На правах рукописи

Девальд Инесса Валерьевна

РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ: СТРАТЕГИЯ ПЕРСОНИФИКАЦИИ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ МЕТОТРЕКСАТОМ НА ОСНОВАНИИ КЛИНИКО-ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Специальность 3.1.27. - Ревматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва

2025

Работа выполнена на кафедре терапии Института дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН
Лила Александр Михайлович

Официальные оппоненты:

Коненков Владимир Иосифович
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель филиала, заведующий лабораторией клинической иммуногенетики Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Валиев Тимур Теймуразович
доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделением детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) №1 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ребров Андрей Петрович
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры госпитальной терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет)

Защита состоится « 28 » марта 2025 года в 12 часов на заседании диссертационного совета 24.1.182.01 в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34-а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой»

Автореферат разослан «_» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук Дыдыкина И.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Ревматоидный артрит (РА) – иммуновоспалительное ревматическое заболевание, характеризующееся тяжелым прогрессирующим поражением суставов и внутренних органов, развитие которого определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды и генетической предрасположенности, ведущих к глобальным нарушениям в системе клеточного и гуморального иммунитета. В разных странах частота РА составляет от 0,3 до 1,2%; при этом около 13 млн населения земного шара (0,17%) имеют инвалидность в результате недостаточно эффективной терапии этого заболевания [Cieza, K., 2021]. По данным официальной статистики за 2018 год, распространённость заболевания в России составляет 610 случаев на 100 тыс. населения [Галушко Е. А., 2018]. По данным «Медицинского информационного аналитического центра» в Челябинской области в 2022 году общее число больных РА равнялось 6653 человек (1,9 на 1000 населения). РА подвержены все возрастные группы, у 50% пациентов в результате заболевания развивается стойкая потеря трудоспособности и у 60–90% – инвалидизация, что сопровождается снижением продолжительности жизни на 10–15 лет из-за развития системных проявлений и осложнений [Насонов Е. Л., 2008].

Фармакотерапия РА претерпела значительную эволюцию с середины прошлого столетия как по целям, так и подходам, активно также обсуждается вопрос безлекарственной ремиссии РА, при этом большие надежды возлагаются на генно-инженерные биологические препараты и ингибиторы янус-киназ (ГИБП) [Насонов Е. Л., 2022]. Однако на сегодняшний день основным базисным противовоспалительным препаратом (БПВП) для лечения РА является метотрексат [Чичасова Н. В., 2007]. Такая парадигма поддерживается и экономической составляющей: применение МТ в сравнении с ГИБП значительно уменьшает медицинские расходы на лечение. МТ рекомендован ведущими мировыми ревматологическими сообществами как в качестве монотерапии, так и в комбинации с другими БПВП. В российских, европейских и американских клинических рекомендациях монотерапия МТ является стартовой для РА [Насонов Е. Л., 2021; Fraenkel L., 2021; Smolen J. S., 2023]. Тем не менее, использование МТ ограничивается его частичной неэффективностью и побочными действиями [Sherbini A. A., 2022], требующее отмены препарата у 30% пациентов, что определяется только в ходе терапии. При этом инструментов, позволяющих прогнозировать результаты лечения, нет ни в одних рекомендациях, хотя их разработка может существенно снизить число «неответчиков» среди пациентов с РА.

Важное значение в долгосрочной перспективе «Лечение до достижения цели» (Treat to target) имеют сроки инициации терапии БПВП. Первые 6 месяцев от дебюта РА считаются наиболее благоприятными для успешных результатов, поэтому ранняя стратификация факторов риска терапевтической резистентности и МТ-индуцированных побочных действий (ПД) является крайне важной. Продолжаются поиски клинико-лабораторных и генетических предикторов, предопределяющих реакцию пациентов на МТ. Среди возможных маркеров обсуждаются как гендерно-возрастные, так и иммунологические [López-Rodríguez R., 2018].

Степень разработанности темы исследования

Прикладная фармакогенетика для персонализированного лечения пациентов внедрена в терапию онкологических, сердечно–сосудистых и других заболеваний, однако в ревматологической практике используется редко. Задачи исследователей фармакогенетики МТ определяются фармакокинетикой и фармакодинамикой препарата и направлены на изучение однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих транспортные белки и ферменты метаболизма МТ. Длительное время основной «фолатный» путь действия фармпрепарата считался единственным, что определяло поиск предикторов ответа на терапию МТ среди полиморфизмов, кодирующих это направление и транспортные системы. Полученные результаты ис-

следователей в разных странах оказались неоднозначными, и не смогли ответить на поставленный вопрос индивидуального подхода к терапии [Wessels J. A., 2007]. Понимание иных механизмов действия малых доз МТ – аденозинового, торможения синтеза пуринов и пиримидинов «de novo» значительно расширило изучаемые генетические полиморфизмы, однако не дало четкого ответа об их влиянии на эффективность и ПД препарата, и, поэтому, не было внедрено в клиническую практику. Вероятно, что ответ на терапию каждого пациента определяется не отдельной мутацией гена, а совокупностью генетических изменений [Owen S. A., 2013]. Возможно, выявив генетические предикторы ПД и резистентности к МТ, можно изменить режим дозирования и скорость эскалации МТ.

Оценка межгенных взаимодействий генетических полиморфизмов может быть проведена с помощью мультифакториального анализа, например, снижение многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) [Пономаренко И. В., 2019]. Персонализированная фармакотерапия, выстроенная на совокупности клинического анализа и множества однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), способна обеспечить научно обоснованный подход к целесообразности инициации лечения метотрексатом отдельных пациентов [Eektimmerman F., 2019].

Одной из глобальных проблем фармакогенетических исследований является их недостаточная внедряемость в практику, существенным препятствием этому служит разобщенность клинических специалистов и ученых в области фармакогенетики. Исследовательские работы по фармакогенетике выполняются преимущественно фармакологами в рамках специальности «клиническая фармакология» и носят фундаментальный характер. Полученные результаты проходят длительный этап от их опубликования до понимания клиницистами и использования в практике. Выполнение фармакогенетических исследований клиницистами может сократить путь от теоретических данных до клинической работы [Сычев Д. А., 2021].

