

Прогнозирование эффективности терапии метотрексатом по базальной экспрессии гена АМР-активируемой протеинкиназы в крови больных ревматоидным артритом

Четина Е.В., Демидова Н.В., Маркова Г.А., Салянова Е.П.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва
Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А

Цель исследования – поиск ассоциации между базальной экспрессией гена АМР-активируемой протеинкиназы (adenosine monophosphate-activated protein kinase, АМРК) в крови больных ревматоидным артритом (РА) и активностью заболевания, а также деструкцией суставов до и после 24 мес терапии метотрексатом (МТ).

Пациенты и методы. В исследование включено 40 пациентов с РА, удовлетворявших классификационным критериям АСР 1987 г., с длительностью заболевания не более 2 лет, средний возраст которых составил $47,5 \pm 15,5$ года. Все пациенты получали МТ в дозе 15 мг/нед. Оценивали число припухших суставов (ЧПС) из 44, число болезненных суставов (ЧБС) из 53, продолжительность утренней скованности (в минутах) и активность РА с помощью индекса DAS28. Исследовали концентрацию СРБ и IgM ревматоидного фактора (РФ), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП). Для оценки рентгенологического прогрессирования РА использовали метод Sharp в модификации van der Heijde. Экспрессию генов в клетках периферической крови определяли посредством обратнo-транскриптазной реакции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. На фоне терапии МТ отмечено снижение активности заболевания по индексу DAS28, уровня СРБ, длительности утренней скованности, ЧБС и ЧПС. Через 2 года статистически значимых изменений числа эрозий не выявлено, тогда как число суставов с сужением суставной щели к концу исследования увеличилось ($p=0,004$). Лечение МТ приводило к уменьшению экспрессии АМРК. При этом больные, достигшие ремиссии, имели наибольший уровень АМРК до терапии, как и серонегативные пациенты, по сравнению с серопозитивными. На основании ROC-анализа определено пороговое значение экспрессии гена АМРК, позволяющее прогнозировать высокую вероятность положительного эффекта терапии МТ.

Заключение. Экспрессия гена АМРК связана с активностью заболевания. Его высокий начальный уровень в крови больных РА ассоциируется с большей эффективностью МТ и, возможно, играет протективную роль. При показателе экспрессии гена АМРК, превышающем 3,83, высока вероятность положительного ответа на МТ.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; экспрессия генов; ген АМР-активируемой протеинкиназы; периферическая кровь; воспаление; поражение суставов; метотрексат.

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Демидова НВ, Маркова ГА, Салянова ЕП. Прогнозирование эффективности терапии метотрексатом по базальной экспрессии гена АМР-активируемой протеинкиназы в крови больных ревматоидным артритом. Современная ревматология. 2022;16(1):46–51. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-1-46-51

Predicting the effectiveness of methotrexate therapy based on basal expression of the AMP-activated protein kinase gene in the blood of patients with rheumatoid arthritis

Chetina E.V., Demidova N.V., Markova G.A., Salyanova E.P.

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow
34A, Kashirskoe shosse, Moscow 115522, Russia

Objective: to search for an association between basal expression of the AMP-activated protein kinase (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) gene in the blood of patients with rheumatoid arthritis (RA) and disease activity, as well as joint destruction before and after 24 months of methotrexate (MT) therapy.

Patients and methods. The study included 40 patients with RA who met the 1987 ACR classification criteria, with a disease duration of not more than 2 years, with a mean age of 47.5 ± 15.5 years. All patients received 15 mg/week of MT. The number of swollen joints (SJC) out of 44, the number of tender joints (TJC) out of 53, the duration of morning stiffness (in minutes) and RA activity were assessed using the DAS28 index. The concentration of CRP and IgM rheumatoid factor (RF), antibodies to cyclic citrullinated peptide (ACCP) were assessed. To evaluate the radiological progression of RA, the Sharp method modified by van der Heijde was used. Gene expression in peripheral blood cells was determined by reverse transcriptase reaction and real-time polymerase chain reaction.

