

Ассоциация между низким исходным уровнем экспрессии генов энергетического метаболизма в крови и развитием клинической ремиссии в ответ на терапию тофацитинибом у больных ревматоидным артритом

Четина Е.В., Сатыбалдыев А.М., Маркова Г.А., Самаркина Е.Ю., Черкасова М.В.

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

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, которое характеризуется эрозивным артритом (синовитом) и системным воспалением. Ингибиторы Янус-киназы (иJAK) являются низкомолекулярными соединениями, блокирующими основные сигнальные пути многих цитокинов и факторов роста, ассоциированных с РА. Выявление до начала лечения пациентов, чувствительных к иJAK, может значительно улучшить результаты терапии. В настоящее время невозможно предсказать эффективность иJAK в каждом случае, поскольку у одних больных может наблюдаться недостаточная восприимчивость к препарату, а у других — развиваться нежелательные реакции. Недавно было показано, что действие иJAK у больных РА связано с изменениями митохондриальной функции и продукции АТФ. На этом основании было высказано предположение, что оценка метаболического статуса пациента с РА до начала лечения позволяет прогнозировать результаты терапии.

Цель исследования — изучить возможность прогнозирования ответа больных РА на терапию иJAK по базальной экспрессии генов энергетического метаболизма в крови.

Пациенты и методы. Была исследована кровь 28 больных РА в возрасте $52,2 \pm 15,6$ года со средней длительностью заболевания $3,5$ ($0,6-19$) года, получавших тофацитиниб (ТОФА, $5-10$ мг 2 раза в день) в течение 3 мес, и 26 здоровых лиц (контроль). Клинический ответ оценивали по динамике активности заболевания (DAS28-COЭ), иммунологический статус — по сывороточным уровням антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), ревматоидного фактора (РФ), СРБ. Экспрессию генов определяли в клетках периферической крови посредством обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Исходно все больные имели II–III рентгенологическую стадию РА по Штейнбрoкеру. Большинство ($85,7\%$) пациентов были позитивными по АЦЦП и РФ. При этом 13 больных имели умеренную, остальные — высокую активность РА.

Результаты и обсуждение. Согласно оценке по DAS28, терапия иJAK значительно снижала исходные показатели воспалительной активности РА. После окончания исследования у 17 пациентов наблюдалась умеренная активность заболевания ($3,2 < DAS28 < 5,1$), у 4 сохранялась высокая активность, а 7 достигли ремиссии ($DAS28 < 2,6$). У пациентов, достигших ремиссии на фоне терапии ТОФА, отмечалось значительное уменьшение сывороточного уровня СРБ и числа припухших и болезненных суставов. Уровень СОЭ существенно не изменился. Анализ экспрессии генов показал, что эти пациенты имели статистически значимо более низкие исходные уровни генов, связанных с гликолизом (пируваткиназа, PKM2) и окислительным фосфорилированием (сукцинатдегидрогеназа, SDHB), по сравнению с другими больными РА, но более высокие уровни указанных генов по сравнению со здоровыми лицами. Также у больных, достигших ремиссии, экспрессия этих генов имела тенденцию к увеличению в процессе терапии, тогда как у остальных пациентов — к снижению. **Заключение.** Достижение клинической ремиссии у больных РА на фоне терапии иJAK обусловлено более низкой базовой экспрессией генов, связанных с генерацией энергии (PKM2 и SDHB), по сравнению с остальными пациентами.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; экспрессия генов; ингибиторы Янус-киназы; энергетический метаболизм; кровь.

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Сатыбалдыев АМ, Маркова ГА и др. Ассоциация между низким исходным уровнем экспрессии генов энергетического метаболизма в крови и развитием клинической ремиссии в ответ на терапию тофацитинибом у больных ревматоидным артритом. Современная ревматология. 2021;15(3):20–26. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-3-20-26

Association between a low baseline level of gene expression of energy metabolism in the blood and the development of clinical remission in response to tofacitinib therapy in patients with rheumatoid arthritis

Chetina E.V., Satybaldyev A.M., Markova G.A., Samarkina E.Yu., Cherkasova M.V.

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

Background. Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease of unknown etiology, characterized by erosive arthritis (synovitis) and systemic inflammation. Janus kinase (JAK) inhibitors (JAKi) are small molecules that block major signal pathways of many cytokines a growth

factors, associated with RA. Identification of patients sensitive to JAKi before treatment could significantly improve therapy outcomes. Currently it is not possible to predict JAKi efficacy in every patient, while some patients are non-responsive to the drug, other develop adverse effects. JAKi effect in RA patients has been recently associated with alterations in mitochondrial function and ATP production. Therefore, we hypothesized that baseline metabolic status of RA patients prior to drug administration can predict the therapeutic outcome.