Еще одной проблемой преодоления являются популяционные различия, которые не позволяют экстраполировать данные из работ исследователей других стран [Степанов В. А., 2010]. Популяция Российской Федерации может представлять интерес как смешанная популяция со своими генетическими особенностями. Так, например, согласно переписи населения 2012 года, более 80% жителей территории Южного Урала являются русскими и по многим генетическим системам представляют вариант европейской популяции [Суслова Т. А., 2015]. До настоящего времени фармакогенетические исследования при использовании малых доз МТ в центральной России проводились только при псориазе [Асоскова А. В., 2023]. Выявление влияний полиморфизмов в ключевых генах фармакокинетики и/или фармакодинамики МТ может положить начало новым протоколам лечения для оптимизации индивидуализированной терапии в Российской Федерации.

Необходимость индивидуального подхода к терапии метотрексатом при РА очевидна. Большинство работ в разных мировых популяциях, подводя итог проведенным исследованиям, считают их неокончательными и обладающими огромным потенциалом. Таким образом, выстраивание клинико-фармакогенетической модели терапевтического ответа на МТ, с помощью которой можно было бы прогнозировать как эффективность, так и ПД препарата, представляется наиболее востребованной для клинической ревматологии.

Цель исследования

Разработать персонифицированный подход к лечению ревматоидного артрита метотрексатом на основании клинико-фармакогенетических маркеров.

Задачи исследования

1. Оценить предикторное значение клинико-лабораторных маркеров в эффективности метотрексата при ревматоидном артрите.

2. Изучить влияние клинико-лабораторных маркеров на побочные действия метотрексата при ревматоидном артрите и оценить вклад влияния побочных действий на его эффективность.

3. Выявить аллельные полиморфизмы генов, являющихся самостоятельными предикторами терапевтического ответа на терапию метотрексатом при ревматоидном артрите.

4. Провести анализ аллельных полиморфизмов генов, выявив самостоятельные предикторы побочных действий метотрексата при планировании базисной противовоспалительной терапии ревматоидного артрита.

5. Оценить предикторный потенциал клинических и фармакогенетических маркеров в формирование эффективности и побочных действий метотрексата, представив соответствующие модели. Определить модель с наибольшей диагностической значимостью среди автоматических моделей и созданных на основе биологической информации для использования в практике с помощью решающего правила «если, то…».

6. На основании разработанных моделей эффективности и побочных действий оценить вклад систем метаболизма метотрексата в формирование ответа и побочных действий фармпрепарата.

7. Для использования в клинической практике разработать клинический и клинико-фармакогенетический алгоритмы для оптимизации фармакотерапии метотрексатом и принятии решения о назначении базисных противовоспалительных препаратов при ревматоидном артрите.

Научная новизна

Впервые выделена совокупность клинических и фармакогенетических показателей, определяющих эффективность и побочные действия МТ у пациентов с РА на территории Российской Федерации. Впервые дана одномоментная характеристика распределения частот аллелей и генотипов генов-транспортеров *SLC19A1 (RFC1)* и *ABCB1 (MDR1)*, и биотрансформации метотрексата *GGH, FPGS,* фолатного *MTHFR* и аденозинового *ATIC, AMPD1, ADA* и *ITPA* путей действия МТ у больных РА на территории России.

Впервые выявлены индивидуальные особенности в частотах встречаемости аллелей и генотипов генов у больных РА: *SLC19A1* (он же *RFC1*) SNP rs1051266 (G80A), *ABCB1 (*он же *MDR1)* SNP 1128503 (C1236T) и rs2032582 (A2677C), *GGH* SNP rs3758149 (C-401T), *FPGS* SNP rs4451422 (A>C) и rs1544105 (C105T), *MTHFR* SNP rs1801131 (A1298C) и rs1801133 (C677T), *ATIC* SNP rs2372536 (C347G), *ADA* SNP rs244076 (T>C), *AMPD1* SNP rs17602729 (C34T), *ITPA* SNP rs1127354 (C94A) с разным терапевтическим ответом на МТ и определены предикторы эффективности и резистентности к лечению.

Используя разные статистические подходы, впервые было показано, что изолированное влияние аллельных полиморфизмов генов менее выражено, чем совместное воздействие на эффективность МТ, что диктует целесообразность оценки совокупности этих параметров для разработки персонифицированного подхода к лечению. Впервые выявлены фармакогенетические биомаркеры индивидуализации терапии РА метотрексатом, которые позволяют повысить клиническую эффективность и снизить ПД. Впервые разработаны клинический и клинико-фармакогенетические алгоритмы индивидуального подхода к стартовой терапии МТ при ревматоидном артрите.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана клиническая, фармакогенетические и клинико-фармакогенетическая модели «неответа» и побочных действий на метотрексат у пациентов с ревматоидным артритом, сущность и содержание которых позволяют систематизировать накопленный клинический опыт познаний в области лечения ревматоидного артрита, объединив его с ранее неизученными полиморфными вариантами генов. Предложены пути преодоления однообразного подхода к стартовой базисной терапии, усовершенствовано теоретическое и клиническое видение стратегии терапии, обеспечивающее концептуально новые перспективы лечения. Расширена теория развития побочных действий и причин отсутствия ответа на метотрексат.

Результаты диссертационного исследования, изложенные в нем положения и выводы могут быть использованы при проведении последующих научных изысканий в области ревматологии (недифференцированного артрита, спондилоартритов и др.) и фармакогенетики

других лекарственных препаратов. В работе используется конкретный статистический подход к разработке моделей, который может лечь в основу подобных исследований. Выводы и концепция научной работы могут быть использованы в учебном процессе и научно-исследовательской деятельности.