Results and discussion. During MT therapy, there was a decrease in disease activity by DAS28 index, CRP level, duration of morning stiffness, SJC and TJC. After 2 years, there were no statistically significant changes in the number of erosions, while the number of joints with narrowing

of the joint space increased by the end of the study ($p=0.004$). Treatment with MT resulted in a decrease in AMPK expression. At the same time, patients who achieved remission had the highest level of AMPK before therapy, as did seronegative patients compared to seropositive ones. Based on the ROC analysis, the threshold value of AMPK gene expression was determined, which makes it possible to predict a high probability of a positive effect of MT therapy.

Conclusion. AMPK gene expression is associated with disease activity. Its high initial blood level in RA patients is associated with greater efficiency of MT and, possibly, plays a protective role. With an AMPK gene expression index greater than 3.83, the probability of a positive response to MT is high.

Key words: rheumatoid arthritis; gene expression; AMP-activated protein kinase gene; peripheral blood; inflammation; joint damage; methotrexate.

Contact: Elena Vasilievna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EV, Demidova NV, Markova GA, Salyanova E.P. Predicting the effectiveness of methotrexate therapy based on basal expression of the AMP-activated protein kinase gene in the blood of patients with rheumatoid arthritis. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2022;16(1):46–51. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-1-46-51

Ревматоидный артрит (РА) – наиболее распространенное аутоиммунное ревматическое заболевание, в основе которого лежит сложный системный многофакторный воспалительный процесс, приводящий к разрушению суставов [1]. Активация Т-лимфоцитов в ходе заболевания обуславливает продукцию широкого ряда провоспалительных цитокинов, принадлежащих преимущественно к суперсемействам фактора некроза опухолей (ФНО) и интерлейкинов (ИЛ). В настоящее время для лечения РА разработаны препараты, специфически подавляющие выработку различных провоспалительных цитокинов [2]. Эффективность терапии оценивается по частоте достижения низкой активности ($2,6 < DAS28 < 3,2$) или ремиссии ($DAS28 < 2,6$) заболевания. Эффект терапии считается хорошим при $\Delta DAS28$ (исходный $DAS28 - DAS28$ в конце терапии) $> 1,2$ [3]. Однако при РА оптимальная стратегия прогнозирования индивидуального ответа на лечение не разработана. Снижение активности заболевания не сопровождается полным выздоровлением, а приводит лишь к стабилизации воспалительного процесса. В связи с этим препараты с различным механизмом действия могут по-разному влиять на течение РА, что связано с исходными показателями его клинико-лабораторной активности и рентгенологическими изменениями [4].

Метотрексат (МТ) является основным базисным противовоспалительным препаратом (БПВП), с которого начинается лечение в большинстве случаев РА [5]. Кроме того, МТ часто назначается в комбинации с другими БПВП и генно-инженерными биологическими препаратами. В то же время МТ не способен одинаково эффективно контролировать заболевание у всех больных [6], что ведет к потере времени и прогрессированию РА. Поэтому сегодня для экономии средств и более качественного лечения больных разрабатываются подходы, позволяющие до назначения конкретного антиревматического препарата выявлять пациентов, у которых возможно достичь значительного снижения активности заболевания.

В предыдущих исследованиях мы показали, что начальная экспрессия генов резорбции внеклеточного матрикса (*MMP9*) и аутофагии (*ULK1*) связана с активностью РА. Высокая базальная экспрессия центральных регуляторных генов *mTOR*, *p21*, *TGFβ1* и *Runx2*, а также генов, ответственных за воспалительную активность (*ФНОα*), является предиктором хорошего ответа на МТ и может иметь протективное значение, по крайней мере у больных, ранее не получавших БПВП и системной терапии глюкокортикоидами (ГК) [7, 8].

Однако наиболее достоверным способом выявления пациентов, отвечающих на лечение, является анализ метаболического потенциала клеток иммунной системы, прежде всего изменений энергетического метаболизма в клетках крови при РА [9]. Недавние исследования показали, что контроль за преобразованием энергии в клетках осуществляет АМР-активируемая протеинкиназа (adenosine monophosphate-activated protein kinase, АМРК), которая регулирует уровни основного энергетического субстрата аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), а также провоспалительную активность иммунных клеток [10]. В частности, при РА активация АМРК в синовиоцитах ассоциировалась со снижением продукции провоспалительных цитокинов и металлопротеиназ [11, 12], а подавление ее активации – с усилением воспаления в синовиальной ткани [13]. Ранее в исследованиях на животных моделях РА было обнаружено, что МТ может способствовать аккумуляции АМР (adenosine monophosphate) в эндотелиальных клетках и, следовательно, активации АМРК [14]. Но до сих пор неизвестно, как базальная активность АМРК в клетках может влиять на результаты терапии РА. Кроме того, неясно, есть ли связь между экспрессией гена *АМРК* и ответом на лечение МТ.

