первого года монотерапии РА метотрексатом или его комбинацией с преднизолоном [77, 78]. Годовой анализ динамики значений MBDA при терапии РА ингибиторами ФНО α (адалимумаб, этанерцепт, инфликсимаб) показал возможность его использования для предсказания развития синовита (на 26-й неделе терапии) и рентгенологических признаков суставной деструкции (на 24-й неделе) [79, 80]. При терапии ингибитором рецептора ИЛ6 тоцилизумабом отмечено снижение содержания всех биомаркеров, входящих в индекс, при этом его значения достоверно коррелировали с результатами определения DAS28-COЭ ($p=0,54$), CDAI ($p=0,31$), SDAI ($p=0,54$) до начала и DAS28-COЭ ($r=0,47$) CDAI ($r=0,37$) на 52-й неделе терапии [81]. Сходные данные о взаимосвязи значений MBDA и вышеперечисленных клинических индексов активности РА получены и на фоне применения ингибитора Янус-киназы (JAK) тофацитиниба (табл. 3) [82]. Таким образом, в настоящее время MBDA (VECTRA DA) является единственным клинически апробированным лабораторным индексом, который может применяться для мониторинга активности РА, прогноза степени прогрессирования деструктивного поражения суставов и эффективности проводимой терапии.

Таблица 3 Связь MBDA с активностью и клиническими признаками РА

Исследование или препарат	n	Длительность, годы	Связь с активностью и клиническими признаками РА						Источник
			DAS28-CO3	DAS28-CPБ	SDAI	CDAI	HAQ	суставная деструкция	
Исследование									
Leiden	271	1		+				+	[73]
InFoRM, BRASS, Leiden	230	12		+					[70]
BeST	125	1	+			+	+		[71]
CAMERA	120	2		+				—	[2]
CAMERA-II	104	1	+						[78]
Препараты									
Ингибиторы ФНОα	52	0,5							[79]
	141	1	+					+	[80]
Тоцилизумаб	52	1	+		+	+			[81]
Тофацитиниб	37	1	+			+		+	[82]

ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов ЕЛ, редактор. Ревматология. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008: С. 290–331. [Nasonov EL, editor. Revmatologiya. Natsional'noe rukovodstvo. Moscow: GEOTAR-Media; 2008: P. 290–331.]
2. Bakker MF, Jacobs JW, Verstappen SM, et al. Tight control in the treatment of rheumatoid arthritis: efficacy and feasibility. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(30):56–60.
3. Verstappen S, Jacobs J, van der Veen M, et al. Intensive treatment with methotrexate in early rheumatoid arthritis: aiming for remission. Computer Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis (CAMERA, an open-label strategy trial). *Ann Rheum Dis.* 2007;66(11):1443–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2007.071092>. Epub 2007 May 22.
4. Mease PJ. Improving the routine management of rheumatoid arthritis: the value of tight control. *J Rheumatol.* 2010;37(8):1570–8. DOI: 10.3899/jrheum.091064. Epub 2010 Jul 1.
5. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma J, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(4):631–7. DOI: 10.1136/ard.2009.123919. Epub 2010 Mar 9.
6. Олюнин ЮА. Оценка статуса больных ревматоидным артритом. Научно-практическая ревматология. 2012;50(1):9–13. [Olyunin YA. Otsenka statusa bol'nykh revmatoidnym artritom. Rheumatology Science and Practice. 2012;50(1):9–13.] DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2012-497>.
7. Wells G, Becker JC, Teng J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):954–60. DOI: 10.1136/ard.2007.084459. Epub 2008 May 19.
8. Fransen J, van Riel P. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Clin Exp Rheumatol.* 2005; 23(5 Suppl 39):S93–9.
9. Pincus T, Swearingen CJ, Bergman M, Yazici Y. RAPID3 (Routine Assessment of Patient Index Data 3), a rheumatoid arthritis index without formal joint counts for routine care: proposed severity categories compared to disease activity score and clinical disease activity index categories. *J Rheumatol.* 2008;35(11):2136–47. DOI: <http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.080182>. Epub 2008 Sep 15.
10. Uhlig T, Kvien TK, Pincus T. Test-retest reliability of disease activity core set measures and indices in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):972–5. DOI: 10.1136/ard.2008.097345. Epub 2008 Oct 28.
11. Ranzolin A, Brenol J, Bredemeier M, et al. Association of concomitant fibromyalgia with worse disease activity score in 28 joints, health assessment questionnaire, and short form 36 scores in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009;61(6):794–800. DOI: 10.1002/art.24430.
12. Leeb BF, Andel I, Sautner J, et al. The DAS28 in rheumatoid arthritis and fibromyalgia patients. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(12):1504–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/keh322>. Epub 2004 Jul 13.
13. Marhadour T, Jousse-Joulin S, Chale's G, et al. Reproducibility of joint swelling assessments in long-lasting rheumatoid arthritis: influence on Disease Activity Score-28 values (SEA-Repro study part I). *J Rheumatol.* 2010;37(5):932–7. DOI: 10.3899/jrheum.090879. Epub 2010 Apr 1.
14. Sokka T, Pincus T. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, or rheumatoid factor are normal at presentation in 35%–45% of patients with rheumatoid arthritis seen between 1980 and 2004: analyses from Finland and the United States. *J Rheumatol.* 2009;36(7):1387–90. DOI: 10.3899/jrheum.080770. Epub 2009 May 1.
15. Rhodes B, Merriman ME, Harrison A, et al. A genetic association study of serum acute-phase C-reactive protein levels in rheumatoid arthritis: implications for clinical interpretation. *PLoS Med.* 2010;7(9):e1000341. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000341>.
16. Keenan RT, Swearingen CJ, Yazici Y. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein levels are poorly correlated with clinical measures of disease activity in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and osteoarthritis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(5):814–9.
17. Doherty NS, Littman BH, Reilly K, et al. Analysis of changes in acute-phase plasma proteins in an acute inflammatory response and in rheumatoid arthritis using two-dimensional gel electrophoresis. *Electrophoresis.* 1998;19(2):355–63. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/elps.1150190234>.
18. Hueber W, Tomooka BH, Zhao X, et al. Proteomic analysis of secreted proteins in early rheumatoid arthritis: anti-citrulline autoreactivity is associated with up regulation of proinflammatory cytokines. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(6):712–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2006.054924>. Epub 2006 Aug 10.
19. Wang TJ, Gona P, Larson MG, et al. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *N Engl J Med.* 2006;355(25):2631–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa055373>.
20. Zethelius B, Berglund L, Sundström M, et al. Use of Multiple Biomarkers to Improve the Prediction of Death from Cardiovascular Causes. *N Engl J Med.* 2008;358(20):2107–16. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0707064>.
21. Van Bussel BC, Ferreira I, van de Waarenburg MP, et al. Multiple inflammatory biomarker detection in a prospective cohort study: a cross-validation between well-established single-biomarker techniques and an electrochemiluminescence-based multi-array platform. *PLoS One.* 2013;8(3):e58576. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0058576>.
22. Zhang Z. An In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay (IVDMIA) for ovarian cancer: harvesting the power of multiple biomarkers. *Rev Obstet Gynecol.* 2012;5(1):35–41.
23. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(23):3726–34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2005.04.7985>. Epub 2006 May 23.
24. Kolberg JA, Jorgensen T, Gerwien RW, et al. Development of a type 2 diabetes risk model from a panel of serum biomarkers from the Inter 99 cohort. *Diabetes Care.* 2009;32(7):1207–12. DOI: 10.2337/dc08-1935.
25. Rioja I, Hughes FJ, Sharp CH, et al. Potential novel biomarkers of disease activity in rheumatoid arthritis patients: CXCL13, CCL23, transforming growth factor alpha, tumor necrosis factor receptor superfamily member 9, and macrophage colony-stimulating factor. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2257–67. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.23667>.
26. Centola M, Cavet G, Shen Y, et al. Development of a multi-biomarker disease activity test for rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2013;8(4):e60635. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0060635>.
27. Holton W. Bioinformatics: literature searchlight. *Environ Health Perspect.* 2004;112(15):A872. DOI: <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.112-a872a>.
28. Nolan JP, Sklar LA. Suspension array technology: evolution of the flat-array paradigm. *TRENDS in Biotechnology.* 2002;20(1):9–12. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799\(01\)01844-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799(01)01844-3).
29. Benjamini Y, Hochberg M. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Statist Soc: Series B (Statistical Methodology).* 1995;57:289–300.
30. Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the lasso. *J Royal Statist Soc: Series B (Statistical Methodology).* 1996;58:267–88.