Objective: to investigate the predictive value of baseline expression of genes involved in energy generation in the blood of RA patients, for treatment response to JAKi.

Patients and methods. We examined peripheral blood of 28 RA patients aged 52.2 ± 15.6 years, average disease duration 3.5 years (range 0.6–19), treated with Tofacitinib (TOFA, 5–10 mg twice a day) during three months and 26 healthy age-matched control subjects. Clinical response was assessed by disease activity score (DAS28-ESR), immunological status by measurements of serum levels of anti-citrullinated protein antibodies (ACPA), rheumatoid factor (RF), and C-reactive protein (CRP). Gene expression was assessed in peripheral blood cells by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). At baseline all patients had Steinbrocker radiographic stage II–III. Most patients (85.7%) were ACPA and RF positive. Thirteen patients had medium, others – high RA activity.

Results and discussion. JAKi treatment significantly decreased the inflammatory disease activity according to DAS28. At the end of the study 17 patients demonstrated moderate disease activity ($3.2 < DAS28 < 5.1$), 4 patients retained high disease activity while 7, attained remission ($DAS28 < 2.6$). Disease remission, achieved on TOFA treatment, was accompanied by significant decrease in CRP and the number of swollen and tender joints. ESR values were not changed significantly. Gene expression analysis revealed that RA patients, which attained clinical remission after TOFA treatment, demonstrated significantly lower baseline expression of genes associated with glycolysis (pyruvate kinase, PKM2) and oxidative phosphorylation (succinate dehydrogenase, SDHB) compared to other examined RA patients, but higher expression of the abovementioned genes compared to control subjects. Moreover, RA patients who attained clinical remission demonstrated a trend to increase of these gene expressions within follow-up period, while in the rest of patients these gene expression was tending to downregulate.

Conclusion. Clinical remission in RA patients treated with JAKi is associated with significantly lower baseline expression of genes associated with energy generation pathways (PKM2 and SDHB) compared to other examined subjects.

Keywords: rheumatoid arthritis; gene expression; JAK-inhibitors; energy generation pathways; blood.

Contact: Elena Vasilyevna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EV, Satybaldyev AM, Markova GA, et al. Association between a low baseline level of gene expression of energy metabolism in the blood and the development of clinical remission in response to tofacitinib therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2021;15(3):20–26. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-3-20-26

Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом и системным воспалительным поражением внутренних органов. Распространенность РА среди взрослого населения составляет 0,5–2%. Заболеваню подвержены все возрастные группы, включая детей и лиц пожилого возраста, причем пик заболеваемости приходится на трудоспособный возраст (30–55 лет). РА обладает широкой гетерогенностью клинических проявлений вследствие различных комбинаций фенотипов заболевания, характеризующихся разной степенью поражения суставов (от незначительного повреждения хряща до эрозий кости), а также течения и исходов [1].

Современные стратегии лечения РА нацелены на блокаду провоспалительных цитокинов, клеточных рецепторов или внутриклеточных путей, ведущих к экспрессии провоспалительных молекул, что позволяет достичь низкой активности и облегчения симптомов заболевания [2]. Однако возникающие со временем потеря эффективности лекарственного средства и/или развитие нежелательных явлений ограничивают его длительное применение [3], поэтому появляется необходимость не только в смене терапии, но и в разработке новых методов лечения. Хотя многие пациенты с РА адекватно отвечают на лечение метотрексатом (МТ), 40% больных резистентны к терапии первой линии и нуждаются в назначении генно-инженерных биологических (ГИБП) или таргетных синтетических препаратов [4]. В свою очередь, 40% больных оказываются устойчивыми как к первому, так и ко второму ГИБП, следовательно, 20% из них будут нуждаться в смене данной терапии [5]. Пациенты, устойчивые к нескольким лекарственным препаратам

с различной структурой и механизмами действия, в частности не способные достичь низкой активности заболевания после терапии тремя и более базисными противовоспалительными препаратами (БПВП), из которых один должен быть ГИБП, считаются рефрактерными и составляют 6–21% всех больных РА [6].

