

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Фейзханова Г.У.¹, Волошин С.А.¹, Новиков А.А.², Александрова Е.Н.², Смолдовская О.В.¹, Рубина А.Ю.¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕВМАТОИДНОГО ФАКТОРА И БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ НА БИОЧИПАХ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

¹ ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, Россия;

² ГБУЗ Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова ДЗМ, 111123, Москва, Россия

Одним из биомаркеров, имеющим наибольшее клиническое значение при ревматоидном артрите (РА), является ревматоидный фактор (IgM РФ). Ревматоидный фактор имеет недостаточную чувствительность и специфичность, поэтому для повышения диагностической информативности теста в качестве сопутствующих биомаркеров используются белки острой фазы. С помощью биологических микрочипов проведено измерение IgM РФ, С-реактивного белка (СРБ) и белка сывороточного амилоидного белка А (САА) у пациентов с РА (n=60), анкилозирующим спондилитом (АС) (n=55), системной красной волчанкой (СКВ) (n=20) и здоровых доноров (ЗД) (n=9). Показано, что медианы концентраций IgM РФ значимо выше ($p < 0,01$) у пациентов с РА по сравнению с пациентами, страдающими другими исследованными заболеваниями, и здоровыми донорами. СРБ и САА также были значимо повышены ($p < 0,05$) у пациентов с РА и АС по сравнению с СКВ и ЗД.

Показано, что комплексное определение трех биомаркеров при дифференцировании больных РА с группой сравнения обладает большей диагностической чувствительностью, чем изолированное определение IgM РФ, при этом наибольший вклад в улучшение диагностических характеристик панели биомаркеров вносит добавление САА: использование модели логистической регрессии на основе IgM РФ и САА позволяет увеличить диагностическую чувствительность анализа с 58,3% до 65%.

Таким образом, разработанный на основе микрочипов метод может быть использован для обнаружения и выяснения диагностических характеристик биомаркеров РА, однако для дальнейшего использования требуется валидация полученных результатов на расширенной выборке.

Ключевые слова: ревматоидный фактор; СРБ; сывороточный амилоид А; биочипы.

Для цитирования: Фейзханова Г.У., Волошин С.А., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Смолдовская О.В., Рубина А.Ю. Определение ревматоидного фактора и белков острой фазы воспаления на биочипах у пациентов с ревматоидным артритом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (1): 43-47. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-43-47>

Для корреспонденции: Фейзханова Гузель Усмановна, канд. биол. наук, мл. науч. сотр. лаб. биологических микрочипов; e-mail: gouzele@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (соглашение 19-15-00283).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.10.2021

Принята к печати 25.11.2021

Опубликовано 28.01.2022

Feyzkhanova G.U.¹, Voloshin S.A.¹, Novikov A.A.², Aleksandrova E.N.², Smoldovskaya O.V.¹, Rubina A.Yu.¹

ANALYSIS OF RHEUMATOID FACTOR AND ACUTE PHASE PROTEINS USING MICROARRAYS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

¹ FSBS Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Russia;

² SBIHC Moscow Clinical Scientific Center n.a. A.S. Loginov, 111123, Moscow, Russia

One of the biomarkers of biggest clinical importance in rheumatoid arthritis (RA) is rheumatoid factor (IgM RF). The rheumatoid factor has insufficient sensitivity and specificity, therefore, to increase the diagnostic information of the test, acute phase proteins were used as concomitant biomarkers. Using biological microchips, we measured IgM RF, C-reactive protein (CRP) and Serum amyloid protein A (SAA) in patients with RA (n = 60), ankylosing spondylitis (AS) (n=55), systemic lupus erythematosus (SLE) (n=20) and healthy donors (HD) (n=9). It was shown that the medians of IgM RF concentrations are significantly higher ($p < 0.01$) in patients with RA compared to patients suffering from other diseases and healthy donors. CRP and SAA were also significantly increased ($p < 0.05$) in patients with RA and AS compared with SLE and HD. It has been shown that the complex determination of three biomarkers in differentiating RA patients with the comparison group had a higher diagnostic sensitivity than the isolated determination of IgM RF, while the addition of SAA makes the greatest contribution to improving the diagnostic characteristics of the biomarker panel: the use of a logistic regression model based on IgM RF and SAA allowed to increase the diagnostic sensitivity of the analysis from 58.3% to 65%.

