

# Взаимосвязь лабораторных биомаркеров и ультразвуковых признаков воспаления у пациентов с ревматоидным артритом на фоне терапии биоаналогом ритуксимаба

Авдеева А.С.<sup>1</sup>, Алексеева О.Г.<sup>1</sup>, Рыбакова В.В.<sup>1</sup>, Насонов Е.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

<sup>1</sup>Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; <sup>2</sup>Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

**Цель исследования** — оценить взаимосвязь лабораторных биомаркеров и ультразвуковых признаков воспаления у пациентов с ревматоидным артритом на фоне терапии биоаналогом ритуксимаба (РТМ).

**Пациенты и методы.** Обследовано 20 больных с достоверным диагнозом РА. Всем пациентам проведено по 2 инфузии РТМ (Ацелбия®) в дозе 600 мг внутривенно с интервалом в 2 нед на фоне терапии метотрексатом, нестероидными противовоспалительными препаратами и глюкокортикоидами. Клинические и лабораторные показатели анализировались непосредственно перед началом терапии, а затем через 12 и 24 нед после первой инфузии препарата.

**Результаты и обсуждение.** К 24-й неделе терапии РТМ хороший/умеренный эффект по критериям EULAR зарегистрирован у 17 (85%) пациентов; ремиссия по DAS28 (<2,6) достигнута у 4 (20%) больных, SDAI (≤3,3) — у 2 (10%), CDAI (≤2,8) — у 1 (5%). До начала лечения активный синовит по данным энергетического доплеровского картирования (ЭД) выявлен у 13 (65%) пациентов, а при сканировании в режиме серой шкалы — у 20 (100%). На фоне терапии биоаналогом РТМ наблюдалось значимое уменьшение воспалительных изменений в суставах, и к 24-й неделе после начала лечения медиана ЭД составила 0,5; активное воспаление сохранялось у 7 (35%) больных. Как показал ROC-анализ, исходный уровень интерлейкина (ИЛ) 6 >100,0 пг/мл ассоциируется с сохранением воспалительной активности по данным ЭД к 24-й неделе терапии биоаналогом РТМ, при этом чувствительность составила 85% и специфичность — 62% (AUC 0,78, 95% доверительный интервал 0,57–0,99)

**Заключение.** Выявлена ассоциация между повышенным уровнем провоспалительных цитокинов, в основном ИЛ6, и активностью синовиального воспаления по данным УЗИ. Для прогнозирования сохраняющейся воспалительной активности по результатам ЭД наиболее перспективным маркером является ИЛ6, другие анализируемые показатели имеют худшие параметры чувствительности и специфичности.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит; активность заболевания; ультразвуковое исследование; провоспалительные цитокины; биоаналог ритуксимаба.

**Контакты:** Анастасия Сергеевна Авдеева; 9056249400@mail.ru

**Для ссылки:** Авдеева АС, Алексеева ОГ, Рыбакова ВВ, Насонов ЕЛ. Взаимосвязь лабораторных биомаркеров и ультразвуковых признаков воспаления у пациентов с ревматоидным артритом на фоне терапии биоаналогом ритуксимаба. Современная ревматология. 2022;16(3):29–36. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-3-29-36

## Relationship between laboratory biomarkers and ultrasonographic signs of inflammation in patients with rheumatoid arthritis treated with a rituximab biosimilar

Avdeeva A.S.<sup>1</sup>, Alekseeva O.G.<sup>1</sup>, Rybakova V.V.<sup>1</sup>, Nasonov E.L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; <sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow

<sup>1</sup>34A, Kashirskoe shosse, Moscow 115522, Russia; <sup>2</sup>8, Trubetskaya street, Build. 2, Moscow 119991, Russia

**Objective:** to assess the relationship between laboratory biomarkers and ultrasonographic signs of inflammation in patients with rheumatoid arthritis during therapy with a rituximab (RTM) biosimilar.

**Patients and methods.** 20 patients with definite diagnosis of RA were examined. All patients received 2 infusions of RTM (Acellbia®), at a dose of 600 mg intravenously 2 weeks apart during therapy with methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and glucocorticoids. Clinical and laboratory parameters were analyzed immediately before the start of therapy, and then 12 and 24 weeks after the first infusion of the drug.

**Results and discussion.** By the 24th week of RTM therapy, a good/moderate effect according to the EULAR criteria was registered in 17 (85%) patients; remission according to DAS28 (<2.6) was achieved in 4 (20%) patients, SDAI (≤3.3) — in 2 (10%), CDAI (≤2.8) — in 1 (5%). Prior to the start of treatment, active synovitis was detected in 13 (65%) patients by power Doppler imaging (PD), and in 20 (100%) patients by gray scale scanning. During therapy with the RTM biosimilar, a significant decrease in inflammatory changes in the joints was observed, and by the

24th week after the start of treatment, the median PD was 0.5; active inflammation persisted in 7 (35%) patients. As shown by ROC analysis, the initial level of interleukin (IL) 6 >100.0 pg/ml is associated with the persistence of inflammatory activity according to PD by the 24th week of therapy with the RTM biosimilar, while the sensitivity was 85% and the specificity was 62% (AUC 0.78, 95% CI 0.57–0.99)

**Conclusion.** An association was found between an increased level of pro-inflammatory cytokines, mainly IL6, and the activity of synovial inflammation according to ultrasound data. IL6 is the most promising marker for predicting persistent inflammatory activity based on the results of PD; other analyzed parameters have worse sensitivity and specificity parameters.

**Key words:** rheumatoid arthritis; disease activity; sonography; pro-inflammatory cytokines; rituximab biosimilar.

**Contact:** Anastasia Sergeevna Avdeeva; 9056249400@mail.ru

**For reference:** Avdeeva AS, Alekseeva OG, Rybakova VV, Nasonov EL, et al. Relationship between laboratory biomarkers and ultrasonographic signs of inflammation in patients with rheumatoid arthritis treated with a rituximab biosimilar. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2022;16(3):29–36. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-3-29-36

Ультразвуковые (УЗ) методы исследования с успехом применяются для оценки структуры мелких суставов кистей и стоп. При проведении УЗИ суставов используются различные варианты сканирования, основными из которых являются режим серой шкалы (СШ), предоставляющий информацию об анатомии и морфологических изменениях суставов, и метод энергетического доплеровского картирования (ЭД), позволяющий визуализировать микроциркуляторный кровоток в исследуемой области. Таким образом, СШ отражает пролиферацию синовиальной оболочки, а ЭД – микроциркуляторный кровоток в воспаленной синовии [1–4].