В качестве перспективных направлений лечения резистентного РА рассматриваются новые антагонисты цитокинов, блокирующие интерлейкин (ИЛ) 6 и ИЛ17, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, сигнальные пути, включая NF- κ B и митоген-активированную фосфокиназу p38 (p38 MAPK), а также трансплантация стволовых, или мезенхимальных стромальных, клеток [7]. Однако в настоящее время существенного прогресса в этой области не достигнуто.

В связи с высокой стоимостью ГИБП важно оценивать потенциальную возможность ответа пациента на терапию. В качестве предикторов ответа на лечение предлагается использовать анализ генетических мутаций (SNP), наборы генов ответа на интерферон, серологические показатели или стратификацию больных по характеру повреждения синовиальной ткани, но результаты такой оценки неоднозначны [6]. В настоящее время меняются представления о механизмах развития РА. Появились данные о том, что системное воспаление обусловлено метаболическими изменениями вследствие нарушений энергетического обмена в клетках различных тканей [8].

JAK/STAT-сигнальные пути играют роль ключевого посредника провоспалительных путей при аутоиммунных заболеваниях и считаются главной движущей силой нарушений, обусловленных РА [9], поскольку они активируются

рядом цитокинов (интерфероны, ИЛ2 и ИЛ6), которые контролируют жизнеспособность, пролиферацию и дифференцировку разных типов клеток [10]. Недавно в исследованиях *in vivo* было показано, что синовиальный уровень парциального давления кислорода связан с активацией pSTAT-3, который опосредует миграцию синовиальных фибробластов и их инвазивность [11]. Кроме того, при воспалении в ответ на гипоксию STAT-3 в некоторых типах клеток вызывает активацию фактора, индуцируемого гипоксией (HIF1 α) [12], его реципрокных взаимодействий с pSTAT-3 и основным ферментом гликолиза – пируваткиназой (PKM2) [13]. Эти данные свидетельствуют о сложных взаимодействиях между ключевыми сигнальными путями внутри воспаленного синовиального микроокружения и позволяют предположить, что JAK/STAT-сигнальный путь может участвовать в регуляции метаболических путей, связанных с продукцией энергии в этих клетках.

Ингибиторы Янус-киназы (иJAK) – синтетические таргетные препараты, которые показали более значимые результаты в терапии РА по сравнению с МТ у первичных больных, а также при неадекватном ответе на ГИБП [14, 15]. В недавних исследованиях установлено, что иJAK снижают продукцию ROS и регулируют экспрессию важнейших митохондриальных генов в эксплантатах синовиальной ткани больных РА [16], значительно увеличивая окислительное фосфорилирование и продукцию аденозинтрифосфата. Это приводит к снижению активности гликолиза, оценяемого по уровню ферментов гликолиза, гексокиназы 2, гликогенсинтазы 3 α , лактатдегидрогеназы А и HIF1 α [16].

Поскольку получение тканей сустава на ранних стадиях заболевания затруднительно, а сбор образцов крови является технически менее сложным и болезненным, в настоящем исследовании использовались периферические мононуклеарные клетки крови (PBMC) больных РА. На основании ранее полученных данных о том, что Т-лимфоциты больных РА вырабатывают недостаточное количество АТФ [17], было предположено, что как чувствительность, так и резистентность к терапии иJAK могут быть связаны с особенностями энергетического метаболизма иммунных клеток. В частности, под влиянием иJAK иммунные клетки могут активировать метаболические пути продукции энергии, что обеспечивает ответ на лечение, тогда как у пациентов, резистентных к терапии, иммунные клетки не способны в достаточной степени воздействовать на данные пути.

Цель исследования – анализ экспрессии генов, ответственных за основные пути энергетического метаболизма, а также генов, ассоциированных с продукцией энергии в крови JAK-наивных больных РА с различной активностью заболевания; поиск маркеров для прогнозирования ремиссии по экспрессии генов до терапии иJAK.

Пациенты и методы. В исследование было включено 28 больных РА (6 мужчин и 22 женщины, средний возраст 52,2 \pm 15,6 года), удовлетворявших классификационным критериям ACR/EULAR (American College of Rheumatology / European Alliance of Associations for Rheumatology) 2010 г. или ACR 1987 г., ранее не получавших иJAK. Все пациенты находились на лечении в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» с 2015 по 2016 г.