Thus, the developed microarray-based method can be used to detect and elucidate the diagnostic characteristics of RA biomarkers; however, further use requires validation of the obtained results on an expanded sampling.

Key words: rheumatoid factor; C-reactive protein; Serum amyloid A; microarrays.

For citation: Feyzkhanova G.U., Voloshin S.A., Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Smoldovskaya O.V., Rubina A.Yu.

Analysis of rheumatoid factor and acute phase proteins using microarrays in patients with rheumatoid arthritis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (1): 43-47 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-43-47>

For correspondence: Feyzkhanova G.U., PhD, junior researcher in the Laboratory of biological biochips; e-mail: gouzele@mail.ru

Information about authors:

Feyzkhanova G.U., <https://orcid.org/0000-0001-6706-4488>;
Voloshin S., <https://orcid.org/0000-0003-1536-562X>;
Novikov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-2738-2956>;
Aleksandrova E.N., <https://orcid.org/0000-0003-4074-5907>;
Smoldovskaya O.V., <https://orcid.org/0000-0002-9947-4446>;
Rubina A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-6120-7780>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study was financed by the Russian Science Foundation (project no. 19-15-00283).*

Received 07.10.2021

Accepted 25.11.2021

Published 28.01.2022

Введение. Ревматоидный артрит (РА) является аутоиммунным ревматическим заболеванием, характеризующимся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов. Диагностика данного заболевания является сложной задачей в связи с недостаточной специфичностью клинических признаков и низкой чувствительностью клинико-лабораторных критериев. Среди биомаркеров, ассоциирующихся с РА и входящих в диагностические критерии (ACR/EULAR 2010 г.) этого заболевания, наибольшее клиническое значение имеют аутоантитела: ревматоидный фактор класса IgM (IgM РФ), антитела к циклическому цитруллинированному пептиду и острофазовые показатели: СОЭ, С-реактивный белок (СРБ) [1–4].

IgM РФ – аутоантитела IgM класса, реагирующие с Fc-фрагментом IgG [5,6]. Наиболее аналитически точным методом измерения сывороточной концентрации IgM РФ является нефелометрия [7]. Однако использование в реальной клинической практике иммунотурбидиметрии, иммуноферментного анализа и латекс-агглютинации приводит к существенной вариабельности получаемых результатов [8–11]. Так диагностическая чувствительность измерения IgM РФ при РА, по данным разных авторов, может колебаться от 40% до 80% [12]. Кроме этого, повышенный уровень IgM РФ может присутствовать и при других заболеваниях - остеоартрозе, системной красной волчанке, синдроме Шенгрена, гепатите С и онкологических заболеваниях [13,14].

Повышению диагностической информативности теста может способствовать одновременное определение IgM РФ вместе с провоспалительными белками – СРБ и сывороточным амилоидным белком А (САА) [15]. СРБ является наиболее чувствительным и стандартизованным маркером воспаления, инфекции и тканевого повреждения [16], также существуют данные, что благодаря своим провоспалительным и протромботическим свойствам он может играть роль в развитии костной резорбции при РА [17]. Уровень САА также повышается при заболеваниях, связанных с хроническим воспалением (болезнь Альцгеймера, онкологические заболевания, диабет и др.) [18,19]. Повышенный уровень САА при нормальном уровне СРБ часто наблюдается при средней активности ревматоидных заболеваний [20,21]. Исходя из этого, одновременное определение IgM РФ, СРБ и САА при диагностике РА может обладать большей эффективностью чем обычный однопараметрический тест.

Ранее был разработан биочип, позволяющий определять провоспалительные белки в культуральной среде [22]. Разработанный метод был адаптирован для измерения в сыворотке крови СРБ, САА и РФ.

Целью работы являлась оценка диагностического значения комплексного определения IgM РФ, СРБ и

САА в сыворотке крови больных РА с использованием биочипа.

Материал и методы. Исследовали образцы сыворотки крови у 60 пациентов с ревматоидным артритом (РА), у 55 пациентов с анкилозирующим спондилитом (АС), у 20 пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и у 9 здоровых доноров (ЗД) (табл. 1). Образцы были предоставлены ГБУЗ Московским клиническим научным центром (МКНЦ) имени А.С. Логинова ДЗМ. Исследование одобрено локальным этическим комитетом МКНЦ. У 15 пациентов с РА было определено число припухших и число болезненных суставов (ЧПС, ЧБС).