Результаты диссертационного исследования расширяют современные представления о влиянии клинико-лабораторных и фармакогенетических маркеров на развитие нежелательных реакций и эффективность малых доз метотрексата при ревматоидном артрите. Определены наиболее информативные клинические предикторы и однонуклеотидные полиморфизмы генов, предварительное исследование которых полезно для прогнозирования терапевтического ответа на МТ и может использоваться в клинической практике для индивидуализированного подхода к лечению РА до его инициации. Пациентам РА перед планированием терапии МТ рекомендуется провести анализ ряда показателей, таких как индекса массы тела, курения табака, возраста дебюта заболевания, индексов DAS28 и HAQ, системных проявлений, приема глюкокортикоидов, формы МТ, а также определение SNP: *ATIC* rs2372536, *MTHFR* rs1801133 и rs1801131, *ADA* rs244076, *SLC19A1* rs1051266, *ABCB1* rs2032582, *GGH* rs3758149, *FPGS* rs1544105 и rs4451422 с целью выявления больных с заведомо предсказуемыми побочными действиями и отсутствием ответа на фармпрепарат. Минимальный набор аллельных полиморфизмов, рекомендуемый в качестве скрининга: *ATIC* rs2372536 и *MTHFR* rs1801133. Предсказуемость неответа и ПД позволит индивидуализировать подход к ведению пациентов, избежав назначения и/или эскалации дозировки МТ. Таким образом, расширится «окно возможностей», которое, в случае заведомо неэффективного лечения МТ, может быть максимально использовано для назначения других БПВП. В конечном счете, персонифицированный подход к терапии приведет к укорочению сроков достижения ремиссии, увеличению ее продолжительности и уменьшению инвалидизации пациентов с РА.

Методология и методы исследования

Методологической основой настоящего диссертационного исследования явились научные положения и достижения отечественных и зарубежных авторов, изучающих клинико-лабораторные маркеры и однонуклеотидные полиморфизмы генов, определяющие индивидуальный фармакологический ответ на лекарственный препарат.

В исследование было включено 294 больных РА. Дизайн работы соответствовал проспективному когортному исследованию. Набор пациентов проводился на протяжении 10 лет. Через 6 месяцев терапии метотрексатом оценивался терапевтический ответ по индексу DAS28 и ПД фармпрепарата. Оценивались клинико-лабораторные показатели пациентов и распределение аллелей и генотипов генов *SLC19A1* (он же *RFC1*) SNP rs1051266 (G80A), *ABCB1 (*он же *MDR1)* SNP 1128503 (C1236T) и rs2032582 (A2677C), *GGH* SNP rs3758149 (C-401T), *FPGS* SNP rs4451422 (A>C) и rs1544105 (C105T), *MTHFR* SNP rs1801131 (A1298C) и rs1801133 (C677T), *ATIC* SNP rs2372536 (C347G), *ADA* SNP rs244076 (T>C), *AMPD1* SNP rs17602729 (C34T), *ITPA* SNP rs1127354 (C94A) с разной эффективностью МТ и его побочными действиями. В работе применялись клинические, гематологические, биохимические, молекулярно-генетические и статистические методы исследования. Проведена этапная статистическая обработка результатов: 1) определены частоты клинико-лабораторных маркеров, аллелей и генотипов каждого из полиморфизмов генов у пациентов с разным терапевтическим ответом – эффективностью и побочными действиями на МТ; 2) с помощью логистической регрессии, объединяющей как качественные, так и количественные показатели, построены клинико-фармакогенетические модели неответа и побочных действий МТ; 3) с помощью метода снижения многофакторной размерности созданы фармакогенетические модели эффективности и побочных действий МТ.

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Челябинской государственной медицинской академии Минздрава (протокол №10 от 25.11.2012).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Существует индивидуальная вариабельность эффективности и побочных действий метотрексата у пациентов с ревматоидным артритом, обусловленная клиническими параметрами, оценка которых необходима для персонифицированного подхода к терапии мето-

трексатом. Побочные действия препарата хуже прогнозируются по клиническим параметрам, чем эффективность.

2. Существует индивидуальная вариабельность эффективности и развития побочных действий метотрексата у пациентов с ревматоидным артритом, обусловленная генетическими мутациями генов транспорта и биотрансформации метотрексата. Эффективность и побочные действия обусловлены сложным взаимодействием полиморфизмов, кодирующих разные системы его фармакокинетики и фармакодинамики: побочные действия определяются системами транспорта и полиглютамации/деглютамации, эффективность – внутриклеточным транспортом, аденозиновым и фолатным путями. Фармакогенетические исследования позволяют индивидуализировать подход к терапии метотрексатом при ревматоидном артрите.

3. Возможно предвидеть неответ по отдельным аллельным полиморфизмам (*ATIC* rs2372536 и *MTHFR* rs1801133), в меньшей степени – побочные действия (*MTHFR* rs1801133) метотрексата. Совместное влияние аллельных вариантов генов транспорта и биотрансформации определяет ответ на фармпрепарат в большей степени, чем их самостоятельное воздействие.

4. Изучение клинико-лабораторных и фармакогенетических параметров позволяет построить алгоритмы для персонифицированного подхода к назначению метотрексата при ревматоидном артрите.

Степень достоверности исследования

Степень достоверности результатов работы определяется количеством клинических наблюдений с использованием современных методов исследований, проведенных на сертифицированном оборудовании. Полученные данные обработаны с помощью пакета современных статистических программ и подтвердили свою достоверность. Теория построена на известных, проверяемых фактах, согласуется с опубликованными в литературе данными других исследователей. Научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертации, аргументированы и логически обоснованы результатами клинических и инструментальных исследований.

Апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационного исследования представлены и обсуждены на областных и всероссийских научных конференциях: XIV Конференция иммунологов Урала (г. Челябинск, 2017 г.); XVII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 75-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета «ЮУГМУ. Медицинская наука и клиническая практика» (г. Челябинск, 2017 г.); Областная научно-практическая видеоконференция «Актуальные вопросы современной ревматологии». (г. Челябинск, 2020 г.); «Дни науки в Челябинской области» (г. Челябинск, 2021 г.); Международная седьмая научно-практическая школа-конференция «Аллергология и клиническая иммунология» (г. Сочи, 2021 г.); European Federation of Immunogenetics (Великобритания, г. Эдинбург, 2021 г.); Областная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы диагностики и лечения артритов» (г. Челябинск, 2022 г.); «Наука Челябинской области: лица, проекты и результаты» (г. Челябинск, 2022 г.); XII научно-практическая конференция «Общетерапевтические аспекты ревматологии» (г. Новосибирск, 2022 г.); II Уральский ревматологический форум, посвященный 100-летию со дня рождения академика РАН В.А. Насоновой (г. Челябинск, 2022 г.); Международный Евроазиатский Форум врачей внутренней медицины (г. Уфа, 2022 г); Научно-практическая конференция НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой «Результаты научных исследований – в клиническую практику» (г. Москва, 2022 г.); Региональная научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы клинической медицины» (г. Челябинск, 2022 г.); Научно-практическая конференция ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, приуроченная к 100-летию со дня рождения академика В.А. Насоновой и 65-летию ФГБНУ НИИ ревматологии (г. Москва, 2023).

Первичная экспертиза диссертации проведена в ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 29.03.2024.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Цели, задачи, положения, выносимые на защиту, а также выводы сформулированы автором совместно с научным консультантом доктором мед. наук, проф. член-кор. РАН Лилой А. М. Соискателем выполнены научно-информационный поиск, анализ и обобщение данных научной литературы, посвященной проблемам лечения ревматоидного артрита, изучению клинических, лабораторных, фармакогенетических предикторов терапевтического ответа на метотрексат. Автором разработан протокол исследования, определен объем изучаемых клинико-лабораторных параметров; оптимальный метод для отбора полиморфизмов и их лабораторного типирования, основанный на полимеразной цепной реакции; проведено в полном объёме клиническое обследование больных с подготовкой материала для лабораторного исследования; статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием пакетов Epitools [64Sergeant, 2020], PAST (v. 4.01; [Hammer et al., 2001]), SNPStats [145 Solé et al., 2006], Statistica (v. 10.0, StatSoft Inc.), MedCalc (v. 13.0, MedCalc Software Ltd.), mdr (version 3.0.2, [137, Hahn, 2003]), IBM® SPSS® Statistics (v. 20).

Автором сформулированы выводы и практические рекомендации, которые внедрены в клиническую практику. Полученные результаты работы отражены в публикациях, личный вклад соискателя составляет не менее 85%.

Внедрение результатов исследования

Основные теоретические положения диссертации используются в лекциях и семинарских занятиях для ординаторов и врачей, проводимых на кафедре ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, на кафедре терапии ИДПО и кафедре клинической фармакологии и терапии ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» Минздрава России, а также для магистрантов на кафедре микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет». Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность ревматологических отделений ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» Минздрава России и ГБУЗ Челябинской областной клинической больницы и используются для персонализированного подхода к назначению метотрексата пациентам с ревматоидным артритом.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 52 печатные работы, в том числе 29 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований, а также одни тезисы в иностранной печати.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 211 страницах и состоит из введения, обзора литературы, глав с изложением клинической характеристики пациентов, используемых методов исследования, результатов собственного исследования, их обсуждения, заключения, выводов, приложения, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 227 публикаций, из них 46 отечественных и 181 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 25 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы исследования. Общая характеристика пациентов

Исследование проводилось в 2013-2022 гг. В исследование было включено 294 пациентов РА, находившихся на лечении в дневном стационаре ревматологического профиля МБУЗ ОТКЗ Городской клинической больницы №1 г. Челябинска и амбулаторном лечении клиники профессора Кинзерского А.Ю. Письменным согласием в исследование подтверждалось добровольное участие каждого пациента. В исследуемую когорту вошли лица восточноевропейского происхождения (русские, белорусы, украинцы и др.), не включались лица тюркского происхождения (башкиры, казахи и др.). Отбор больных проводился в соответствии со следующими критериями.

Критерии включения:

1) достоверный диагноз РА, установленный в соответствии с классификационными критериями (по критериям ACR-EULAR 2010 г.);

2) возраст старше 18 лет;

3) информированное согласие пациента на участие в исследовании;

4) «наивный» пациент по базисной терапии или лечение метотрексатом в качестве первого БПВП в анамнезе.

Критерии невключения:

1) отказ пациента от участия в исследовании;

2) фоновая патология печени (за исключением первичного стеатогепатоза);

3) онкологические, гематологические, хронические инфекционные и аутоиммунные заболевания пациента;

4) употребление алкоголя в дозе более 40 грамм чистого этанола в сутки для мужчин и более 20 грамм чистого этанола в сутки для женщин;

5) беременность и кормление грудью;

6) прием лекарственных препаратов, оказывающих влияние на фармакокинетику и/или фармакодинамику МТ.

Набор пациентов проводился с 18-летнего возраста вне зависимости от пола, рентгенологической стадии РА и активности болезни по индексу DAS28. Соотношение женщин и мужчин составило 5:1, из 294 пациентов было 246 (83,7%) женского и 48 (16,3 %) мужского пола. Возрастной разброс пациентов – от 21 до 93 лет, медиана возраста составила 53,8±19,1 год. Возраст дебюта РА: от 8 до 79 лет, в среднем заболевание начиналось в возрасте 46,7±16,5 лет. Рентгенологические стадии заболевания у пациентов распределились следующим образом: 0 стадия (отсутствуют рентгенологические изменения) – 25 (8,5%) человек, I стадия (околосуставной остеопороз) – 86 (29,3%) человек, II стадия (сужение суставной щели, единичные костные эрозии) – 102 (34,7%) человек, III стадия (множественные костные эрозии, подвывихи в суставах) – 48 (16,3%) человек и IV стадия (III стадия + анкилозы) – у 33 (11,2%) человек. Серологический вариант РА определялся у всех пациентов: РФ был обнаружен у 239 (81,3%) и серонегативный РА у 55 (18,7%) пациентов. Антитела к ЦЦП были определены у 258 пациентов, среди них 211 (71,8%) пациентов были позитивными по антителам, 47 (16,0 %) – негативными и у 36 (12,2%) человек уровень не определялся. Дважды серопозитивными были 194 (75,2%), дважды серонегативными 32 (12,4%), РФ «+» и АЦЦП «-» 15 (5,8%), РФ «-» АЦЦП «+» 17 (6,6%) пациентов.