Современные принципы фармакотерапии ревматоидного артрита (РА) основаны на раннем назначении базисных противовоспалительных препаратов (БПВП), в первую очередь метотрексата (МТ), в дебюте болезни (концепция «окна возможностей»), а также на применении различных классов генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), что в ряде случаев приводит к стойкой ремиссии [5–7]. В некоторых работах продемонстрировано, что краткосрочный и долгосрочный прогноз при РА гораздо более благоприятен в случае достижения ремиссии на ранних стадиях болезни [8, 9]. После широкого внедрения в клиническую практику ГИБП стал более активно обсуждаться вопрос объективной оценки активности заболевания и выявления субклинического воспаления суставов. Полагают, что УЗИ суставов может являться полезным методом определения субклинического воспаления при отсутствии активности по данным клинических индексов [10]. В связи с этим УЗ-оценку стали включать в ряд крупных клинических исследований для выявления латентной воспалительной активности [11–15]. В крупном метаанализе, объединившем 19 исследований и в общей сложности 1618 пациентов с РА, из которых 1368 находились в состоянии клинической ремиссии, показано, что по данным СШ и ЭД воспалительные изменения в суставах отсутствовали (СШ-, ЭД-) только у 15% пациентов, у остальных больных имелось субклиническое воспаление (СШ+, ЭД+ у 84%; СШ+, ЭД- у 41% СШ-, ЭД+ у 44%). У пациентов с УЗ-признаками активного синовита (СШ+, ЭД+) регистрировался высокий риск обострения заболевания (отношение шансов, ОШ 3,2) и прогрессирования деструктивных изменений в суставах (ОШ 9,13) [14]. Активный синовит по данным УЗИ ассоциировался с определенными иммунологическими нарушениями, изучение которых может позволить более объективно оценить воспалительную активность [16, 17].

Внедрение ГИБП в клиническую практику, с одной стороны, повысило эффективность терапии и улучшило

прогноз заболевания у пациентов с наиболее тяжелыми формами РА, а с другой – привело к значительному удорожанию лечения [18]. Снижение стоимости лечения эффективными, но дорогостоящими ГИБП и, как следствие, увеличение доступности инновационной терапии для пациентов, живущих в странах с ограниченными экономическими ресурсами, – приоритетная задача здравоохранения во всем мире. Эта проблема частично решена благодаря разработке биоаналогов (biosimilars) ГИБП, широкое применение которых в клинической практике стало возможным благодаря окончанию срока действия патентов для многих оригинальных ГИБП [19, 20].

**Цель** настоящей работы – оценка взаимосвязи лабораторных биомаркеров и УЗ-признаков воспаления у пациентов с РА на фоне терапии биоаналогом ритуксимаба (РТМ, Ацеллбия®).

**Пациенты и методы.** Обследовано 20 больных с достоверным диагнозом РА по критериям ACR/EULAR (American College of Rheumatology / European Alliance of Associations for Rheumatology) 2010 г.).

Большинство больных были женского пола, среднего возраста, с длительным течением заболевания (медиана, Ме длительности РА – 39,5 мес), серопозитивными по IgM ревматоидному фактору (РФ) и антителам к циклическому цитрулинированному пептиду (АЦЦП), имели высокую активность воспалительного процесса, II или III рентгенологическую стадию, II функциональный класс (ФК), умеренное нарушение жизнедеятельности (табл. 1). До начала терапии биоаналогом РТМ пациенты получали МТ в стабильной дозе не менее 4 нед (Ме 15 мг; [10; 17,5] мг), а также нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и глюкокортикоиды (ГК) до 10 мг/сут без достаточного терапевтического эффекта.

Всем больным проведено по 2 инфузии биоаналога РТМ в дозе 600 мг внутривенно с интервалом в 2 нед на фоне терапии МТ, НПВП и ГК. Клинические и лабораторные показатели анализировали непосредственно перед началом терапии, через 12 и 24 нед после первой инфузии. Для оценки эффективности лечения использовали критерии EULAR. [21] Ремиссию заболевания оценивали по индексу DAS28.

СОЭ определяли стандартным международным методом Вестергрена (норма ≤30 мм/ч). Сывороточную концентрацию СРБ, IgM РФ – иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия), при этом для оценки уровня СРБ использовался высокочувствительный

тест с латексным усилением (чувствительность – 0,175 мг/л). Нормальным уровнем СРБ в сыворотке крови считали значение  $\leq 5,0$  мг/л, а верхней границей нормы IgM РФ в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя – 15,0 МЕ/мл. Количественную оценку уровня АЦЦП в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих наборов реагентов Axis-Shield (Великобритания). Верхняя граница нормы составляла 5,0 ЕД/мл. Уровень матриксной металлопротеиназы 3 (ММП3) в сыворотке крови измеряли методом ИФА с помощью коммерческого набора реагентов фирмы Invitrogen (США). Согласно рекомендациям фирмы-изготовителя, верхняя граница нормы – 28,8 нг/мл. При исследовании 30 сывороток здоровых доноров верхняя граница нормы не превышала 19,4 нг/мл. Концентрацию 27 цитокинов в сыворотке крови: интерлейкина (ИЛ) 1 $\beta$ , ИЛ1 $\alpha$ , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13, ИЛ15, ИЛ17, Eotaxin, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, IFN $\gamma$ , IP10, MCP1, MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , PDGFbb, RANTES, фактора некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$ , VEGF определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP на анализаторе Bio-Plex array system (BIO-RAD, США). Верхняя граница нормы (в пг/мл) при исследовании 30 сывороток здоровых доноров составила: ИЛ1 $\beta$  – 10,2; ИЛ1 $\alpha$  – 1287,4; ИЛ2 – 153,6; ИЛ4 – 10,9; ИЛ5 – 10,6; ИЛ6 – 39,6; ИЛ7 – 287,7; ИЛ8 – 50,2; ИЛ9 – 307,5; ИЛ10 – 554,6; ИЛ12 – 53,6; ИЛ13 – 110,4; ИЛ15 – 66,8; ИЛ17 – 471,3; Eotaxin – 1616; FGF-basic – 71,8; G-CSF – 52,5; GM-CSF – 261,1; IFN $\gamma$  – 4298,7; IP10 – 20219,7; MCP1 – 280,1; MIP1 $\alpha$  – 42,7; MIP1 $\beta$  – 165,9; ФНО $\alpha$  – 145,9; VEGF – 7693,1. Исследуемые сыворотки хранили при температуре -70 °С.