31. Zou H, Hastie T. Regularization and variable selection via the elastic net. *J Royal Statist Soc: Series B (Statistical Methodology)*. 2005;67:301–20.
32. Firestein G, Panayiand G, Wollheim F. Rheumatoid arthritis. Oxford: Oxford University Press; 2006. P. 173–92.
33. Brozik M, Rosztoczy I, Meretey K, et al. Interleukin 6 levels in synovial fluids of patients with different arthritides: correlation with local IgM rheumatoid factor and systemic acute phase protein production. *J Rheumatol*. 1992;19(1):63–8.
34. Dasgupta B, Corkill M, Kirkham B, et al. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1992;19(1):22–5.
35. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 2002;296(5573):1634–5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1071924>.
36. Taylor PC, Feldmann M. Anti-TNF biologic agents: still the therapy of choice for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2009;5(10):578–82. DOI: [10.1038/nrrheum.2009.181](http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2009.181).
37. Moss M, Sklair-Tavron L, Nudelman R. Drug insight: tumor necrosis factor-converting enzyme as a pharmaceutical target for rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(6):300–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ncprheum0797>.
38. Xu JW, Ma J, Li TF, et al. Expression of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha in interfacial membranes retrieved at revision total hip arthroplasty. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(10):822–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.59.10.822>.
39. Hiraoka K, Sasaguri Y, Komiya S, et al. Cell proliferation-related production of matrix metalloproteinases 1 (tissue collagenase) and 3 (stromelysin) by cultured human rheumatoid synovial fibroblasts. *Biochem Int*. 1992;27(6):1083–91.
40. Huh YH, Kim SH, Kim SJ, et al. Differentiation status-dependent regulation of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production by epidermal growth factor via mitogen-activated protein kinase in articular chondrocytes. *J Biol Chem*. 2003;278(11):9691–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M211360200>.
41. Wang Y, Ripperger J, Fey GH, et al. Modulation of hepatic acute phase gene expression by epidermal growth factor and Src protein tyrosine kinases in murine and human hepatic cells. *Hepatology*. 1999;30(3):682–97. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/hep.510300318>.
42. Brenchley PE. Antagonising angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(3):71–4.
43. Murakami M, Iwai S, Hiratsuka S, et al. Signaling of vascular endothelial growth factor receptor-1 tyrosine kinase promotes rheumatoid arthritis through activation of monocytes/macrophages. *Blood*. 2006;108(6):1849–56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-04-016030>.
44. Klimiuk P, Sierakowski S, Latosiewicz R, et al. Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(9):804–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.61.9.804>.
45. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci*. 2006;11:529–43. DOI: <http://dx.doi.org/10.2741/1817>.
46. Flannery CR, Lark MW, Sandy JD. Identification of a stromelysin cleavage site within the interglobular domain of human aggrecan: evidence for proteolysis at this site in vivo in human articular cartilage. *J Biol Chem*. 1992;267(2):1008–14.
47. Suzuki K, Enghild JJ, Morodomi T, et al. Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry*. 1990;29(44):10261–70. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/bi00496a016>.
48. Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. *J Biol Chem*. 1993;268(34):25803–10.
49. Kirkpatrick RB, Emery JG, Connor JR, et al. Induction and expression of human cartilage glycoprotein 39 in rheumatoid inflammatory and peripheral blood monocyte-derived macrophages. *Exp Cell Res*. 1997;237(1):46–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/excr.1997.3764>.
50. De Ceuninck F, Gauffillier S, Bonnaud A, et al. YKL-40 (cartilage gp-39) induces proliferative events in cultured chondrocytes and synoviocytes and increases glycosaminoglycan synthesis in chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;285(4):926–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2001.5253>.
51. Ling H, Recklies AD. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 inhibits cellular responses to the inflammatory cytokines interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha. *Biochem J*. 2004;380(3):651–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1042/BJ20040099>.
52. Kotzin BL, Falta MT, Crawford F, et al. Use of soluble peptide-DR4 tetramers to detect synovial T cells specific for cartilage antigens in patients with rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(1):291–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.97.1.291>.
53. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/372425a0>.
54. Reseland JE, Syversen U, Bakke I, et al. Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization. *J Bone Miner Res*. 2001;16(8):1426–33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.8.1426>.
55. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 1995;269(5223):543–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.7624777>.
56. Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, et al. Leptin inhibits osteoclast generation. *J Bone Miner Res*. 2002;17(2):200–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.2.200>.
57. Yadav VK, Oury F, Suda N, et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell*. 2009;138(5):976–89. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.051>.
58. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307–12. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/35053000>.
59. Thommesen L, Stunes AK, Monjo M, et al. Expression and regulation of resistin in osteoblasts and osteoclasts indicate a role in bone metabolism. *J Cell Biochem*. 2006;99(3):824–34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.20915>.
60. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, et al. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*. 2005;174(9):5789–95.
61. Oshima K, Nampei A, Matsuda M, et al. Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;331(2):520–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.210>.
62. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, et al. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(10):2450–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.27.10.2450>.
63. Косыгина АВ. Адипоцитокины в научной и клинической практике. Ожирение и метаболизм. 2011;(1):32–9. [Kosygina AV. Adipotsitokiny v nauchnoy i klinicheskoy praktike. Ozhirenie i metabolism. 2011;(1):32–9.]
64. Benigni F, Fantuzzi G, Sacco S, et al. Six different cytokines that share GP130 as a receptor subunit, induce serum amyloid A and potentiate the induction of interleukin-6 and the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis by interleukin-1. *Blood*. 1996;87(5):1851–4.