Степень активности РА оценивали по индексу DAS28, основанному на подсчете числа болезненных и припухших суставов (из 28 возможных), скорости оседания эритроцитов и оценки пациентом боли по визуальной аналоговой шкале в диапазоне от 0 до 100. Высокая активность - при значении DAS28>5,1 балла, умеренная – 3,2<DAS28≤5,1 и низкая DAS28≤3,2 баллов [Disease Activity Score Calculator for Rheumatoid arthritis. – 15.03.2023. – URL: https://www.4s-dawn.com/DAS28/]. Исходно низкая степень активности была у 17 (5,8%) пациентов, умеренная у 142 (48,3%), высокая – 135 (45,9%). Функциональные нару-

шения определяли по опроснику функционального индекса нарушения жизнедеятельности (HAQ, Health Assessment Questionnaire). Значения HAQ 0 – 1,0 определяются как минимальные, 1,1 – 2,0 считаются умеренными и 2,1 – 3,0 – выраженными [Health Assessment Questionnaire for Rheumatoid Arthritis. – 15.03.2023. – URL: https://www.4s-dawn.com/HAQ/HAQ-DI.html]. Только у 36 (12,2%) пациентов не было функциональных нарушений, больше половины, 162 (55,1%), выполняли действия с небольшим трудом, а треть больных, 96 (32,7%), не были в состоянии их выполнить. Системные проявления зафиксированы у 51 (17,3%) пациента, из них: ревматоидные узелки 34 (11,6%), синдром Шегрена 12 (4,1%), увеит, сетчатое ливедо и плеврит по одному (по 0,3%) пациенту, миалгии у 4 (1,4%) человек. Активные курящие – 48 (16,3%) человек, некурящие 246 (83,7%) пациентов. ИМТ у большинства пациентов был в норме (или предожирение) 233 (79,3%), страдали ожирением 61 (20,7%) человек.

Терапия МТ инициирована в дозе 10 мг с эскалацией до 25 мг в неделю с мониторингом эффективности в течение 6 месяцев. Инъекционную форму МТ получали 188 (63,9%), таблетированную 106 (36,1%) пациентов. У 20 пациентов (вошли в неответчики) терапия МТ была инициирована ранее, в этих случаях анализ заболевания и ответа на терапию осуществлялся на основании данных амбулаторной карты и собранного анамнеза. При высокой активности РА назначались глюкокортикостероиды (ГКС). В качестве «bridge» – терапии до клинического ответа на МТ 63 (21,4%) пациента получали преднизолон или метилпреднизолон перорально в дозе от 5 до 15 мг/сутки (эквивалентно преднизолону), длительный прием ГКС из-за неэффективности МТ зафиксирован в 88 (29,9%) случаях. При средней и низкой активности воспалительного процесса 143 (48,6%) пациента принимали нестероидные противовоспалительные препараты и/или введение ГКС внутрисуставно. Полная характеристика пациентов представлена в таблице 1. Дизайн исследования представлен на первом рисунке.

Рисунок 1 - Дизайн исследования

Побочные реакции на МТ фиксировались на протяжении всего периода наблюдения. Оценивались субъективные ощущения пациентов, проводились общий осмотр, включая слизистые, и лабораторное обследование (см. ниже).

Таблица 1 – Характеристика пациентов РА, n=294

Гендерный состав	женщины	246 (83,7%)
	мужчины	48 (16,3 %)
ИМТ	норма	233 (79,3%)
	ожирение	61 (20,7%)
Курение	курящие	48 (16,3%)
	некурящие	246 (83,7%)
Средний возраст, лет		53,8±19,1
Средний возраст начала заболевания, лет		46,7±16,5
DAS28	низкая DAS28≤3,2	17 (5,8%)
	умеренная 3,2 < DAS28≤5,1	142 (48,3%)
	высокая DAS28>5,1	135 (45,9%)
HAQ	0–1	36 (12,2%)
	1,1 – 2,0	162 (55,1%)
	2,1 – 3,0	96 (32,7%)
Системные проявления	ревматоидные узелки	34 (11,6%)
	«сухой» синдром	12 (4,1%)
	миалгии	4 (1,4%)
	«сетчатое ливедо»	1 (0,3%)
	увеит	1 (0,3%)
	плеврит	1 (0,3%)
РФ	обнаружен	239 (81,3%)
	не обнаружен	55 (18,7%)
АЦЦП	обнаружены	211 (71,8%)
	не обнаружены	47 (16,0 %)
	не определялись	36 (12,2%)
РФ и АЦЦП (на 258 человек)	РФ + АЦЦП -	15 (5,8%)
	РФ – АЦЦП +	17 (6,6%)
	РФ +АЦЦП +	194 (75,2%)
	РФ – АЦЦП -	32 (12,4%)
Рентгенологическая стадия	0	25 (8,5%)
	I	86 (29,3%)
	II	102 (34,7%)
	III	48 (16,3%)
	IV	33 (11,2%)
Прием ГКС	«bridge» – терапия	63 (21,4%)
	длительный прием	88 (29,9%)

В случае стойкой тошноты, появлении рвоты, возникновении на слизистой ротовой полости болезненных язвочек регистрировались побочные реакции со стороны ЖКТ. При стойком повышении концентрации АСТ и АЛТ более трех норм рассчитывался коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ). Среднее значение показателя составило 0,81±0,2 (при норме 1,33±0,42), что свидетельствовало о нарушении функции печени, такие больные включались в группу «гепатотоксичности» МТ. При отмене МТ у всех пациентов АСТ и АЛТ достигли исходных цифр. При снижении лейкоцитов менее $3{,}0\times10^9$/л пациенты вклю-

чались в группу «лейкопения». Более чем у половины от общего числа ПД регистрировалось повышение трансаминаз – 50 (61,0%), у трети пациентов тошнота 27 (32,9%), лейкопения и стоматит составили небольшой процент. Сочетание ПД (стоматита и гепатотоксичности) выявлено у двух пациентов. С целью оценки причинно-следственной связи приема МТ и ПД использовалась шкала Наранжо «Неблагоприятная побочная реакция – лекарство» [Naranjo C. A., 1981]. В группу ПД включены пациенты, которые имели определенную, вероятную, возможную степень связи.