Исследование было одобрено локальным комитетом по этике. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Большинство больных были рефрактерны к предшествующей терапии: МТ в дозе 20–25 мг/нед (92,6%), в том числе в сочетании с метилпреднизолоном 8 мг/сут (14,3%), и различными ГИБП (32,1%). Всем больным назначался иJAK тофацитиниб (ТОФА) в дозе 5–10 мг 2 раза в день. Терапия продолжалась в течение 3 мес. Большинство пациентов – 23 (82%) – в дополнение к ТОФА получали МТ 20–25 мг/нед, 4 (14%) – метилпреднизолон 8 мг/сут, по 1 (0,03%) больному – гидроксихлорохин 200 мг/сут, лефлуномид 20 мг/сут и адалимумаб 40 мг подкожно 1 раз в 2 нед.

Критерии включения в исследование: достоверный диагноз РА (по критериям ACR/EULAR 2010 г. или ACR 1987 г.); средняя и высокая активность заболевания (DAS28 >3,2); возраст от 20 до 80 лет; подписанное информированное согласие на участие в исследовании; отсутствие эффекта либо непереносимость и/или неэффективность предыдущей терапии; адекватная контрацепция для больных детородного возраста.

Критерии не включения: беременность и лактация; тяжелые активные инфекции (СПИД, туберкулез, вирусный гепатит и др.); тяжелые нарушения функции внутренних органов (почечная, печеночная, сердечная недостаточность, высокая неконтролируемая артериальная гипертензия, декомпенсированный сахарный диабет и др.); гематологические нарушения (Hb <85 г/л, тр. <100 \cdot 10⁹/л, л. <3 \cdot 10⁹/л, н. – абсолютное значение <2 тыс., лимф. – абсолютное значение <0,5 тыс.), аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза >1,5 верхней границы нормы, триглицериды >10 ммоль/л; демиелинизирующие заболевания нервной системы; любые злокачественные новообразования или предраковые состояния либо предраковые состояния в анамнезе за последние 5 лет; алкогольная и наркотическая зависимость; невозможность наблюдения за больным на протяжении 1 года; аллергические реакции на белковые препараты в анамнезе; иммунизация живыми и аттенуированными вакцинами за 4 нед до включения в исследование.

Контрольную группу для анализа экспрессии генов составили 26 здоровых доноров крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ревматическим заболеваниям, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных РА.

Клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования. Всем пациентам проводили рентгенографию кистей и дистальных отделов стоп в прямой проекции. Активность РА определяли с помощью индекса DAS28.

Концентрацию СРБ и IgM РФ в сыворотке крови оценивали иммунонефелометрическим методом на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring, Германия), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) – иммуноферментным методом с использованием коммерческого набора фирмы Axis-Shield Diagnostic Ltd. (Великобритания) согласно инструкции производителя.

Из образцов цельной крови здоровых лиц и больных РА была выделена общая РНК, которую перевели в комплементарную ДНК посредством обратнo-транскриптазной реакции, как было описано ранее [18]. Поскольку определяли относительную экспрессию изучаемых генов, то оценивали отклонение экспрессии каждого гена у каждого больного РА по сравнению с усредненной экспрессией того же гена в контроле.

С помощью количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в образцах периферической крови исследовали уровни экспрессии ключевых генов, связанных с основными путями получения энергии: в гликолизе – по экспрессии *PKM2* и при окислительном фосфорилировании – по экспрессии гена фермента цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы (*SDHB*), связанных с генерацией АТФ; преобразования энергии: разобширитель окислительного фосфорилирования (*UCP2*) и супероксиддисмутазы (*SOD1*) – белок, разрушающий свободные радикалы, генерируемые в ходе движения электронов по электрон-транспортной цепи. Использовали готовые праймеры и зонды для метода TaqMan (Applied Biosystems Inc., USA):

- гликолиза: *PKM2* (Hs00987255_m1);
- окислительного фосфорилирования (OXPHOS): *SDHB* (Hs01042482_m1);
- *UCP2* (Hs01075227_m1);
- *SOD1* (Hs00533490_m1);
- *β-actin* в качестве гена домашнего хозяйства.

Количественную оценку уровней мРНК проводили на приборе QS5 (Applied Biosystems Inc., USA) по ранее описанной методике [18]. В системе ПЦР в реальном времени относительная экспрессия каждого гена рассчитывается по сравнению с контролем, равным 1.

Исследование клинических, иммунологических и молекулярно-биологических показателей проводилось перед началом терапии ТОФА и через 3 мес.