Изготовление сконструированных биочипов (подготовку стеклянных подложек, изготовление смеси гелевых мономеров, процессы полимеризации и блокировки биочипов) проводили по методикам, описанным ранее [22].

На сконструированных биочипах проводили анализ по методике, адаптированной из предыдущих работ [22]. На первой стадии проводили инкубацию биочипов с анализируемыми образцами или калибровочными пробами в течение 2 ч при 37°C для IgM РФ, 1 ч при 37°C для СРБ, 30 мин при 22°C для САА. После этого отмывали биочипы 20 мин в ФСБ с содержанием Tween-20 (отмывочный буфер). Затем инкубировали биочипы с проявляющими антителами (конъюгатами антител с биотином для СРБ и САА или конъюгатом антител с флуоресцентной меткой Cy5 для IgM РФ) в течение 1 ч при 37°C. После промежуточной отмывки в указанном выше буфере биочипы инкубировали с флуоресцентно-меченым (Cy5) стрептавидином и проводили завершающую отмывку (30 мин).

Биочипы после отмывки анализировали на биочип-анализаторе с лазерным возбуждением с использованием программного обеспечения ImageAssay [22]. После получения флуоресцентных изображений по калибровочным кривым рассчитывали концентрацию определяемых белков в исследуемых образцах.

Сравнение уровней биомаркеров в группах пациентов проводили методом Манна-Уитни ($p < 0,05$), оценку диагностической эффективности проводили методом ROC-анализа. ROC-анализ, логистическую и линейную регрессии, расчёт доверительных интервалов и построение диаграмм сравнения проводили с помощью программы MedCalc 20.010.

Результаты и обсуждение. Разработанный метод на основе биочипов был адаптирован из предыдущих работ [22]. Было подобрано оптимальное время инкубации с образцом для получения наибольшего динамического диапазона и большей чувствительности. Характеристики разработанного метода для каждого биомаркера приведены в табл. 2. Воспроизводимость анализа находилась в пределах 15% для всех биомаркеров; диапазон

Таблица 1

Характеристика обследованных больных

Показатели	Категории пациентов (по заболеваниям)			
	РА	АС	СКВ	ЗД
	(n=60)	(n=55)	(n=20)	(n=9)
Средний возраст (минимум-максимум), годы	58 (20–88)	42 (18–65)	28 (17–34)	50 (20–65)
Женщины/мужчины	50/10	20/35	18/2	8/1
DAS28/BASDAI/SLEDAI2k*	6 (3.2–7.86)	6 (1.2–9)	14 (2–31)	-
Средний индекс (минимум-максимум)				
Активность:				
низкая	-	8	-	-
умеренная	24	-	-	-
высокая	36	47	-	-
Стадия:				
развернутая	39	-	-	-
поздняя	21	-	-	-

Примечание. * – DAS28 (Disease Activity Score-28)–индекс активности ревматоидного артрита, BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index)–индекс активности анкилозирующего спондилита, SLEDAI2k (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000)–индекс активности системной красной волчанки. n – число пациентов.

Таблица 2

Характеристики метода определения IgM РФ, СРБ, САА на биологических микрочипах

Биомаркер	Диапазон определения	Аналитическая чувствительность
IgM РФ	10-1000 МЕ/мл	2 МЕ/мл
СРБ	1-100 мкг/мл	0,5 мкг/мл
САА	1-100 мкг/мл	0,1 мкг/мл

линейности совпадал с диапазоном определения.

В исследуемую выборку входили пациенты с РА, АС, СКВ и здоровые доноры. Результаты концентрации IgM РФ, СРБ и САА, определенные на биочипах для всех образцов, представлены на пузырьковой диаграмме (рис. 1).

По результатам анализа была выявлена слабая корреляция между СРБ и САА – 0,327 ($p < 0,001$) среди всех образцов. Среди пациентов с РА и АС корреляции этих маркеров сохранялась, в отличие от СКВ и ЗД, где корреляция отсутствовала. В работе М. Кокобун и соавт. [23] также наблюдали, что концентрации СРБ и САА, белков острой фазы, коррелировали (коэффициент корреляции 0,789, $p < 0,01$) для пациентов с РА, и не коррелировали в образцах здоровых доноров.