Методы исследования

У всех пациентов проводился сбор анамнеза с последующим физикальным осмотром. Комплексное обследование больных включало методы лабораторного и инструментального исследований на основании приказа Минздрава России от 24.12.2012 № 1470н "Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при ревматоидном артрите". Клинические исследования: общий анализ крови и мочи. Биохимические исследования: АСТ и АЛТ, креатинин, билирубин, щелочная фосфатаза, холестерин, общий белок и фракции, глюкоза, кальций и фосфор крови. Иммунологические исследования: уровень С-реактивного белка, РФ, АЦЦП. Перед назначением МТ пациенты тестированы на маркеры гепатитов В и С. Инструментальные методы исследования: рентгенография суставов, ультразвуковое исследование суставов, брюшной полости, сердца, флюорография или рентгенография органов грудной клетки, электрокардиография и фиброгастродуоденоскопия, – проводились по показаниям.

Молекулярно-генетические методы

Отбор генов осуществлялся на основании кандидатного подхода [Кутихин А. Г., 2017]. Выбор полиморфизмов-кандидатов проводился на основе их участия в транспорте (внутрь и из клетки) и метаболизме МТ (полиглютамация/деглютамация МТ, фолатный и аденозиновый пути, синтез пуринов «de novo»), Рисунок 2, публикаций и базы данных однонуклеотидных полиморфизмов (dbSNP, Single Nucleotide Polymorphism Database) [Home - SNP – NCBI. – 28.03.2023. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/]. Аллельный полиморфизм должен был иметь значимые результаты в ассоциации с эффективностью и/или развитием побочных действий МТ, о которых сообщалось в публичной базе данных PubMed; публикациях, представленных в открытом доступе: dbSNP или в базе данных по фармакогеномике (PharmGKB, Pharmacogenomics Knowledgebase) [PharmGKB. – 28.03.2023. – URL: https://www.pharmgkb.org/]. Предполагаемая частота минорного аллеля каждого из полиморфизмов в популяции составляла не менее 5%. В России изучение выбранных аллельных полиморфизмов при лечении метотрексатом РА не проводилось.

После проведенного отбора в качестве мишеней были выбраны однонуклеотидные полиморфизмы генов, кодирующих: SLC19A1 (RFC1) – внутриклеточный переносчик, ABCB1 (MDR1) – переносчик из клетки, FPGS – фермент полиглютамации, GGH – фермент деглютамации, MTHFR – фермент фолатного пути, ATIC – фермент аденозинового пути и синтеза пуринов «de novo», ADA, AMPD1, и ITPA – ферменты аденозинового пути.

Молекулярно-генетическое типирование проводилось на базе отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». В качестве материала для исследования использовали геномную ДНК, которую выделяли из периферической венозной крови с помощью наборов реагентов «Protrans DNA Box 500» (Германия). Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции с помощью наборов реагентов производства ООО «ТестГен» согласно инструкции производителя. Формат наборов – FLASH-детекция по конечной точке. Амплификацию проводили на приборах QuantStudio (Applied Biosystems), для анализа результатов использовали программное обеспечение QuantStudio Design and Analysis Software v.1.5.2.

Примечание – **MT** – метотрексат, **SLC19A1** (solute carrier family 19 member 1) – транспортер фолатов и MT в клетку, **ABCB1** (ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1) – транспортер P-гликопротеин, который выводит MT из клетки, **FPGS** (folylpolyglutamate synthase) - фолилполиглютаматсинтаза , **GGH** (gamma-glutamyl hydrolase) – гаммаглютамилгидролаза, **MTPG** – полиглютамированный MT, **DHFR** (dihydrofolate reductase) – дегидрофолатредуктаза, **THF** (tetrahydrofolate) – тетрагидрофолат, **5,10-CH_2-THF** (5,10 - methylentetrahydrofolate) – 5,10-метилентетрагидрофолат, **MTHFR** (methylenetetrahydrofolate reductase) – метилентетрагидрофолатредуктаза, **5-CH_3-THF** (5 -methyltetrahydrofolate) – 5-метилтетрагидрофолат, **DHF** (dihydrofolate) – дигидрофолат, **MS** (methionine synthase) – метионинсинтаза, **TS** (thymidylate synthase) – тимидилатсинтаза, **dUMP** (deoxyuridine monophosphate) – дезоксиуридинмонофосфат, **dTMP** (deoxythymidine monophosphate) – дезокситимидинмонофосфат, **ATIC** (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase) – аминоимидазол карбоксамид рибонуклеотид формилтрансфераза, **10-CHO-THF** (methylenetetrahydrofolate dehydrogenase) – метилентетрагидрофолатдегидрогеназа, **AICAR** (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide) – 5-аминоимидазол-4-карбоксамид рибонуклеотид, **FAICAR** (5- formylaminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide) - 5-формиламиноимидазол-4-карбоксамид рибонуклеотид, **ITPA** (inosine triphosphatase) – инозинтрифосфатаза, **ITP** (inosine triphosphate) – инозинтрифосфат, **IMP** (inosine monophosphate) – инозинмонофосфат, **ATP** (adenosine trihosphate) – аденозинтрифосфат, **AMP** (adenosine monophosphate) – аденозинмонофосфат, **AMPD1** (adenosine monophosphate deaminase) – аденозинмонофосфат деаминаза 1, **ADA** (adenosine deaminase) – аденозиндеаминаза, **cAMP** (cyclic adenosine monophosphate) – циклический аденозинмонофосфат, **IL-10** (interleukin-10) – интерлейкин-10. Красным выделены белки, одноименные гены которых изучены в текущем исследовании.