УЗИ кистей и стоп семи суставных зон (запястья, II–III пястно-фаланговых, II–III проксимальных межфаланговых, II, V плюснефаланговых суставов) клинически доминирующей стороны проводили на аппаратах Logiq 9 (GE, США) и MyLabTwice (ESAOTE, Италия) с использованием мультичастотного линейного датчика (10–18 МГц) с техникой ЭД, параметры которого были адаптированы для регистрации низкоскоростных потоков (PRF 300–600 Гц, низкий фильтр, динамический диапазон – 20–40 дБ). УЗ-признаками синовита являлись внутрисуставной выпот и пролиферация синовиальной оболочки в режиме СШ (В-режим) и гиперваскуляризация синовии в режиме ЭД согласно критериям OMERACT (Outcome Measures in Rheumatology Clinical Trials) [22]. В режиме СШ и ЭД регистрация синовита осуществлялась на основании полуколичественной оценки толщины синовии и ее гиперваскулярных потоков, которая также выражалась в баллах от 0 до 3.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США), включая общепринятые методы параметрического и

Таблица 1. Клинико-иммунологическая характеристика больных РА до назначения РТМ (n=20)  
Table 1. Clinical and immunological characteristics of RA patients before RTM administration (n=20)

Показатель	Значение
Мужчины/женщины, n (%)	2 (10)/18 (90)
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	61,5 [54,0; 66,5]
Длительность заболевания, мес, Ме [25-й; 75-й перцентили]	39,5 [20,0; 84,0]
Рентгенологическая стадия, n (%): I / II / III / IV	2 (10) / 13 (65) / 4 (20) / 1 (5)
ФК, n (%): I / II / III / IV	4 (20) / 11 (55) / 5 (25) / 0
DAS28, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5,6 [4,9; 6,8]
HAQ, Ме [25-й; 75-й перцентили]	1,7 [1,2; 2,3]
СОЭ по Вестергрэну, мм/ч, Ме [25-й; 75-й перцентили]	45,0 [19,5; 80,0]
СРБ, мг/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]	12,3 [8,9; 42,5]
IgM РФ, МЕ/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]	197,0 [83,2; 492,5]
IgM РФ+, n (%)	18 (90)
IgM РФ-, n (%)	2 (10)
АЦЦП, Ед/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]	161,8 [98,3; 300,0]
АЦЦП+, n (%)	20 (100)

Примечание. HAQ – Health Assessment Questionnaire.

непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уоллиса, результаты представлены в виде Ме с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили]. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (протокол №32 от 20.12.2018). Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Результаты.** До начала терапии РТМ индексы DAS28 (5,6 [4,9; 6,8]), SDAI (Simplified Disease Activity Index; 27,17 [23,08; 39,9]) и CDAI (Clinical Disease Activity Index; 26,6 [22,25; 37]) соответствовали высокой активности РА. К 24-й неделе лечения РТМ хороший/умеренный эффект по критериям EULAR зарегистрирован у 17 (85%) пациентов; ремиссия по DAS28 (<2,6) была достигнута у 4 (20%) больных, SDAI ( $\leq 3,3$ ) – у 2 (10%), CDAI ( $\leq 2,8$ ) – у 1 (5%).

Уровни исследуемых цитокинов у больных РА и здоровых доноров представлены в табл. 2. Как видно из табл. 2, у больных РА отмечалась статистически значимо более высокая концентрация провоспалительных цитокинов (ИЛ1 $\beta$ , ИЛ6, ИЛ12, ИЛ15, ФНО $\alpha$ ), хемокинов (ИЛ8, MIP1 $\beta$ , MCP1) и факторов роста (G-CSF, FGF) по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0,05$ ). У больных РА уровень ряда противовоспалительных цитокинов (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ1 $\alpha$ , Eotaxin) был выше ( $p < 0,05$ ), тогда как содержание отдельных

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Таблица 2. Исходный цитокиновый профиль пациентов с РА и здоровых доноров, Me [25-й; 75-й перцентили], пг/мл  
Table 2. Initial cytokine profile of RA patients and healthy donors, Me [25th; 75th percentile], pg/ml