Концентрация СРБ также коррелировала с ЧПС (коэффициент корреляции Спирмана 0,589, $p = 0,0209$). В работе К. Shimada и соавт. [24] была исследована зависимость концентраций СРБ и скорости оседания эритроцитов от количества и размеров припухших суставов. В нашем исследовании при построении линейной регрессии между концентрацией СРБ и ЧПС уравнение имело следующий вид: $СРБ (мг/мл) = 5,66 + 5,22 \times ЧПС$ (95% ДИ для наклона регрессии: от -0,07 до 10,51). При этом наклон регрес-

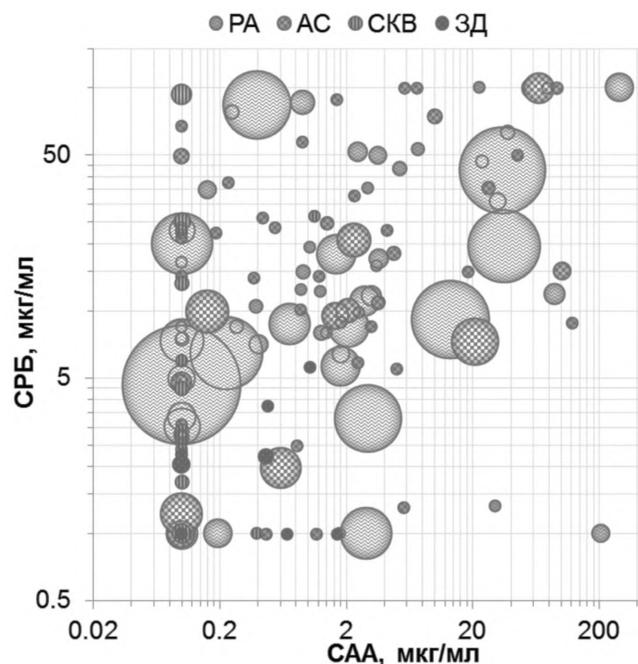


Рис. 1. Пузырьковая диаграмма определенных с помощью биочипа концентраций IgM РФ, СРБ и САА в образцах крови пациентов с РА, АС, СКВ и здоровых доноров. По оси абсцисс – уровни САА, по оси ординат – уровни СРБ, площади пузырьков соответствуют уровням IgM РФ. Значения ниже или выше динамического диапазона рассчитаны методом экстраполяции.

сии (скорость нарастания СРБ в зависимости от увеличения ЧПС) совпадает с наклоном, приведенным в [11] для малых суставов (5,6 с 95% ДИ от 3,5 до 7,7).

Медианы концентраций IgM РФ значимо различались у пациентов с РА по сравнению с пациентами, страдающими другими исследованными заболеваниями, и здоровыми донорами (рис. 2, а). Диапазон концентраций для здоровых доноров составил 10-23 МЕ/мл. СРБ и САА также значимо отличались у пациентов с РА и АС по сравнению с СКВ и ЗД (рис. 2, б, в).

Диагностическую эффективность выявления РА определяли методом ROC-анализа, причем в группу сравнения вошли пациенты с СКВ, АС и здоровые доноры. В индивидуальном ROC-анализе IgM РФ показывает хорошую специфичность при низкой чувствительности, а СРБ, наоборот, относительно хорошую чувствительность при низкой специфичности (рис. 2, г, табл. 3). САА определяет РА с одинаково относительно низкими чувствительностью и специфичностью, хотя точность анализа при этом соответствует точности СРБ. Специфичность выявления РА с использованием РФ, определенного на биочипах (85%), сравнима со специфичностью выявления РА при определении РФ другими методами на похожей выборке (86%) [12,25]. Чувствительность и специфичность САА может значительно варьировать в зависимости от выборки. Так, для разных выборок пациентов с РА, в работе Х. Yuan и соавт. [26] чувствительность анализа САА различалась от 52% до 96% по сравнению с здоровыми донорами, что согласуется с полученными в нашем исследовании данными (чувствительность 62%) (табл. 3).