Рисунок 2 – Механизм действия метотрексата, адаптировано из [Predictive genetic biomarkers for the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review, Eektimmerman F., 2020]

Статистическая обработка результатов

В ходе статистического анализа полученных данных использовали методы описательной статистики, выборочных сравнений, анализа зависимостей, оценки диагностической эффективности, а также многомерные методы: редукции данных с обобщением, классификации и регрессии, снижения многофакторной размерности. Для описания количественных признаков использовали медиану и квартили, а для качественных – абсолютную (количество пациентов с признаком) и относительную (в процентах) частоты с биномиальными 95%-ми доверительными интервалами (95% ДИ), вычисленными по Джеффрису (Jeffreys confidence intrvals). Сравнения выборок по количественным показателям проводили с помощью критерия Манна – Уитни, а по качественным – с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. В последнем случае для слабонасыщенных таблиц сопряжённости (имелись ячейки с частотами менее 5) расчёт *P*-значения проводили точным методом Фишера или рандомизационной техникой Монте-Карло (n = 99999), а для выявления ячеек таблицы, давших неслучайный вклад в ста-

тистику критерия, вычисляли отклонения Фримана – Тьюки FT_d. Расчёты выполнены в пакетах Epitools, PAST (v. 4.01).

Для выявления наиболее общих закономерностей в наборе клинических признаков пациентов использовали нелинейный анализ главных компонент, который был проведён по алгоритму CATPCA, позволяющему анализировать одновременно количественные и качественные показатели. Расчёты выполнены в пакете IBM® SPSS® Statistics (v. 20).

В работе широко применялись различные методы моделирования неответа на лечение и развития ПД МТ в зависимости от генетических и клинических признаков, а также их сочетаний. Для оценки влияния отдельных полиморфных локусов на отклик оценивались 5 моделей наследования в пакете SNPStats. Для моделирования рисков на основании комплекса генетических данных с учётом возможных неаддитивных взаимодействий генов использовали технику снижения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) с получением решающих правил вида «если – то». При этом использовали алгоритм всестороннего поиска лучших моделей, а также ориентировались на графы энтропии, построенные на основе информационного анализа. Диагностическую эффективность полученных моделей оценивали по показателям чувствительности и специфичности, надёжность – по результатам 10-кратной перекрёстной проверки, а статистическую значимость – по критерию хи-квадрат. Расчёты и графические построения выполнены в пакете mdr (version 3.0.2).

Клинико-фармакогенетические модели строили с использованием множественной логистической регрессии на предварительно отобранных техникой «случайного леса из деревьев классификации и регрессии» (Random forest) наиболее перспективных предикторах. В итоговый набор включали показатели, имевшие максимальные средние значения важности предиктора, рассчитанные по 500 «случайным деревьям» в моделях от 2 до 10 предикторов в пакете Statistica (v. 10.0, StatSoft Inc.). Статистическую значимость построенных моделей множественной логистической регрессии оценивали критерием хи-квадрат максимального правдоподобия с расчётом отношений шансов входящих в модели показателей, а диагностическую эффективность – по показателям чувствительности и специфичности с 95% ДИ. Для отдельных лучших предикторов в ходе ROC-анализа оценивали площадь под характеристической кривой и по индексу Юдена находили оптимальную точку отсечения. Расчёты выполнены в пакете MedCalc (v. 13.0, MedCalc Software Ltd.). Во всех случаях статистически значимыми признавали эффекты при $P \leq 0{,}05$, незначимыми – при $P > 0{,}10$, в промежуточных случаях обсуждали тенденции к проявлению эффектов.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование построено на клиническом и фармакогенетическом подходе изучения эффективности и нежелательных побочных действий МТ, что позволило объединить фундаментальную науку и практическую ревматологию. Наблюдение за пациентами с РА, проводилось на протяжении полугода непрерывного лечения. Оценка ответа на МТ проводилась по динамике индекса DAS28 от начала и через 6 месяцев терапии. Эффект учитывался как хороший, когда индекс снижался более чем на 1,2 балла с конечным значением 3,2 и меньше. Если разница значений DAS28 составляла менее 0,6 баллов, то регистрировали отсутствие эффекта от лечения. Соответственно результатам были сформированы две группы: «ответчики» и «неответчики» на терапию МТ, данные представлены в Таблице 2.

В число ответчиков вошли 170 (57,8%) пациентов, достигших ремиссии или низкой активности РА на монотерапии МТ. В группу неответчиков вошли 124 (42,2%) пациента, которые получали комбинированную терапию (МТ+ГИБП, МТ+другие сБПВП, МТ+низкие дозы ГКС) или произведена смена МТ на другие БПВП. Необходимо отметить, что в число неответчиков были включены 10 пациентов, которым назначена комбинация МТ с другими БПВП и 13 больных, у которых смена БПВП проведена по поводу развития побочных реакций в первый месяц терапии.

Таблица 2– Группы разного ответа на метотрексат, n=294

DAS28 исходный	Ответчики		Неответчики	
	n=170	%=57,8	n=124	%=42,2
DAS28> 5,1 (высокая)	51	30	84	67,7
3,2 <DAS28 ≤ 5,1 (умеренная)	102	60	40	32,3
DAS28 ≤ 3,2 (низкая)	17	10	–	–

В дальнейшем, согласно клиническим рекомендациям, в группе неответчиков проведена смена терапии на другие сБПВП или назначена комбинация БПВП (как синтетических, так и биологических). Средняя доза МТ не отличалась в группах женщин (14,83 мг/неделю) и мужчин (14,85 мг/ неделю); не зависела от числа пораженных суставов: при полиартрите 14,83 мг/ неделю, при олигоартрите – 14,84 мг/ неделю; не зависела от системных проявлений: без них – 14,8 мг/ неделю, с системными проявлениями – 14,9 мг/неделю.