Показатель	Больные РА (n=20)	Здоровые доноры (n=30)
ИЛ1β	14,4 [4,8; 41,3]*, #	4,1 [2,6; 4,9]
ИЛ1Ra	1808 [461,8; 3285,3]*, #	150,6 [111,2; 253,8]
ИЛ2	45,3 [0,01; 201,9]#	10,8 [5,5; 13,9]
ИЛ4	7,3 [6,4; 9,5]*, #	3,3 [0,2; 5,9]
ИЛ5	11,9 [2,6; 28,9]*, #	2,9 [0,2; 5,2]
ИЛ6	105,5 [38,5; 381,7]*, #	7,8 [4,5; 13,1]
ИЛ7	9,2 [5,1; 72,2]	8,2 [0,5; 21,5]
ИЛ8	41,5 [34,4; 53,0]*, #	12,5 [4,8; 16,3]
ИЛ9	131,8 [58,7; 354,5]*, #	34,2 [26,3; 42,4]
ИЛ10	103,3 [20,2; 466,9]*, #	13,2 [5,8; 37,5]
ИЛ12	123,5 [43,9; 365,3]*, #	5,8 [2,2; 9,9]
ИЛ13	11,8 [5,5; 102,5]	16,7 [9,9; 22,4]
ИЛ15	132,9 [40,9; 290,4]*, #	6,7 [3,9; 17,4]
ИЛ17	76,1 [66,3; 100,1]	22,9 [5,2; 90,3]
Eotaxin	502,8 [223,6; 1373,8]*, #	102,4 [19,4; 585,7]
FGF basic	43,2 [35,7; 51,4]*, #	27,3 [19,3; 44,3]
G-CSF	117,8 [92,8; 332,2]*, #	10,9 [2,4; 21,3]
GM-CSF	0,01 [0,01; 115,9]	39,9 [21,6; 61,3]
IFNγ	493,3 [181,3; 1294,5]	285,4 [112,3; 1037,9]
IP10	2545,3 [1878,9; 3070,4]	717,8 [188,7; 4064,8]
MCP1	181,9 [45,4; 511,5]*, #	48,6 [22,3; 120,7]
MIP1α	5,1 [4,4; 7,8]*, #	10,8 [8,8; 18,1]
MIP1β	94,4 [74,4; 134,5]*, #	66,0 [49,4; 99,4]
PDGFbb	3548,5 [2771,3; 4248,2]*, #	26024,5 [5854,8; 58715,0]
RANTES	8584,2 [7304,3; 9665,5]	—
ФНОα	546,4 [170,6; 1751,9]*, #	38,9 [17,2; 64,9]
VEGF	111,4 [67,4; 370,5]	205,6 [63,9; 312,8]

\* p<0,05 по сравнению с контрольной группой; # изменение уровня ≥30% по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3. Динамика воспалительных изменений в суставах по данным УЗИ, Me [25-й; 75-й перцентили], баллы  
Table 3. Dynamics of inflammatory changes in the joints according to ultrasonographic data, Me [25th; 75th percentile], points

Режим	Исходно	Через 24 нед
СШ	9,5 [7,0; 15,0]	9,0 [6,0; 11,5]#
ЭД	2,0 [1,0; 3,5]	0,5 [0,0; 2,0]*

\* p<0,05 и # p=0,05 по сравнению с исходным уровнем.

факторов роста (ИЛ7, VEGF), хемокинов (MIP1α, IP10) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ13) оказалось либо ниже, либо не отличалось от такового в контрольной группе.

До начала терапии активный синовит по данным ЭД выявлялся у 13 (65%) пациентов, а при сканировании в режиме СШ – у всех больных. На фоне применения биоаналога РТМ наблюдалось статистически значимое уменьшение воспалительных изменений в суставах. К 24-й неделе лечения Me ЭД составила 0,5 (табл. 3), активное воспаление сохранялось у 7 (35%) больных.

Исходно регистрировалась позитивная взаимосвязь показателей ЭД с уровнем СРБ (r=0,54, p=0,02), ИЛ6 (r=0,46, p=0,04), ИЛ13 (r=0,47, p=0,03), а показателей СШ с уровнем ИЛ2 (r=0,45, p=0,04), ИЛ5 (r=0,53, p=0,02), ИЛ13 (r=0,46, p=0,03), ИЛ15 (r=0,45, p=0,04), MIP1α (r=0,45, p=0,04) и ФНОα (r=0,46, p=0,04).

В зависимости от наличия активного воспаления по данным ЭД до начала лечения все пациенты были разделены на две группы, в которых оценивались лабораторные показатели воспалительной активности (табл. 4).

У пациентов с воспалением по данным ЭД до начала терапии отмечались статистически более высокие активность заболевания по DAS28, уровень СРБ и СОЭ. Значимых различий в показателях цитокинового профиля не выявлено, однако обнаружена тенденция к повышению уровня ИЛ5, ИЛ6 и ММР3 при наличии активного воспаления.

Для оценки роли лабораторных биомаркеров в прогнозировании сохранения активного воспаления на фоне анти-В-клеточной терапии был оценен исходный уровень лабораторных показателей в зависимости от УЗ-изменений через 24 нед лечения (табл. 5).

У пациентов с сохраняющимся воспалением по данным ЭД через 24 нед терапии отмечалась исходно более высокая концентрация ИЛ6 по сравнению с больными без воспаления по результатам УЗИ.

Как показал ROC-анализ, исходный уровень ИЛ6 >100,0 пг/мл ассоциируется с сохранением воспалительной активности, выявленной при ЭД, к 24-й неделе лечения био-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

аналогом РТМ с чувствительностью 85% и специфичностью 62% (AUC 0,78; 95% ДИ 0,57–0,99; см. рисунок).

**Обсуждение.** Методы УЗ-диагностики все шире внедряются в клиническую практику. УЗИ можно использовать как инструмент для оценки воспаления суставов, в том числе субклинического, а также для мониторинга активности заболевания на фоне терапии. Нами была проанализирована связь между УЗ-показателями воспалительной активности и уровнем иммунологических маркеров. У пациентов с воспалением по данным ЭД отмечались значимо более высокая активность заболевания по DAS28, высокие уровень СРБ и СОЭ, а также тенденция к повышению концентрации ИЛ5, ИЛ6 и ММП3. Для прогнозирования сохраняющейся воспалительной активности по данным ЭД наиболее перспективным маркером можно считать ИЛ6, его исходный уровень >100,0 пг/мл ассоциировался с сохранением воспаления, зафиксированного при ЭД, к 24-й неделе терапии биоаналогом РТМ с чувствительностью 85% и специфичностью 62%. Другие анализируемые показатели имеют худшие параметры чувствительности и специфичности.