При оптимальном критерии в ROC-анализе для IgM РФ (23,36 МЕ/мл, см. табл. 3) 58% пациентов с РА были

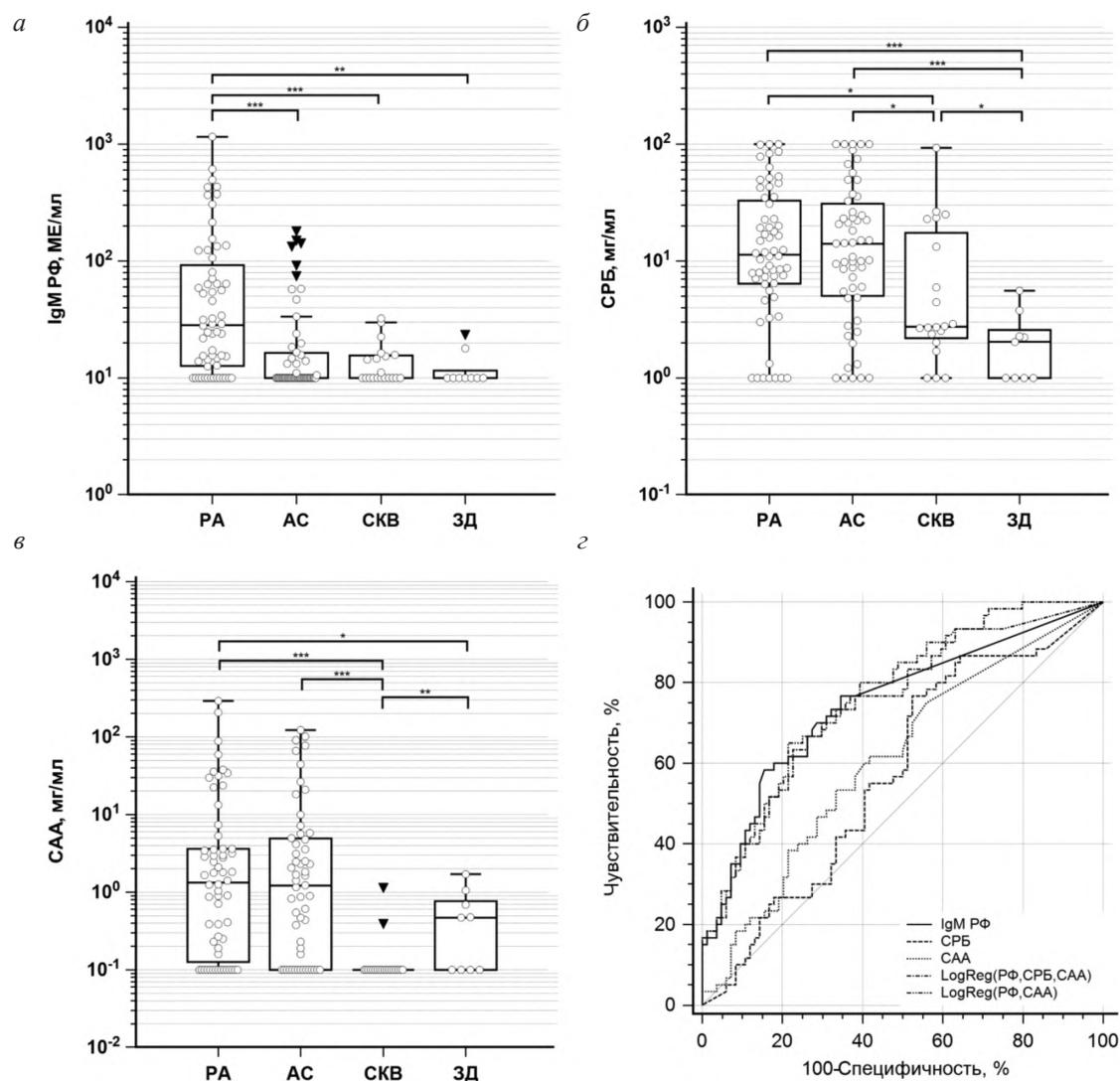


Рис. 2. Диаграммы («ящик с усами») сравнения биомаркеров у пациентов с РА, АС, СКВ и здоровых доноров. а – IgM РФ, б – СРБ, в – САА, г – сравнение ROC-кривых при дифференцировании пациентов с РА и контрольной группы для определения индивидуально биомаркеров IgM РФ, СРБ, САА, а также при построении моделей логистической регрессии (LogReg), включающих три (IgM РФ, СРБ, САА) и два (IgM РФ, САА) биомаркера.
 * – уровень значимости $p < 0,05$; ** – уровень значимости $p < 0,01$; *** – уровень значимости $p < 0,001$.