Статистический анализ. Данные количественных экспериментов представлены в виде медианы и интерквартильного интервала (Ме [25-й; 75-й перцентили]). Анализы выполняли в двух повторностях. Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica (версия 12.0 StatSoft Inc., США). Для статистической обработки результатов использовали тесты Манна–Уитни и Вилкоксона. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Характеристика больных РА. Средняя длительность РА составила 24 (от 4 до 156) мес. Большинство больных – 21 (75%) – имели II рентгенологическую стадию заболевания по Штейнброкеру, 7 (25%) – III стадию. Трое больных были серонегативны по АЦЦП, а 4 – серонегативны по РФ, остальные больные (25 и 24 соответственно) были серопозитивны по обоим показателям. Исходно 15 пациентов имели высокую активность заболевания ($DAS28 > 5,1$), остальные 13 – умеренную ($3,2 < DAS28 < 5,1$).

На фоне терапии отмечено значительное уменьшение активности заболевания по индексу DAS28 ($p < 0,001$), числу болезненных (ЧБС) и припухших (ЧПС) суставов ($p < 0,001$). В конце исследования у 4 (14%) больных сохранялась высокая активность РА, 7 (25%) достигли ремиссии ($DAS28 < 2,6$) и 17 (61%) – умеренной активности заболевания.

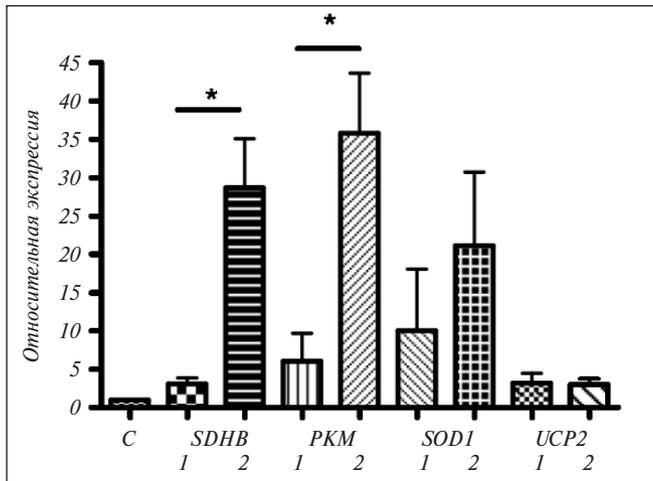
Клинические показатели больных РА на фоне терапии ТОФА. В зависимости от результатов лечения ТОФА больные РА были разделены на три группы. В 1-ю группу вошли 7 пациентов, достигших ремиссии заболевания ($DAS28 < 2,6$); во 2-ю группу – 12 пациентов, ответивших на терапию, но не достигших целевых значений DAS28, у которых активность заболевания статистически значимо снизилась до умеренной ($3,2 < DAS28 < 5,1$); в 3-ю группу – 9 больных, не ответивших на лечение, ($\Delta DAS28 < 0,6$).

Больные 1-й и 2-й групп были значительно старше ($p = 0,05$) пациентов 3-й группы (табл. 1). Кроме того, у этих больных наблю-

Таблица 1. Характеристика больных РА в зависимости от результатов терапии и/или JAK
Table 1. Characteristics of RA patients depending on the results of JAKi therapy

Показатель	1-я группа (n=7; DAS28 < 2,6)		2-я группа (n=12; ΔDAS > DAS28 > 2,6)		3-я группа (n=9; без существенной динамики DAS28) через 3 мес до лечения		p		
	до лечения	через 3 мес	до лечения	через 3 мес	до лечения	через 3 мес			
Возраст, годы	53 [36; 51]		61,5 [56; 68]		40 [29; 55]				
Длительность РА, мес	33 [16; 143,5]		24 [10,5; 54]		24 [11; 51]				
СРБ, мг/мл	1,5 [4,4; 43]	5,4 [0,25; 10]	0,06	27,6 [14,6; 40,3]	1,3 [0,9; 18,6]	0,08	17,5 [6,9; 48,4]	8,2 [2,3; 30,9]	0,31
СОЭ, мм	26 [22; 62]	16 [10; 20]	0,06	32 [18; 42,5]	20 [13; 55]	0,62	38 [22; 49]	60 [46; 76]	0,06
DAS28	5,04 [4; 5,5]	1,96 [1,68; 2,21]	0,01*	5,77 [5,0; 6,4]	3,4 [2,7; 4,5]	<0,001*	5,4 [4,6; 6,1]	5,1 [4,4; 5,6]	0,37
ΔDAS28		3,08		1,92			0,25		
ЧПС	7 [3; 9]	0		8,5 [6,5; 10]	1,5 [0,5; 4,5]	0,001*	9 [3; 13]	5 [2; 6]	0,03*
ЧБС	5 [3; 9]	0		10,5 [6; 12,5]	1 [1; 2]	0,001*	6 [5,5; 14]	4 [1; 12]	0,07

Примечание. * – статистически значимые различия. Здесь и в табл. 2: данные представлены как Ме [25-й; 75-й перцентили]. Для расчета статистической значимости использован t-test Вилкоксона.