Сходные данные были получены А. Baillet и соавт. [17], которые на большой группе пациентов (когорта Etude et Suive des POLyarthrites Indifferenciees Recentes, ESPOIR) с ранним РА (n=126) проанализировали связь между исходным уровнем ИЛ6, УЗ-показателями воспалительной активности и прогрессированием деструкции суставов по данным рентгенологического исследования в течение 3 лет наблюдения. Была выявлена связь между базальным уровнем ИЛ6, числом припухших суставов (ЧПС) и синовитом по данным ЭД и СШ, а также наличием эрозий. Интересно, что концентрация СРБ коррелировала только с ЧПС (p<0,001). Эти результаты позволяют рассматривать базальный уровень ИЛ6 в качестве биомаркера воспаления по данным УЗИ. А. Fazaа и соавт. [18] обнаружили более высокий уровень растворимых рецепторов ИЛ17 в группе пациентов с активным воспалением, выявленным при УЗИ. Имеются сведения о другом перспективном УЗ-маркере синовита – хемокине CXCL13, – концентрация

**Таблица 4.** Активность заболевания и иммунологические показатели в группах больных в зависимости от наличия воспаления по данным ЭД до начала терапии, Ме [25-й; 75-й перцентили]  
Table 4. Disease activity and immunological parameters in groups of patients depending on the presence of inflammation according to PD before therapy, Me [25th; 75th percentile]

Показатель	Наличие воспаления (n=13)	Отсутствие воспаления (n=7)	p*
DAS28, баллы	6,6 [5,6; 6,9]	5,2 [4,3; 5,4]	0,01
SDAI, баллы	39,4 [25,5; 44,6]	24,9 [22,6; 27,5]	–
CDAI, баллы	35,0 [22,0; 38,5]	24,0 [22,5; 26,5]	–
СОЭ, мм/ч	70,0 [40,0; 95,0]	17,0 [8,0; 30,0]	0,0001
СРБ, мг/л	39,5 [10,2; 48,7]	8,6 [1,9; 10,0]	0,0001
IgM РФ, МЕ/мл	283,0 [170,0; 414,0]	150,0 [9,5; 699,0]	–
IgA РФ, ЕД/мл	69,8 [53,4; 200,4]	25,7 [15,1; 164,0]	–
АЦЦП, ЕД/мл	120,4 [71,2; 265,1]	51,9 [14,2; 264,5]	–
АМЦВ, ЕД/мл	399,6 [111,4; 1000,0]	225,9 [13,84; 1000,0]	–
ММП3, нг/мл	154,3 [72,9; 200]	42,9 [25,1; 81,4]	0,06
ИЛ1β, пг/мл	10,5 [6,2; 44,0]	18,0 [4,3; 30,5]	–
ИЛ1Ra, пг/мл	1522,5 [849,2; 3355,7]	2093,8 [339,3; 2682,3]	–
ИЛ2, пг/мл	46,1 [5,89; 253,1]	18,9 [0,01; 131,2]	–
ИЛ4, пг/мл	7,1 [6,5; 9,4]	7,5 [5,9; 9,6]	–
ИЛ5, пг/мл	15,2 [5,3; 37,7]	2,7 [0,01; 15,6]	0,05
ИЛ6, пг/мл	111,6 [95,1; 476,9]	80,2 [18,6; 104,1]	0,06
ИЛ7, пг/мл	10,6 [5,3; 110,3]	7,8 [2,6; 28,8]	–
ИЛ8, пг/мл	37,2 [34,7; 51,2]	45,4 [31,5; 54,9]	–
ИЛ9, пг/мл	136,5 [61,4; 248,9]	63,4 [37,1; 569,1]	–
ИЛ10, пг/мл	140,5 [32,0; 478,2]	64,5 [13,6; 332,1]	–
ИЛ12, пг/мл	154,4 [59,3; 278]	60,0 [29,0; 452,6]	–
ИЛ13, пг/мл	14,6 [9,9; 160,2]	6,2 [0,01; 21,1]	–
ИЛ15, пг/мл	155,9 [69,7; 317,6]	85,9 [0,01; 243,9]	–
ИЛ17, пг/мл	74,6 [67,9; 98,5]	77,8 [60,8; 105,4]	–
Eotaxin, пг/мл	632,8 [299,1; 1889,9]	492,7 [174,1; 584,3]	–
FGF basic, пг/мл	44,9 [38,8; 52,3]	37,8 [34,6; 50,5]	–
G-CSF, пг/мл	123,8 [99,6; 379,9]	106,3 [80,5; 258,5]	–
GM-CSF, пг/мл	0,01 [0,01; 79,0]	0,01 [0,01; 152,8]	–
IFNγ, пг/мл	450,9 [284,9; 1578,1]	714,6 [181,3; 892,2]	–
IP10, пг/мл	2555,2 [2135,1; 3289,9]	1990,3 [1764,3; 2850,8]	–
MCP1, пг/мл	150,4 [73,5; 714,3]	213,3 [35,0; 246,7]	–
MIP1α, пг/мл	5,5 [4,6; 8,2]	4,8 [4,0; 5,7]	–
MIP1β, пг/мл	92,6 [67,9; 130,9]	110,9 [84,9; 138,1]	–
PDGFbb, пг/мл	3817,9 [2925,9; 4220,9]	3418,5 [2451,4; 4468,2]	–

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Показатель	Наличие воспаления (n=13)	Отсутствие воспаления (n=7)	p*
RANTES, пг/мл	8509,7 [7398,6; 8998,5]	9833,9 [7210,0; 11677,6]	—
ФНО $\alpha$ , пг/мл	447,7 [221,5; 1936,8]	645,1 [159,5; 705,4]	—
VEGF, пг/мл	121,6 [78,2; 599,6]	102,7 [33,1; 133,9]	—

**Примечание.** \* — различия между группами больных РА с наличием и отсутствием воспаления; АМЦВ — антитела к модифицированному цитруллинированному виментину.