Таблица 3

Диагностические характеристики IgM РФ, СРБ, САА (в скобках приведены 95% ДИ)

Биомаркер	Se, %	Sp, %	Acc, %	AUC	Оптимальный критерий
IgM РФ	58,3 (44,9–70,9)	84,5 (75,0–91,5)	73,6 (65,6–80,6)	0,748 (0,66–0,817)	23,36 МЕ/мл
СРБ	76,7 (64,0–86,6)	47,6 (36,6–58,8)	59,7 (51,2–67,8)	0,576 (0,491–0,657)	5,99 мг/мл
САА	61,7 (48,2–73,9)	58,3 (47,1–69,0)	59,0 (50,5–67,1)	0,611 (0,526–0,691)	0,69 мг/мл
LogReg (IgM РФ, СРБ, САА)	63,3 (49,9–75,4)	77,4 (67,0–85,8)	70,1 (62,0–77,5)	0,756 (0,677–0,823)	0,36*
LogReg (IgM РФ, САА)	65,0 (51,6–76,9)	78,6 (68,3–86,8)	71,5 (63,4–78,7)	0,760 (0,682–0,827)	0,34*

Примечание. Se, % – чувствительность, или доля истинно-положительных случаев; Sp, % – специфичность, или доля истинно-отрицательных случаев; Acc, % – точность, или доля правильно определенных случаев; AUC – площадь под ROC-кривой; LogReg – комбинация работы трех/двух биомаркеров на основе модели логистической регрессии.
 * – критерии для предсказанной вероятности.

серопозитивными, а 42% серонегативными. При этом во всех серонегативных случаях хотя бы один из дополнительных биомаркеров (СРБ или САА) был повышен. Если учитывать оптимальные критерии ROC-анализа для всех трех биомаркеров, то хотя бы один из биомаркеров был повышен у 100% пациентов с РА, у 85% с АС, у 35% СКВ и 33% здоровых лиц, в то время как повышение всех трех маркеров одновременно встречалось у 27% пациентов с РА и 11% с АС.

На основе полученных значений концентраций трех биомаркеров была построена модель логистической регрессии (см. табл. 3). Использование такой обработки данных повышает чувствительность метода, но снижает специфичность по сравнению с использованием уровня IgM РФ в качестве единственного диагностического критерия. При этом наибольший вклад в комбинацию трех биомаркеров вносят РФ и САА, т.е. при построении модели логистической регрессии на основе этих двух маркеров диагностическая чувствительность и специфичность оказались не хуже аналогичных параметров у модели на основе трех биомаркеров.

Заключение. Таким образом, с помощью биологических микрочипов было проведено сравнение диагностических показателей определения IgM РФ, СРБ и САА при ревматоидном артрите. При добавлении в комбинацию к стандартному биомаркеру IgM РФ, наибольший вклад в улучшение диагностических показателей вносит белок острой фазы САА. Определение одновременно IgM РФ и САА в сыворотке крови позволяет повысить чувствительность анализа по сравнению с определением только IgM РФ.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-21, 23-26 см. REFERENCES)

22. Волошин С.А., Фейзханова Г.У., Савватеева Е.Н., Смолдовская О.В., Рубина А.Ю. Мультиплексный метод определения биомаркеров воспаления в культуральной среде. *Молекулярная биология.* 2020; 54(6):1046–56.

REFERENCES

1. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., Funovits J., Felson D.T., Bingham C.O. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheumatol.* 2010; 62(9):2569–81.
2. Nakken B., Papp G., Bosnes V., Zeher M., Nagy G., Szodoray P. Biomarkers for rheumatoid arthritis: From molecular processes to diagnostic applications-current concepts and future perspectives. *Immunol. Lett.* 2017; 189:13–8.
3. Shelef M.A. New Relationships for Old Autoantibodies in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71(9):1396–9.
4. Petrovská N., Prajzlerová K., Vencovský J., Šenolt L., Filková M. The pre-clinical phase of rheumatoid arthritis: From risk factors to prevention of arthritis. *Autoimmun. Rev.* 2021; 20(5):102797.
5. Renaudineau Y., Jamin C., Saraux A., Youinou P. Rheumatoid factor on a daily basis. *Autoimmunity.* 2005; 38(1):11–6.
6. Maibom-Thomsen S.L., Trier N.H., Holm B.E., Hansen K.B., Rasmussen M.I., Chailyan A. et al. Immunoglobulin G structure and rheumatoid factor epitopes. *PLoS One.* 2019; 14(6):1–28.
7. Rönnelid J., Turesson C., Kastbom A. Autoantibodies in Rheumatoid Arthritis – Laboratory and Clinical Perspectives. *Front. Immunol.* 2021; 12:1.