Цель исследования – поиск ассоциации между базальной экспрессией гена *АМРК* в крови больных РА и активностью заболевания, а также деструкцией суставов до и после 24 мес терапии МТ.

Пациенты и методы. В исследование включено 40 пациентов с РА, удовлетворявших классификационным критериям ACR (American College of Rheumatology) 1987 г. [15], с длительностью заболевания не более 2 лет. Среди них было 5 мужчин и 35 женщин, средний возраст которых составил $47,5 \pm 15,5$ года, не получавших до включения в исследование БПВП и системной терапии ГК. Больные проходили лечение в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» в 2007–2008 гг. по программе «РАДИКАЛ» (регистрационный номер клинического исследования – 0120.0810610). Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, все пациенты подписали информированное согласие.

Критерием исключения являлось наличие противопоказаний для использования БПВП в эффективных терапевтических дозах.

Всем пациентам назначали МТ в дозе 10 мг/нед. После 2 нед лечения дозу препарата увеличивали до 15 мг/нед, и больные продолжали получать ее в течение 2 лет. В дополнение к МТ 11 (27,5%) из 40 пациентов использовали метилпредни-

Таблица 1. Динамика клинико-лабораторных и рентгенологических параметров у больных ранним РА, Me [25-й; 75-й перцентили]
Table 1. Dynamics of clinical, laboratory and radiological parameters in patients with early RA, Me [25th; 75th percentile]

Показатель	До лечения (n=40)	Через 2 года (n=40)	p
РФ, МЕ/л	52 [9,5; 80]	25,1 [9,5; 58,9]	0,150
АЦЦП, ЕД/л	48,8 [0,4; 100]	48,8 [0,4; 100]	0,996
СРБ, мг/мл	14,7 [5,45; 24,7]	5,14 [2,49; 11,3]	0,002
DAS28	5,56 [5,04; 5,96]	3,29 [2,47; 3,82]	<0,001
ΔDAS28	—	2,45 [0,82; 3,32]	—
Утренняя скованность, мин	90 [30; 180]	15 [0; 30]	<0,001
ЧПС	8 [5; 11]	1 [0; 3]	<0,001
ЧБС	8 [6; 12]	2 [0; 6]	<0,001
Число эрозий	0 [0; 1]	0 [0; 4,5]	0,07
Сужение суставной щели	12 [7; 21]	18 [14; 28]	0,004

золон 8 мг/сут. Каждый больной наблюдался одним и тем же ревматологом, визиты осуществлялись каждые 6 мес.

Контрольную группу составили 26 доноров крови, отобранных случайным образом, без аутоиммунных заболеваний иотягощенной наследственности, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами основной группы.

Клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования. Оценивали число припухших суставов (ЧПС) из 44, число болезненных суставов (ЧБС) из 53, продолжительность утренней скованности (в минутах) и активность РА с помощью индекса DAS28.

Концентрацию СРБ и IgM ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке крови определяли иммунофелометрическим методом на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring, Германия). Уровень антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) исследовали иммуноферментным методом с применением коммерческого набора фирмы Axis-Shield Diagnostic Limited (Великобритания) согласно инструкции фирмы-производителя.

Всем пациентам проводили рентгенографию кистей и дистальных отделов стоп в прямой проекции. Для оценки рентгенологического прогрессирования РА использовали метод Sharp в модификации van der Heijde [16]. При этом подсчитывали число эрозий и сужений суставных щелей в 16 суставах и костях каждой кисти и в 6 суставах каждой стопы. Индексы числа эрозий и сужения суставной

щели регистрировали в каждой кисти и каждой стопе, вычисляя среднее значение оценок двух исследователей.