65. Zhang N, Ahsan MH, Purchio AF, et al. Serum amyloid A-luciferase transgenic mice: response to sepsis, acute arthritis, and contact hypersensitivity and the effects of proteasome inhibition. *J Immunol.* 2005;174(12):8125–34.
66. Kisilevsky R, Tam SP. Acute phase serum amyloid A, cholesterol metabolism, and cardiovascular disease. *Ped Pathol Mol Med.* 2002;21(3):291–305. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/02770930290056523>.
67. Kumon Y, Suehiro T, Hashimoto K, et al. Local expression of acute phase serum amyloid A mRNA in rheumatoid arthritis synovial tissue and cells. *J Rheumatol.* 1999;26(4):785.
68. O'Hara R, Murphy EP, Whitehead AS, et al. Acute-phase serum amyloid A production by rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Res.* 2000;2(2):142. Epub 2000 Feb 24. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar78>.
69. Eastman PS, Manning WC, Qureshi F, et al. Characterization of a multiplex, 12-biomarker test for rheumatoid arthritis. *J Pharm Biomed Anal.* 2012;70:415–24. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.06.003. Epub 2012 Jun 12.
70. Hirata JR, van der Helm-van Mil AH, Knevel R, et al. Validation of a novel multibiomarker test to assess rheumatoid arthritis disease activity. *Arthritis Care. Res (Hoboken).* 2012;64(12):1794–803.
71. Hirata S, Dirven L, Shen Y, et al. A multi-biomarker score measures rheumatoid arthritis disease activity in the BeSt study. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52(7):1202–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kes362>.
72. Ma MH, Ramanujan S, Haney DJ, et al. Biomarker signatures in rheumatoid arthritis patients with low disease activity: the REMIRA study. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(3):537.
73. Van der Helm-van Mil AH, Knevel R, Cavet G, et al. An evaluation of molecular and clinical remission in rheumatoid arthritis by assessing radiographic progression. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52(5):839–46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kes378>.
74. Li W, Haney DJ, Cavet G, et al. The Multi-Biomarker Disease Activity Test (Vectra® DA) estimates risk of radiographic progression for patients with rheumatoid arthritis from the Leiden early arthritis clinic. *Arthritis Rheum.* 2013;65(10):1788.
75. Maijer KI, de Hair MJH, Li W, et al. Evaluation of a Multi-Biomarker Disease Activity (Vectra® DA Algorithm) in early rheumatoid arthritis and unclassified arthritis patients. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(3):389.
76. Li W, Sasso EH, Emerling D, et al. Impact of a multi-biomarker disease activity test on rheumatoid arthritis treatment decisions and therapy use. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(1):85–92.
77. Hambardzumyan K, Saevarsdottir S, Bolce R, et al. In early rheumatoid arthritis, the 12 individual biomarkers that comprise the Multiple Biomarker Disease Activity score relate differentially to clinical response and radiographic progression: results from a randomized trial. *Arthritis Rheum.* 2013;65(10):1789.
78. Jurgens MS, Bijlsma JW, Jacobs JW, et al. Response to MTX Plus Prednisone in CAMERA II Using a Multi-Biomarker Disease Activity Test (Vectra® DA) and DAS28-ESR. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(3):395.
79. Krabbe S, Bolce R, Brahe C, et al. Early changes in a Multi-Biomarker Disease Activity score after starting adalimumab treatment predict change in MRI inflammation at 6 months. *Arthritis Rheum.* 2013;65(Suppl 10):1436.
80. Hirata S, Li W, Defranoux N, et al. Repeated high or low Multi-Biomarker Disease Activity (VECTRA® DA Algorithm) scores associated with radiographic outcomes in patients with rheumatoid arthritis treated with tumor necrosis factor inhibitors. *Arthritis Rheum.* 2013;65(Suppl 10):1453.
81. Hanami K, Hirata S, Tasaka H, et al. Behavior of the Multi-Biomarker Disease Activity (Vectra® DA Algorithm) score and components in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(3):391.
82. Yamaoka K, Kubo S, Sonomoto K, et al. Correlation of a Multi-Biomarker Disease Activity (VECTRA DA) score with clinical disease activity and its components with radiographic progression in rheumatoid arthritis patients treated with tofacitinib. *Arthritis Rheum.* 2012;64(10):2162.

**Ответы на вопросы к лекции
Т.М. Решетняк, Е.Л. Насонова
«Антифосфолипидный синдром:
диагностика и клинические
проявления» (с. 71)**

- 1 – Г,
- 2 – А, В,
- 3 – В,
- 4 – Б,
- 5 – В,
- 6 – Д,
- 7 – Г,
- 8 – В,
- 9 – Г,
- 10 – Г,
- 11 – Г.