**Таблица 5. Исходные клиничко-лабораторные показатели у больных в зависимости от УЗ-изменений через 24 нед терапии, Ме (25-й; 75-й перцентили)**  
**Table 5. Baseline clinical and laboratory parameters in patients depending on ultrasonographic changes after 24 weeks of therapy, Me [25th; 75th percentile]**

Показатель	Наличие воспаления по данным ЭД (n=7)	Отсутствие воспаления по данным ЭД (n=13)
DAS28, баллы	6,6 [5,4; 7,2]	5,4 [4,7; 5,7]
SDAI, баллы	39,6 [23,2; 47,9]	26,3 [22,9; 31,9]
CDAI, баллы	36,5 [23,0; 47,0]	25,5 [22,0; 31,0]
СОЭ, мм/ч	62,0 [22,0; 130,0]	40,0 [17,0; 73,0]
СРБ, мг/л	37,1 [9,2; 46,0]	10,0 [8,6; 44,4]
IgM РФ, МЕ/мл	318,0 [170,0; 519,0]	201,0 [79,3; 502,0]
IgA РФ, ЕД/мл	58,3 [53,4; 147,2]	104,7 [16,9; 200,4]
АЦЦП, ЕД/мл	159,6 [17,2; 265,1]	119,3 [51,9; 264,5]
АМЦВ, ЕД/мл	225,9 [86,9; 1000,0]	580,4 [60,8; 1000,0]
ММП3, нг/мл	154,3 [56,1; 200,0]	75,9 [26,7; 123,4]
ИЛ1 $\beta$ , пг/мл	18,5 [4,5; 63,3]	10,5 [4,8; 30,5]
ИЛ1 $\alpha$ , пг/мл	3355,7 [448,5; 14548,3]	953,2 [475,1; 2206,7]
ИЛ2, пг/мл	253,1 [0,01; 850,9]	18,9 [0,01; 75,8]
ИЛ4, пг/мл	7,0 [5,9; 9,3]	7,8 [6,5; 9,6]
ИЛ5, пг/мл	15,2 [2,7; 30,8]	5,3 [2,7; 27,0]
ИЛ6, пг/мл	286,4 [106,8; 590,7]	95,1 [31,5; 108,5]*
ИЛ7, пг/мл	10,6 [3,8; 361,5]	8,5 [5,3; 28,8]
ИЛ8, пг/мл	47,0 [36,4; 54,9]	39,2 [33,9; 46,2]
ИЛ9, пг/мл	127,0 [50,8; 385,9]	192,3 [62,2; 323,2]
ИЛ10, пг/мл	148,2 [21,2; 1877]	66,1 [19,2; 332,1]
ИЛ12, пг/мл	154,4 [35,7; 1064,4]	72,1 [46,1; 237,7]
ИЛ13, пг/мл	22,7 [6,2; 275,5]	11,6 [2,7; 21,1]
ИЛ15, пг/мл	317,6 [23,5; 845,3]	94,9 [58,5; 176,5]
ИЛ17, пг/мл	67,9 [64,0; 74,6]	77,8 [74,9; 101,6]
Eotaxin, пг/мл	857,7 [423,2; 3681,3]	340,9 [216,1; 584,3]
FGF basic, пг/мл	40,9 [35,7; 54,1]	43,9 [35,7; 48,2]
G-CSF, пг/мл	102,3 [94,1; 258,5]	130,6 [91,4; 382,5]
GM-CSF, пг/мл	0,01 [0,01; 418,7]	0,01 [0,01; 72,7]

которого коррелирует с клинической активностью РА и наличием воспаления по данным УЗИ. При статистическом анализе было установлено, что базальный уровень СХСЛ13 >100 пг/мл являлся единственным независимым предиктором остаточного воспаления суставов по данным УЗИ [23]. Необходимо отметить, что результаты ЭД и СШ хорошо коррелируют с экспрессией генов широкого спектра провоспалительных медиаторов (ФНО $\alpha$ , ИЛ1 $\beta$ , VEGF и в меньшей степени ИЛ6) в синовиальной ткани пациентов с РА, полученной с помощью биопсии [18].

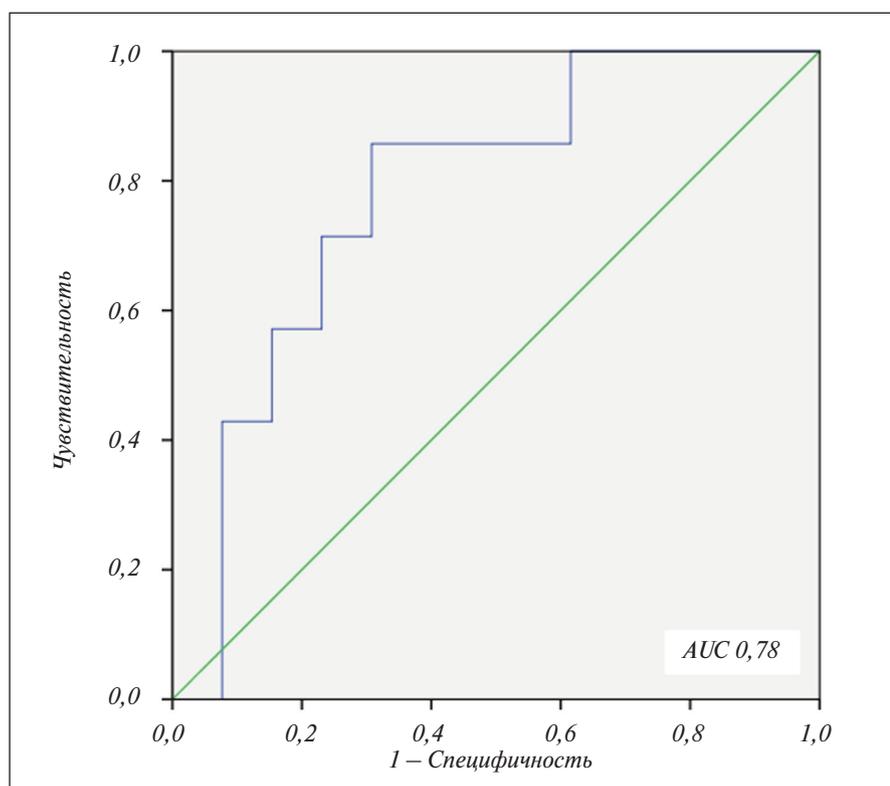
Представляют интерес сведения о важной роли ММП3 в прогнозировании сохранения активного воспаления по данным ЭД. L. Zhou и соавт. [24] отметили позитивную ассоциацию между уровнем ММП3 и воспалением суставов по данным УЗИ, а также более выраженными воспалительными изменениями в суставах у пациентов с повышенным уровнем ММП3 в сыворотке крови. Поскольку уровень ММП3 в сыворотке крови непосредственно отражает степень активности синовита, оценка данного показателя представляется крайне актуальной и перспективной. В нашей работе была определена тенденция к более высокому уровню ММП3 в группах пациентов с активным воспалением.