Молекулярно-биологические методы. Общую РНК выделяли из цельной крови с помощью коммерческого набора РИБО-золь-А («ИнтерЛабСервис», Москва). Для обратнотранскриптной реакции применяли коммерческий набор «Реверта» («ИнтерЛабСервис», Москва). Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили по описанной ранее методике [8] на приборе модели 7300 Applied Biosystems с использованием наборов для экспрессии генов (Applied Biosystems, USA): *AMPK* (Hs01562315_m1). Эндogenous контролем служил β-актин.

Клинические, иммунологические и молекулярно-биологические показатели регистрировали до и через 24 мес терапии МТ.

Статистический анализ. Для статистического анализа применяли пакет программ Statistica (версия 6.0 StatSoft). Количественные признаки представлены как медиана и интерквартильный интервал (Me [25-й; 75-й перцентили]). Анализ проводили в двух повторностях. Для статистической обработки результатов использовали тесты Манна–Уитни и Вилкоксона. Взаимосвязь признаков оценивали с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена (r). Для оценки точности теста был проведен анализ ROC-кривых. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Средняя длительность РА составила $7,8 \pm 6,0$ мес. У 14 (35,0%) из 40 больных имелся низкий уровень АЦЦП, 25 (62,5%) были серопозитивными по РФ. Исходно у большинства (62,5%) пациентов выявлена высокая активность заболевания ($DAS28 > 5,1$). На фоне лечения отмечено значительное уменьшение активности РА, длительности утренней скованности, ЧБС и ЧПС ($p < 0,001$). Через 24 мес у 24 (60%) больных зарегистрирована умеренная ($3,2 \leq DAS28 \leq 5,1$), у 4 (10%) – высокая ($DAS28 > 5,1$) активность РА, а у 12 (30%) – ремиссия ($DAS28 < 2,6$). В начале исследования у всех пациентов определялась II рентгенологическая стадия РА по Штейнбрюкеру. Через 2 года статистически значимых изменений в числе эрозий не выявлено, тогда как число суставов с сужением суставной щели увеличилось ($p = 0,004$). Динамика клинико-лабораторных и рентгенологических параметров представлена в табл. 1.

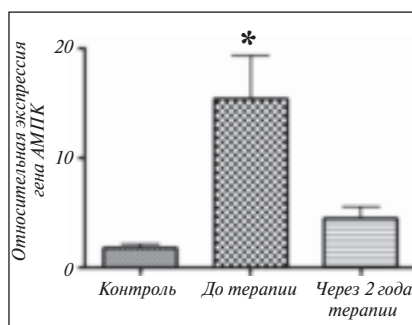


Рис. 1. Относительная экспрессия гена *AMPK* в крови больных РА до и после терапии МТ (n=40) по сравнению со здоровыми лицами (контроль, принят за 1). Здесь и на рис. 2, 3: * – статистически значимые различия по сравнению с контролем; относительная экспрессия гена *AMPK* выражена в относительных единицах по отношению к контролю

Fig. 1. Relative expression of the *AMPK* gene in the blood of RA patients before and after MT therapy (n=40) compared with healthy individuals (control, taken as 1). Here and in fig. 2, 3: * – statistically significant differences compared to control; relative expression of the *AMPK* gene is expressed in relative units in comparison to the control

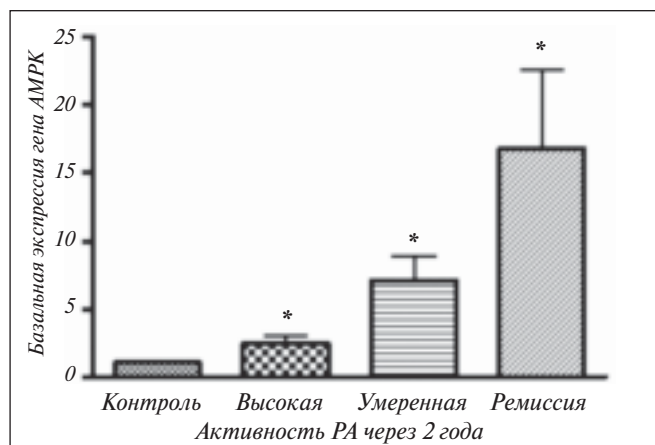


Рис. 2. Базальная относительная экспрессии гена AMPK у здоровых лиц (контроль) и у больных РА с высокой, умеренной активностью заболевания и ремиссией в зависимости от результатов терапии МТ

Fig. 2. Basal relative expression of the AMPK gene in healthy individuals (control) and in RA patients with high, moderate disease activity and remission, depending on the results of MT therapy

Оценка экспрессии генов в крови больных РА до и после лечения МТ. В начале исследования у больных РА была значительно повышена экспрессия гена AMPK по сравнению с контролем (рис. 1).