8. Falkenburg W.J.J., Von Richthofen H.J., Koers J., Weykamp C., Schreurs M.W.J., Bakker-Jonges L.E. et al. Clinically relevant discrepancies between different rheumatoid factor assays. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2018; 56(10):1749–58.
9. Bas S., Perneger T.V., Kunzle E., Vischer T.L. Comparative study of different enzyme immunoassays for measurement of IgM and IgA rheumatoid factors. *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61(6):505–10.
10. Gehin J.E., Klaasen R.A., Norli E.S., Warren D.J., Syversen S.W., Goll G.L. et al. Rheumatoid factor and falsely elevated results in commercial immunoassays: data from an early arthritis cohort. *Rheumatol. Int.* 2021; 41(9):1657–65.
11. Ameratunga R., Musaad S., Sugrue C., Kyle C. Rheumatoid factor measurement-continuing problems 70 years after discovery. *Clin. Rheumatol.* 2011; 30(9):1215–20.
12. Nielsen S.F., Bojesen S.E., Schnohr P., Nordestgaard B.G. Elevated rheumatoid factor and long term risk of rheumatoid arthritis: A prospective cohort study. *BMJ.* 2012; 345(7878):1–9.
13. Dörner T., Egerer K., Feist E., Burmester G.R. Rheumatoid factor revisited. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2004; 16(3):246–53.
14. Ugolini A., Nuti M. Rheumatoid factor: A novel determiner in cancer history. *Cancers (Basel).* 2021; 13(4):1–9.
15. Saxena A., Cronstein B.N. Acute Phase Reactants and the Concept of Inflammation. In: *Kelley's Textbook of Rheumatology.* Elsevier; 2013: 818-829.e4.
16. Vogt B., Führrohr B., Müller R., Sheriff A. CRP and the disposal of dying cells: Consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity.* 2007; 40(4):295–8.
17. Kim K.W., Kim B.M., Moon H.W., Lee S.H., Kim H.R. Role of C-reactive protein in osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2015; 17(1):1–12.
18. Targońska-Stepniak B., Majdan M. Serum Amyloid A as a Marker of Persistent Inflammation and an Indicator of Cardiovascular and Renal Involvement in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014:1–7.
19. Zhang Y., Zhang J., Sheng H., Li H., Wang R. Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases. *Adv. Clin. Chem.* 2019; 90:25–80.
20. Sorić Hosman I., Kos I., Lamot L. Serum Amyloid A in Inflammatory Rheumatic Diseases: A Compendious Review of a Renowned Biomarker. *Front. Immunol.* 2021; 11:1–27.
21. Shen C., Sun X.G., Liu N., Mu Y., Hong C.C., Wei W. et al. Increased serum amyloid A and its association with autoantibodies, acute phase reactants and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Mol. Med. Rep.* 2015; 11(2):1528–34.
22. Voloshin S.A., Feyzkanova G.U., Savvatееva E.N., Smoldovskaya O.V., Rubina A.Yu. Microarray for quantitative determination of inflammatory biomarkers in a culture medium. *Молекулярная биология.* 2020; 54(6):919–28. (in Russian)
23. Kokubun M., Imafuku Y., Okada M., Ohguchi Y., Ashikawa T., Yamada T. et al. Serum amyloid A (SAA) concentration varies among rheumatoid arthritis patients estimated by SAA/CRP ratio. *Clin. Chim. Acta.* 2005; 360(1–2):97–102.
24. Shimada K., Komiya A., Yokogawa N., Nishino J., Sugii S., Tohma S. Impact of the size and number of swollen joints on serum C-reactive protein level and erythrocyte sedimentation rate in rheumatoid arthritis: a cross-sectional study in Japan. *Clin. Rheumatol.* 2017; 36(2):427–31.
25. Greiner A., Plischke H., Kellner H., Gruber R. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann. NY Acad. Sci.* 2005; 1050:295–303.
26. Yuan X., Cui S., Liu Y., Song T.J. Analysis of serum rheumatoid factors in patients with rheumatoid arthritis in Han, Tibetan and Hui nationalities in Qinghai. *Int. Immunopharmacol.* 2020; 83(29):106380.