Исходная экспрессия генов у больных, достигших (1) и не достигших (2) ремиссии РА на фоне терапии ТОФА. С – экспрессия исследованных генов у здоровых лиц (контроль). * – статистически значимые различия (U-test Манна–Уитни)
 Initial gene expression in patients who achieved (1) and did not achieve (2) remission of RA during TOFA therapy. C – expression of the studied genes in healthy individuals (control). * – statistically significant differences (Mann–Whitney U-test)

далось более выраженное ($p < 0,05$) снижение активности заболевания по DAS28, ЧПС и ЧБС по сравнению с пациентами не ответившими на лечение, у которых выявлены статистически значимое уменьшение ЧПС и тенденция к снижению ЧБС ($p = 0,07$). Однако по уровню СРБ ($p \geq 0,06$) и СОЭ ($p \geq 0,06$) статистически значимых различий между группами на фоне лечения не обнаружено, хотя наблюдалась тенденция ($p = 0,06$) к снижению этих показателей в 1-й группе и к повышению СОЭ ($p = 0,06$) в 3-й группе (см. табл. 1).

Ассоциация экспрессии генов с активностью заболевания до и после терапии iJAK. У больных РА не выявлено статистически значимых изменений уровней всех исследованных генов до и через 3 мес терапии ТОФА, но эти показатели оказались значительно более высокими, чем в контрольной группе.

Вместе с тем до начала терапии ТОФА экспрессия генов SDHB и PKM2 у больных, достигших ремиссии, была значительно ниже ($p < 0,05$), чем у больных 2-й и 3-й групп (см. рисунок). Для остальных исследованных генов обнаружена тенденция сохранялась, однако была статистически значимой.

Кроме того, у больных 1-й группы на фоне лечения ТОФА экспрессия всех исследованных генов имела тенден-

цию к увеличению, тогда как в 3-й группе – к уменьшению (табл. 2), но различия оказались статистически незначимы.

Обсуждение. В настоящее время благодаря внедрению инновационных методов лечения отмечены значительные успехи в подавлении симптомов и достижении ремиссии РА. Вместе с тем излечение заболевания, которое предполагает полное отсутствие манифестации клинических и субклинических проявлений, рецидивов, прогрессирования и, как следствие, полное прекращение терапии, остается сложной задачей [19]. Для ее решения необходимо понять базовые механизмы, которые являются источниками непрерывного воспаления при РА. В качестве скрытых причин сохранения потенциальной возможности активации РА у больных, достигших ремиссии, предполагается исследовать нарушения в адаптивной иммунной системе, синовиальных клетках, а также факторов, непосредственно не связанных с суставами, например функции слизистых оболочек и нейроэндокринных показателей [19]. Кроме того, одной из причин могут быть метаболические нарушения, обусловленные продукцией и перераспределением энергии в клетках больных РА, что было показано в настоящем исследовании: улучшение состояния пациентов на фоне применения iJAK было связано с изменением функционирования путей получения энергии в форме АТФ. В частности, изучение экспрессии генов, отвечающих за продукцию энергии в гликолизе и цикле Кребса, в клетках крови больных РА перед началом терапии ТОФА выявило связь между состоянием энергетического потенциала клеток крови и эффективностью лечения. Так, в результате терапии iJAK ремиссии достигали больные (1-я группа), имеющие значительно более низкую исходную экспрессию генов PKM2 и SDHB, регулирующих продукцию АТФ в гликолизе и цикле Кребса соответственно. Полученные результаты согласуются с данными о том, что сигнальный путь JAK-STAT связан с метаболическими путями продукции и использования энергии, так как активация AMPK, главного регулятора содержания АТФ в клетке, способна блокировать JAK-STAT-зависимые провоспалительные сигнальные пути [20]. Эти данные могут быть использованы для прогнозирования ответа на терапию с целью предотвращения нежелательных явлений, обусловленных неэффективностью лекарственного средства у больных, которые не способны ответить на лечение [21].