Лечение МТ приводило к существенному снижению экспрессии гена AMPK, при этом она оставалась незначительно выше, чем у здоровых лиц. Оценка в зависимости от результатов терапии МТ показала, что лица, достигшие ремиссии, имели значимо более высокий исходный уровень гена AMPK по сравнению с контролем (рис. 2), а также с больными с умеренной активностью РА, но различия с последними статистически незначимы.

Анализ экспрессии гена AMPK показал, что у серонегативных больных (n=15) она была значительно выше, чем у серопозитивных (n=25; рис. 3).

Корреляционный анализ выявил положительную взаимосвязь базальной экспрессии гена AMPK с Δ DAS28 и отрицательную с РФ и длительностью утренней скованности, оцененными через 2 года. Напротив, экспрессия гена AMPK в конце исследования положительно коррелировала с уровнем АЦЦП, длительностью утренней скованности, ЧПС и ЧБС, а также DAS28, также оцененными через 2 года (табл. 2).

Чтобы оценить прогностическое значение экспрессии гена AMPK был проведен анализ ROC-кривых (рис. 4), который подтвердил статистически значимую связь (p=0,04) между исходным уровнем гена AMPK и величиной Δ DAS28: площадь под кривой (Area Under Curve, AUC) – 0,720, 95% доверительный интервал – 0,526–0,915.

Для определения чувствительности больных РА к терапии МТ исполь-

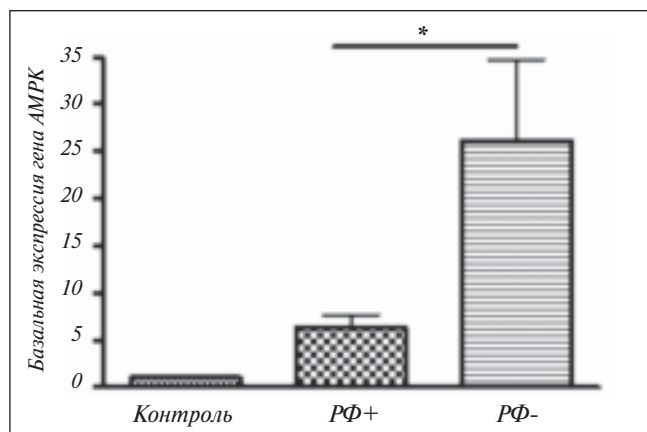


Рис. 3. Базальная относительная экспрессия гена AMPK у серопозитивных (n=25) и серонегативных (n=15) больных РА

Fig. 3. Basal relative expression of the AMPK gene in seropositive (n=25) and seronegative (n=15) patients with RA

зовали бинарный линейный классификатор. Входными данными этого классификатора являлись показатели экспрессии гена AMPK до терапии, а результатом классификации – отнесение образца к одному из двух классов: наличие чувствительности к терапии (Δ DAS28 >1,2) или ее отсутствие (Δ DAS28 <1,2). Далее оценивали параметры достоверности классификации (чувствительность, специфичность). *Наилучшая прогностическая точность при определении ответа больного РА на терапию МТ достигалась при уровне экспрессии гена AMPK, равном 3,83, и максимальных чувствительности (0,742) и специфичности (0,778).* Следовательно, именно такие показатели позволяют прогнозировать высокую вероятность положительного эффекта лечения МТ (Δ DAS28>1,2), тогда как при уровне экспрессии гена AMPK <3,83 вероятность положительного ответа низкая.