F.V.G. Lamers-Karnebeek и соавт. [25] оценили роль УЗИ в прогнозировании обострения заболевания после отмены ингибиторов ФНО $\alpha$  (иФНО $\alpha$ ). Авторы представили результаты 9-месячного наблюдения за 248 пациентами с РА, достигшими низкой активности заболевания на фоне терапии иФНО $\alpha$  и прекратившими терапию ГИБП (данные исследования Potential Optimisation of Expediency of TNF-I, POET). Обострение регистрировалось у 43% больных, артрит >1 сустава по данным УЗИ на момент отмены ГИБП — у 156. Предикторами обострения заболевания являлись большая длительность заболевания, серопозитивность по РФ и АЦЦП, а также наличие артрита >1 сустава по данным УЗИ (ОШ 1,77; 95% ДИ 1,16–2,7).

Несколько отличные данные были получены Н. Kameda и соавт. [26], которые проанализировали 36 пациентов с РА, прекративших терапию ГИБП и находившихся в состоянии ремиссии. Исходно у больных отсутствовали бо-

Показатель	Наличие воспаления по данным ЭД (n=7)	Отсутствие воспаления по данным ЭД (n=13)
IFN $\gamma$ , пг/мл	535,7 [175,2; 2939,2]	317,5 [181,3; 892,2]
IP10, пг/мл	2555,2 [1934,8; 3289,9]	2471,0 [1764,3; 2850,8]
МСР1, пг/мл	308,7 [42; 1119,3]	90,7 [48,7; 246,7]
МІР1 $\alpha$ , пг/мл	5,0 [4,4; 7,7]	5,1 [4,4; 8,0]
МІР1 $\beta$ , пг/мл	83,7 [63,6; 99,1]	110,9 [84,9; 151]
PDGFbb, пг/мл	2925,9 [2656,1; 3308,7]	3975,8 [3418,5; 4275,6]
ФНО $\alpha$ , пг/мл	1566,9 [169,9; 3472]	324,6 [171,2; 705,4]
VEGF, пг/мл	116,2 [73,6; 599,6]	106,6 [61,2; 200,6]

\*  $p < 0,05$  между группами.



ROC-кривая, отражающая информативность определения базального уровня ИЛ6 для прогнозирования сохранения воспалительной активности через 24 нед терапии биоаналогом РТМ

ROC curve information value for determining the basal level of IL6 for predicting the persistence of inflammatory activity after 24 weeks of therapy with the RTM biosimilar

лезненные и припухшие суставы, медианное значение ЭД составляло 0. В течение 2 лет наблюдения у 20 (55,6%) пациентов отмечалось обострение заболевания, что не коррелировало с результатами инструментальных методов обследования. У 2 больных с активным воспалением по результатам ЭД обострение регистрировалось через 55 и 105 дней после начала наблюдения. Рассмотрев широкий спектр лабораторных показателей, авторы пришли к выводу, что исходно повышенный уровень ИЛ2 и более низкое содержание рФНО $\alpha$  (растворимых ФНО-рецепторов I типа) являются предикторами сохранения ремиссии заболевания.

В целом анализ связи между воспалительными изменениями суставов по данным УЗИ и лабораторными показателями воспалительной активности позволяет констатировать наличие ассоциации между повышенным уровнем СРБ, СОЭ, провоспалительных цитокинов, в основном ИЛ6, и активностью синовиального воспаления по данным УЗИ. Для прогнозирования сохраняющейся воспалительной активности по результатам ЭД наиболее перспективным маркером является ИЛ6, другие анализируемые показатели имеют худшие параметры чувствительности и специфичности.

**Заключение.** Таким образом, ремиссия заболевания является более широким понятием и включает в себя не только клинические данные, но и ряд инструментальных и лабораторных параметров, которые необходимо оценивать в комплексе при решении вопроса об отмене того или иного лекарственного препарата или модификации схемы терапии. УЗИ можно рассматривать в качестве перспективного метода более объективной оценки воспалительных изменений в суставах, что может способствовать улучшению оценки активности заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wain DL. Sensitivity, specificity and responsiveness of magnetic resonance imaging and ultrasound in rheumatoid arthritis diagnosis. *Bioscience Horizons: The International Journal of Student Research*. 2014;7:hzu005. doi: 10.1093/biohorizons/hzu005
2. Sudol-Szopinska I, Jans L, Sudol-Szopinska J. Rheumatoid arthritis: what do MRI and ultrasound show. *J Ultrason*. 2017 Mar;17(68):5-16. doi: 10.15557/JoU.2017.

3. Алексеева ОГ. Ультразвуковое исследование суставов при ревматоидном артрите: патогенетическая обоснованность, возможности использования в диагностике, оценке эффективности терапии и прогнозировании исходов. *Научно-практическая ревматология*. 2018;56(1):82-92. [Alekseeva OG. Ultrasound examination of joints in rheumatoid arthritis: pathogenetic

validity, possibilities of use in diagnosis, evaluation of the effectiveness of therapy and prediction of outcomes. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2018;56(1):82-92. (In Russ.).]

4. Осипянц РА, Каратеев ДЕ, Панасюк ЕЮ и др. Оценка структурных изменений суставов кистей и темпов прогрессирования ревматоидного артрита по данным сонографии. *Научно-практическая ревматология*. 2013;51(2):132-7.