Кроме того, наши результаты подтверждают ранее представленные свидетельства того, что ингибирование пути JAK-STAT изменяет митохондриальную функцию клеток [16]. Однако, в отличие от культуры синовиальных эксплантатов *in vitro* [16], клетки крови больных РА по-разному отвечали на терапию. В частности, у больных, достигших ремиссии, экспрессия генов, отвечающих за продукцию АТФ

Таблица 2. Изменение экспрессии генов гликолиза и цикла Кребса у больных РА, достигших ремиссии и рефрактерных к терапии iJAK
 Table 2. Changes in the expression of glycolysis and Krebs cycle genes in RA patients who have achieved remission and are refractory to JAKi therapy

Ген	1-я группа (n=7; DAS28 <2,6)		p	3-я группа (n=9; без существенной динамики DAS28)		p
	до лечения	через 3 мес		до лечения	через 3 мес	
SDHB	2,53 [2,0; 3,48]	9,24 [3,33; 267,5]	0,07	38,5 [9,87; 55]	6,0 [2,67; 25,93]	0,19
PKM2	2,24 [1,63; 5,15]	18,9 [3,68; 259,2]	0,15	48,66 [39; 8,46]	12,22 [3,1; 27]	0,07
SOD1	1,55 [0,69; 7,3]	4,05 [1,92; 220]	0,15	36,1 [0,42; 44,77]	8,21 [1,04; 9,99]	0,08
UCP2	1,84 [0,77; 4,51]	26,45 [4,1; 253]	0,06	3 [2,5; 3,94]	0,5 [0,3; 0,7]	0,15

в гликолизе и цикле Кребса, незначительно увеличивалась в процессе терапии иЖАК. Это может указывать на то, что нормализация метаболизма сопряжена с увеличением выработки энергии в форме АТФ, поскольку ранее сообщалось, что Т-лимфоциты больных РА продуцируют недостаточное количество АТФ [17]. Вероятно, сохранение способности увеличивать продукцию АТФ для обеспечения нормального функционирования Т-лимфоцитов может приводить и к нормализации состояния больного. Не исключено, что у не ответивших на терапию пациентов (3-я группа), у которых экспрессия этих генов имела тенденцию к снижению, метаболизм находится на пределе активности и дальнейшее его повышение невозможно.

Кроме того, у всех обследованных нами больных РА наблюдалось уменьшение ЧПС и ЧБС, включая не ответивших на лечение, у которых воспалительная активность из-

менялась очень незначительно, что объясняется ранее отмеченной ассоциацией между действием иЖАК и снижением показателей боли, обусловленной как воспалением, так и рядом других причин [22].