Обсуждение. AMPK является главным регулятором метаболизма, поскольку при ее активации происходят фосфо-

Таблица 2. Взаимосвязь экспрессии гена AMPK с клинико-иммунологическими показателями у больных РА исходно и через 24 мес терапии МТ

Table 2. Relationship between AMPK gene expression and clinical and immunological parameters in RA patients at baseline and after 24 months of MT therapy

Показатель	Экспрессия гена AMPK	
	до терапии	через 24 мес
Δ DAS28	0,329 (p=0,04)	–
Величина сужения суставной щели	–	-0,418 (p=0,04)
РФ	-0,392 (p=0,02)	–
АЦЦП	–	0,459 (p=0,024)
DAS28	–	0,464 (p=0,02)
Длительность утренней скованности	-0,399 (p=0,02)	0,486 (p=0,016)
ЧПС	–	0,686 (p=0,0001)
ЧБС	–	0,608 (p=0,002)

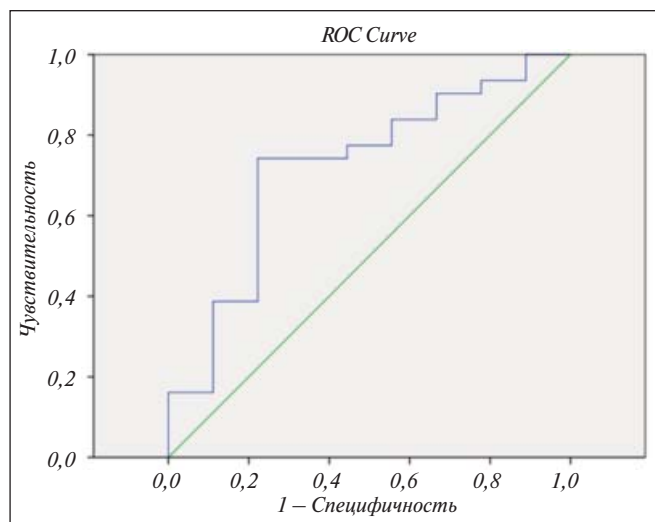


Рис. 4. Анализ ROC-кривых относительной экспрессии гена *AMPK* для прогнозирования ответа больного РА на терапию МТ. $AUC = 0,720$; наилучшие параметры чувствительности – 74,2%, специфичности – 77,8%

Fig. 4. Analysis of ROC-curves of the relative expression of the *AMPK* gene to predict the response of a patient with RA to MT therapy. $AUC=0.720$; the best parameters of sensitivity – 74.2%, specificity – 77.8%

рирование многочисленных ферментов, снижение активности анаболических путей, которые потребляют АТФ: биосинтез жирных кислот (ЖК), триглицеридов, фосфолипидов и белков, а также активация катаболических путей, генерирующих АТФ: поглощение глюкозы и окисление ЖК [17, 18]. В долгосрочной перспективе АМРК усиливает свое действие путем фосфорилирования транскрипционных факторов и коактиваторов, которые регулируют экспрессию генов, например, снижая продукцию липогенных ферментов и повышая выработку ферментов митохондриального окислительного метаболизма и биогенеза митохондрий. Особенно важно антианаболическое действие АМРК при ингибировании экспрессии mTOR, который подавляет трансляцию белков, необходимых для переключения с окислительного фосфорилирования на аэробный гликолиз, наблюдаемый в быстрорастущих клетках. Напротив, потеря гена *AMPK* способствует развитию аэробного гликолиза и клеточной пролиферации [19]. В связи с этим важно отметить, что, по данным настоящего исследования, высокая базальная экспрессия *AMPK* оказалась маркером прогнозирования поло-

жительного ответа на лечение МТ у больных РА, ранее не получавших БПВП; это также было подтверждено при анализе профиля ROC-кривой. Прогностическое значение экспрессии *AMPK* свидетельствует о важной роли энергетического метаболизма в подавлении РА.