- [Osipyants RA, Karateev DE, Panasyuk EYu, et al. Assessment of structural changes in the joints of the hands and the rate of progression of rheumatoid arthritis according to sonography. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2013;51(2):132-7. (In Russ.)].
5. Smolen JS. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis*. 2020 Jun;79(6):685-99. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216655. Epub 2020 Jan 22.
6. Насонов ЕЛ, редактор. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Москва: ИМА-ПРЕСС; 2013. 549 с.
- [Nasonov EL, editor. *Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita* [Genetically engineered biological drugs in the treatment of rheumatoid arthritis]. Moscow: IMA-PRESS; 2013. 549 p.].
7. Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):356-61. doi: 10.1038/nature01661.
8. Rantalaiho V, Korpela M, Laasonen L, et al. Early combination disease-modifying antirheumatic drug therapy and tight disease control improve long-term radiologic outcome in patients with early rheumatoid arthritis: the 11-year results of the Finnish Rheumatoid Arthritis Combination Therapy trial. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(3):R122. doi: 10.1186/ar3060. Epub 2010 Jun 24.
9. Landewe RB, Boers M, Verhoeven AC, et al. COBRA combination therapy in patients with early rheumatoid arthritis: long-term structural benefits of a brief intervention. *Arthritis Rheum*. 2002 Feb;46(2):347-56. doi: 10.1002/art.10083.
10. Алексеева ОГ, Северинова МВ, Демидова НВ и др. Связь клинических проявлений и ультразвуковых признаков воспаления у пациентов с ревматоидным артритом. *Научно-практическая ревматология*. 2015;53(6):596-602.
- [Alekseeva OG, Severinova MV, Demidova NV, et al. Relationship of clinical manifestations and ultrasound signs of inflammation in patients with rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2015;53(6):596-602. (In Russ.)].
11. Wakefield RJ, Balint P, Szkudlarek M, et al. Musculoskeletal ultrasound including definitions for ultrasonographic. *J Rheumatol*. 2005 Dec;32(12):2485-7.
12. Wakefield RJ, Freeston J, Hensor E, et al. Delay in imaging versus clinical response: a rationale for prolonged treatment with anti-tumor necrosis factor medication in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007 Dec 15;57(8):1564-7. doi: 10.1002/art.23097.
13. Ravagnani V, Volpe A, Caramaschi P, et al. Remission and minimal disease activity in rheumatoid arthritis treated with biological therapy: a decision making sonographic score. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(Suppl 3):714.
14. Saleem B, Brown A, Quinn M, et al. Can flare be predicted in DMARD treated RA patients in remission, and is it important? A cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2012 Aug;71(8):1316-21. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200548. Epub 2012 Jan 31.
15. Brown AK, Quinn MA, Karim Z, et al. Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug-induced clinical remission: evidence from an imaging study may explain structural progression. *Arthritis Rheum*. 2006 Dec;54(12):3761-73. doi: 10.1002/art.22190.
16. Nguyen H, Ruysen-Witrand A, Gandjbakhch F, et al. Prevalence of ultrasound-detected residual synovitis and risk of relapse and structural progression in rheumatoid arthritis patients in clinical remission: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 Nov;53(11):2110-8. doi: 10.1093/rheumatology/keu217. Epub 2014 Jun 13.
17. Baillet A, Gossec L, Paternotte S, et al. Evaluation of serum IL-6 level as a surrogate marker of synovial inflammation and as a factor of structural progression in early rheumatoid arthritis: results from a French national multicenter cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2015 Jul;67(7):905-12. doi: 10.1002/acr.22513.
18. Fazaal A, Abdelghani K, Abdeladhim M, et al. The level of interleukin-17 in serum is linked to synovial hypervascularisation in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2014 Dec;81(6):550-1. doi: 10.1016/j.jbspin.2014.05.008. Epub 2014 Jul 3.
19. Huscher D, Mittendorf T, von Hinüber U, et al. Evolution of cost structures in rheumatoid arthritis over the past decade. *Ann Rheum Dis*. 2015 Apr;74(4):738-45. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204311. Epub 2014 Jan 9.
20. Насонов ЕЛ. Биоаналоги в ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2016;54(6):628-40.
- [Nasonov EL. Biosimilars in rheumatology. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2016;54(6):628-40. (In Russ.)].
21. Prevoo M, van 't Hof M, Kuper H. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995 Jan;38(1):44-8. doi: 10.1002/art.1780380107.
22. Mandl P, Naredo E, Wakefield R, et al. A systematic literature review analysis of ultrasound joint count and scoring systems to assess synovitis in rheumatoid arthritis according to the OMERACT filter. *J Rheumatol*. 2011 Sep;38(9):2055-62. doi: 10.3899/jrheum.110424.
23. Bugatti S, Msanzo A, Benaglio F, et al. Serum levels of CXCL13 are associated with ultrasonographic synovitis and predict power Doppler persistence in early rheumatoid arthritis treated with non-biological disease-modifying anti-rheumatic drugs. *Arthritis Res Ther*. 2012 Feb 15;14(1):R34. doi: 10.1186/ar3742.
24. Zhou L, Wang G, Liu X, et al. Matrix metalloproteinase-3 and the 7-joint ultrasound score in the assessment of disease activity and therapeutic efficacy in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2017 Nov 15;19(1):250. doi: 10.1186/s13075-017-1449-z.
25. Lamers-Karnebeek FBG, Jansen T, van Riel P, et al. Ultrasonography as predictor for flare in rheumatoid arthritis patients with low disease activity: nine month results from POET-US-study. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(Suppl 2):140. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-eular.5185
26. Kameda H, Hirata A, Katagiri T, et al. Prediction of disease flare by biomarkers after discontinuing biologics in patients with rheumatoid arthritis achieving stringent remission. *Sci Rep*. 2021 Mar 25;11(1):6865. doi: 10.1038/s41598-021-86335-7.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

27.02.2022/5.04.2022/8.04.2022

#### Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме АААА-А20-120040190015-5.

Исследование не имело спонсорской поддержки. 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 as part of the government program, scientific topic №АААА-А20-120040190015-5.

The investigation has not been sponsored. 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.

Авдеева А.С. <https://orcid.org/0000-0003-3057-9175>  
Алексеева О.Г. <https://orcid.org/0000-0003-1852-1798>

Рыбакова В.В. <https://orcid.org/0000-0003-1404-4963>  
Насонов Е.Л. <https://orcid.org/0000-0002-1598-8360>