Заключение. Таким образом, наше исследование показало, что ответ на терапию иЖАК связан с состоянием энергетического метаболизма клеток крови больных РА. При этом по экспрессии генов *PKM2* и *SDHB*, вероятно, можно будет прогнозировать ответ пациента на терапию иЖАК, но для этого необходимо подтверждение полученных результатов на большей когорте больных РА. Дальнейшие исследования нарушений энергетического метаболизма в клетках крови при РА в ответ на действие лекарственных средств позволят выявить внутренние «драйверы» воспалительных процессов при данном заболевании, что будет способствовать поиску путей для его полного излечения.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- 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.
- Vivar N, van Vollenhoven RF. Advances in the treatment of rheumatoid arthritis. *F1000Prime Rep.* 2014 May 6;6:31. doi: 10.12703/P6-31. eCollection 2014.
- Tarp S, Furst DE, Boers M, et al. Risk of serious adverse effects of biological and targeted drugs in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review meta-analysis. *Rheumatology (Oxford).* 2017 Mar 1; 56(3):417-25. doi: 10.1093/rheumatology/kew442.
- Sergeant JC, Hyrich KL, Anderson J, et al. Prediction of primary non-response to methotrexate therapy using demographic, clinical and psychosocial variables: results from the UK Rheumatoid Arthritis Medication Study (RAMS). *Arthritis Res Ther.* 2018 Jul 13;20(1):147. doi: 10.1186/s13075-018-1645-5.
- Buch MH. Defining refractory rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2018 Jul;77(7):966-9. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-212862. Epub 2018 Mar 27.
- Melville AR, Kearsley-Fleet L, Buch MH, Hyrich KL. Understanding Refractory Rheumatoid Arthritis: Implications for a Therapeutic Approach. *Drugs.* 2020 Jun; 80(9):849-57. doi: 10.1007/s40265-020-01309-9.
- Polido-Pereira J, Vieira-Sousa E, Fonseca JE. Rheumatoid arthritis: what is refractory disease and how to manage it? *Autoimmun Rev.* 2011 Sep;10(11):707-13. doi: 10.1016/j.autrev.2011.04.023. Epub 2011 May 5.
- Straub RH, Cutolo M, Buttgerit F, Pongratz G. Energy regulation and neuroendocrine-immune control in chronic inflammatory diseases. *J Intern Med.* 2010 Jun; 267(6):543-60. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02218.x. Epub 2010 Jan 28.
- McInnes IB, Schett G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2017 Jun 10;389(10086):2328-37. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31472-1.
- Speirs C, Williams JJ, Riches K, et al. Linking energy sensing to suppression of JAK-STAT signalling: A potential route for repurposing AMPK activators? *Pharmacol Res.* 2018 Feb;128:88-100. doi: 10.1016/j.phrs.2017.10.001. Epub 2017 Oct 13.
- Gao W, McCormick J, Connolly M, et al. Hypoxia and STAT3 signalling interactions regulate proinflammatory pathways in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jun;74(6):1275-83. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204105. Epub 2014 Feb 13.
- Jung JE, Lee HG, Cho IH, et al. STAT3 is a potential modulator of HIF-1-mediated VEGF expression in human renal carcinoma cells. *FASEB J.* 2005 Aug;19(10):1296-8. doi: 10.1096/fj.04-3099je. Epub 2005 May 26.
- Shirai T, Nazarewicz RR, Wallis BB, et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease. *J Exp Med.* 2016 Mar 7;213(3):337-54. doi: 10.1084/jem.20150900. Epub 2016 Feb 29.
- Boyle DL, Soma K, Hodge J, et al. The JAK inhibitor tofacitinib suppresses synovial JAK1-STAT signalling in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jun;74(6):1311-6. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206028. Epub 2014 Nov 14.
- Strand V, Kremer JM, Gruben D, et al. Tofacitinib in combination with conventional disease-modifying antirheumatic drugs in patients with active rheumatoid arthritis: patient-reported outcomes from a phase III randomized controlled trial. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017 Apr;69(4):592-8. doi: 10.1002/acr.23004.
- McGarry T, Orr C, Wade S, et al. JAK/STAT Blockade Alters Synovial Bioenergetics, Mitochondrial Function, and Proinflammatory Mediators in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2018 Dec; 70(12):1959-70. doi: 10.1002/art.40569. Epub 2018 Oct 27.
- Weyand CM, Wu B, Goronzy JJ. The metabolic signature of T cells in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2020 Mar;32(2):159-67. doi: 10.1097/BOR.0000000000000683.
- Tchetina EV, Poole AR, EM Zaitseva, et al. Differences in mTOR (mammalian target of rapamycin) gene expression in the peripheral blood and articular cartilages of osteoarthritic patients and disease activity. *Arthritis.* 2013;2013:461486. doi: 10.1155/2013/461486. Epub 2013 Jun 25.
- Schett G, Tanaka Y, Isaacs JD. Why remission is not enough: underlying disease mechanisms in RA that prevent cure. *Nat Rev Rheumatol.* 2021 Mar;17(3):135-44. doi: 10.1038/s41584-020-00543-5.
- Rutherford C, Speirs C, Williams JLL, et al. Phosphorylation of Janus kinase 1 (JAK1) by AMP-activated protein kinase (AMPK) links energy sensing to anti-inflammatory signaling. *Sci Signal.* 2016 Nov 8;9(453):ra109. doi: 10.1126/scisignal.aaf8566.
- Liu D, Yuan N, Yu G, et al. Can rheumatoid arthritis ever cease to exist: a review of various therapeutic modalities to maintain drug-free remission? *Am J Transl Res.* 2017 Aug 15;9(8):3758-75. eCollection 2017.
- Simon LS, Taylor PC, Choy EH, et al. The Jak/STAT pathway: A focus on pain in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2021 Feb;51(1):278-84. doi: 10.1016/j.semarthrit.2020.10.008.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

17.03.2021/26.04.2021/27.04.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (Project № АААА-А19-11-9021190145-2). 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 investigation has been conducted with financial support from the Ministry of Education and Science of Russia within scientific topic № АААА-А19-11-9021190145-2. 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>

Сатыбалдыев А.М. <https://orcid.org/0000-0002-1508-0854>

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

Самаркина Е.Ю. <https://orcid.org/0000-0001-7501-9185>

Черкасова М.В. <https://orcid.org/0000-0002-3446-1157>