В нашем исследовании на протективную роль высокой экспрессии *AMPK* указывает отрицательная связь между ее базальной концентрацией и уровнем РФ и длительностью утренней скованности в конце наблюдения, поскольку эти показатели являются маркерами воспаления [4]. Положительная связь между экспрессией *AMPK* после терапии МТ и DAS28, ЧПС, ЧБС, длительностью утренней скованности может свидетельствовать о необходимости активации этого гена для купирования воспаления и боли, поскольку при низкой активности воспаления и выраженности боли продукция *AMPK* снижается. Наши данные согласуются с результатами других работ, в которых также показано, что *AMPK* обладает противовоспалительным действием вследствие ее влияния на клеточный метаболизм [20]. Так в исследованиях *in vitro* подавление продукции АМРК в макрофагах сопровождалось увеличением уровня провоспалительных цитокинов в ответ на действие ЖК и липополисахаридов [21, 22]. Кроме того, существенное превышение экспрессии гена *AMPK* у серонегативных пациентов в нашем исследовании подтверждает ранее полученные данные о более тяжелом течении заболевания у серопозитивных больных РА [23, 24].

Вместе с тем, в отличие от других препаратов, включая метформин, гормоны (лептин, адипонектин), нутрицевтики, которые активируют АМРК [18, 19], по данным настоящего исследования, МТ снижал экспрессию АМРК. Приближение ее к норме может свидетельствовать о восстановлении энергетического баланса клеток на фоне терапии МТ.

Заключение. Таким образом, экспрессия гена *AMPK* связана с активностью РА. Высокая начальная продукция этого гена в крови больных с данным заболеванием ассоциируется с большей эффективностью МТ и, возможно, играет протективную роль. Следовательно, на основании анализа экспрессии гена *AMPK* у больных РА, ранее не получавших БПВП, можно с высокой вероятностью прогнозировать ответ на терапию МТ.

Получен патент на изобретение по заявке № 2020134920/14(064169). Дата подачи заявки: 24.10.2020. Авторы: Четина Е.В., Демидова Н.В., Маркова Г.А., Глухова С.И. Название изобретения: «Способ прогнозирования эффективности терапии метотрексатом больных ревматоидным артритом».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Harris ED Jr. Rheumatoid Arthritis: pathophysiology and implications for therapy. *N Engl J Med.* 1990 May 3;322(18):1277-89. doi: 10.1056/NEJM199005033221805.
- Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature.* 2003 May 15;423(6937):356-61. doi: 10.1038/nature01661.
- Насонов ЕЛ, редактор. Ревматология: Клинические рекомендации. Москва: GEOTAR-Media; 2010. [Nasonov EL, editor. *Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii* [Rheumatology. Clinical guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010].
- Gossec L, Dougados M, Goupille P, et al. Prognostic factors for remission in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study. *Ann Rheum Dis.* 2004 Jun;63(6):675-80. doi: 10.1136/ard.2003.010611.
- Emery P, Breedveld FC, Hall S, et al. Comparison of methotrexate monotherapy with a combination of methotrexate and etanercept in active, early, moderate to severe rheumatoid arthritis (COMET): a randomized, double-blind, parallel treatment trial. *Lancet.* 2008 Aug 2;372(9636):375-82. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61000-4. Epub 2008 Jul 16.
- Visser H, le Cessie S, Vos K, et al. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002 Feb;46(2):357-65. doi: 10.1002/art.10117.
- Четина ЕВ, Демидова НВ, Каратеев ДЕ и др. Ассоциация экспрессии генов в крови больных ревматоидным артритом с клиническими и лабораторными показателями до и после терапии метотрексатом.

- Научно-практическая ревматология. 2016;(2):155-63.
- [Chetina EV, Demidova NV, Karateev DE, et al. Association of gene expression in the blood of patients with rheumatoid arthritis with clinical and laboratory parameters before and after methotrexate therapy. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2016;(2):155-63. (In Russ.)].
8. Tchetina EV, Demidova NV, Markova GA, et al. Increased baseline RUNX 2, caspase 3, and p21 gene expressions in the peripheral blood of naive rheumatoid arthritis patients are associated with improved clinical response to methotrexate therapy. *Int J Rheum Dis*. 2017 Oct;20(10):1468-80. doi: 10.1111/1756-185X.13131. Epub 2017 Jul 25.
9. Sharabi A, Tsokos GC. T cell metabolism: new insights in systemic lupus erythematosus pathogenesis and therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2020 Feb;16(2):100-12. doi: 10.1038/s41584-019-0356-x. Epub 2020 Jan 16.
10. Finlay DK. N-myristoylation of AMPK controls T cell inflammatory function. *Nat Immunol*. 2019 Mar;20(3):252-4. doi: 10.1038/s41590-019-0322-4.
11. Shi M, Wang J, Xiao Y, et al. Glycogen Metabolism and Rheumatoid Arthritis: The Role of Glycogen Synthase 1 in Regulation of Synovial Inflammation via Blocking AMP-Activated Protein Kinase Activation. *Front Immunol*. 2018 Jul 27;9:1714. doi: 10.3389/fimmu.2018.01714. eCollection 2018.
12. Terkeltaub R, Yang B, Lotz M, et al. Chondrocyte AMP-activated protein kinase activity suppresses matrix degradation responses to proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Arthritis Rheum*. 2011 Jul;63(7):1928-37. doi: 10.1002/art.30333.
13. Wen Z, Jin K, Shen Y, et al. N-myristoyl-transferase deficiency impairs activation of kinase AMPK and promotes synovial tissue inflammation. *Nat Immunol*. 2019 Mar;20(3):313-25. doi: 10.1038/s41590-018-0296-7. Epub 2019 Feb 4.
14. Thornton CC, Al-Rashed F, Calay D, et al. Methotrexate-mediated activation of an AMPK-CREB-dependent pathway: a novel mechanism for vascular protection in chronic systemic inflammation. *Ann Rheum Dis*. 2016 Feb;75(2):439-48. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206305. Epub 2015 Jan 9.
15. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988 Mar; 31(3):315-24. doi: 10.1002/art.1780310302.
16. Van der Heijde D. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol*. 1999 Mar;26(3):743-5.
17. Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in health and disease. *Physiol Rev*. 2009 Jul; 89(3):1025-78. doi: 10.1152/physrev.00011.2008.
18. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMP-activated protein kinase: a target for drugs both ancient and modern. *Chem Biol*. 2012 Oct 26;19(10):1222-36. doi: 10.1016/j.chembiol.2012.08.019.
19. Faubert B, Boily G, Izreig S, et al. AMPK Is a negative regulator of the Warburg effect and suppresses tumor growth in vivo. *Cell Metab*. 2013 Jan 8;17(1):113-24. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.001. Epub 2012 Dec 27.
20. Salt IP, Palmer TM. Exploiting the anti-inflammatory effects of AMP-activated protein kinase activation. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012 Aug;21(8):1155-67. doi: 10.1517/13543784.2012.696609. Epub 2012 Jun 14.
21. Sag D, Carling D, Stout RD, et al. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol*. 2008 Dec 15;181(12):8633-41. doi: 10.4049/jimmunol.181.12.8633.
22. Yang Z, Shi H, Xue BZ. Macrophage {alpha}1-AMP-activated protein kinase ({alpha}1AMPK) antagonizes fatty acid-induced inflammation through SIRT1. *J Biol Chem*. 2010 Jun 18;285(25):19051-9. doi: 10.1074/jbc.M110.123620. Epub 2010 Apr 26.
23. Agrawal S, Misra R, Aggarwal A. Auto-antibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA. *Clin Rheumatol*. 2007 Feb;26(2):201-4. doi: 10.1007/s10067-006-0275-5. Epub 2006 Mar 30.
24. Ермакова ЮА, Каратеев ДЕ, Лучихина ЕЛ, Демидова НВ. Влияние АЦЦП-и РФ-позитивности на формирование исходов раннего ревматоидного артрита в длительной перспективе. Саратовский научно-медицинский журнал. 2015;11(2):135-41. [Ermakova YuA, Karateev DE, Luchikhina EL, Demidova NV. The influence of ADC- and RF-positivity on the formation of outcomes of early rheumatoid arthritis in the long term. *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal*. 2015; 11(2):135-41. (In Russ.)].

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

4.10.2021/30.11.2021/3.12.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа осуществлена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №12-04-00038а).

Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (project №12-04-00038a).

There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Четина Е.В. <https://orcid.org/0000-0001-7312-2349>

Демидова Н.В. <https://orcid.org/0000-0003-3065-4235>

Маркова Г.А. <https://orcid.org/0000-0001-5946-5695>

Салянова Е.П. <https://orcid.org/0000-0001-6476-4294>