Во время лечения на каждом визите с оценкой причинно-следственной связи по шкале Наранжо оценивались ПД МТ. Общее число пациентов, у которых зарегистрированы побочные реакции, – 82, что составило 27,89% от общего числа исследованных лиц, у некоторых пациентов наблюдалось сочетание нежелательных действий препарата. Ожидаемо, ПД в группе неответчиков встречались чаще – 51 (17,3%), и реже у ответчиков – 31 (10,5%). Выявлены три группы ПД, с превалированием гепатотоксичности – 52 (17,7%) больных; в два раза реже встречались нежелательные ПД со стороны ЖКТ – 29 (9,9%) пациентов (в нее вошли тошнота, рвота – 26 (8,8%) и стоматит – 3 (1%) и завершила список лейкопения – 3 (1,7%) пациента. Распределение ПД в группах разного ответа на МТ представлена в Таблице 3. Средняя доза МТ в группах без ПД была незначительно ниже (14,8±2,2 мг в неделю), чем с ПД МТ (15,1±2,2 мг в неделю), p = 0,373. Средняя доза разных форм МТ не отличалась: инъекционного 14,86±1,17 мг/неделю и таблетированного МТ 14,86±2,2 мг/неделю (p = 0,581).

Таблица 3 – Побочные действия в группах ответчиков и неответчиков на терапию МТ

Побочные действия, n = 82 (27,9%)	Ответчики n=31 (10,5%)	Неответчики n=51 (17,3%)
ПД со стороны ЖКТ, n=27 (32,9%)	10 (12,2%)	17 (20,7%)
Повышение трансаминаз, n=50 (61,0%)	19 (23,2%)	31 (37,8%)
Повышение трансаминаз и стоматит, n=2 (2,4%)	1 (1,2%)	1 (1,2%)
Лейкопения, n=3 (3,7%)	1 (1,2%)	2 (2,4%)

Прогнозирование *эффективности* метотрексата по *клинико-лабораторным* маркерам

Далее выполнена оценка корреляции индивидуальных особенностей больных, включая пол, ожирение, курение, возраст дебюта РА, системные проявления, иммунологические маркеры (РФ и АЦЦП), активность болезни по индексу DAS28 и функциональный статус по опроснику HAQ с эффективностью МТ. Полученные данные были обработаны двумя методами: главных компонент NLPCA и сравнения с использованием критерия χ^2 Пирсона.

Нелинейный анализ главных компонент

Для выявления наиболее общих закономерностей связи между клиническими показателями пациентов с РА был использован нелинейный анализ главных компонент. На Рисунке 3 представлен график осыпи, призванный помочь определиться с числом выделяемых главных компонент (ГК).

Как видно из Рисунка 3, в данном случае имеет смысл выделять 1, 4 или 7 компонент. Выбор одной ГК позволит увидеть только главную тенденцию в структуре данных, тогда как выбор 7, согласно результатам проведённой проверки, является избыточным: 6 и 7 ГК плохо

интерпретировались и объясняли мало дисперсии. Поэтому в окончательный расчёт были выбраны 4 первые ГК, информация по которым представлена в Таблице 4 и на Рисунке 3.

Рисунок 3 – Выделение главных компонент по алгоритму CATPCA на графике осыпи Кэттелла. Пунктир – критерий Кайзера

В последней колонке Таблицы 4 приведены значения общностей, которые могут изменяться в диапазоне от 0 до 1 и показывают, насколько полно изменчивость (количественно – дисперсия) показателей объяснена в рамках данной модели. Видно, что в варианте с 4 ГК наиболее полно была объяснена изменчивость и влияние пола, курения, РФ и АЦЦП, эффект лечения метотрексатом и значения шкал DAS28 и HAQ.

Таблица 4 – Нагрузки показателей на нелинейные главные компоненты у пациентов с РА

Показатель	Главные компоненты				Общность
	1	2	3	4	
Пол (мужской)	0,116	**0,526**	**-0,635**	-0,249	0,756
Курение	0,166	**0,559**	**-0,534**	**-0,326**	0,729
ИМТ (ожирение)	0,204	-0,131	0,236	**-0,318**	0,207
Форма МТ (подкожно)	-0,056	-0,031	**-0,320**	0,125	0,115
Доза МТ	**0,544**	0,057	-0,028	**-0,332**	0,411
Ревматоидный фактор	-0,032	**0,670**	**0,489**	0,098	0,728
АЦЦП	0,072	**0,693**	**0,522**	0,005	0,768
Возраст дебюта	-0,217	0,114	-0,090	**0,496**	0,315
Системные проявления	0,228	0,159	-0,156	**0,533**	0,383
ГКС в лечении	**0,734**	-0,024	0,174	0,085	0,566
Гепатотоксичность	0,137	**0,268**	-0,028	**0,364**	0,220
Тошнота и рвота	0,096	**-0,349**	-0,024	-0,095	0,130
Стоматит	0,076	0,008	-0,178	**0,333**	0,144
Лейкопения	0,087	0,113	0,142	**-0,355**	0,171
Отсутствие ответа на МТ	**0,870**	-0,053	0,061	-0,044	0,768
DAS28 исходный	**0,734**	0,009	-0,208	0,199	0,618
DAS28 конечный	**0,939**	-0,037	0,020	0,005	0,885
HAQ в дебюте	**0,771**	-0,071	-0,015	0,153	0,622
HAQ в динамике	**0,934**	-0,070	0,083	-0,005	0,885
Доля объясняемой дисперсии, %	24,8	9,5	8,0	7,3	–

Примечание – Жирным шрифтом выделены нагрузки более |0,25|

Слабее всего объяснялась изменчивость таких качественных альтернативных показателей, как форма МТ, наличие тошноты и рвоты, стоматита и лейкопении. В целом все 4 выделенные ГК объясняли в сумме 49,6% общей дисперсии набора признаков.

Первая ГК объясняла примерно четверть (24,8%) общей дисперсии и более чем в 2 раза превосходила по важности ГК 2. Нагрузки показателей, приведённые в Таблице 4, показывают, с какой силой и знаком показатели «участвуют» в стоящей за компонентой латентной переменной – симптомокомплексом, фактором или процессом. Статистически они представляют собой корреляцию Пирсона между данной переменной и ГК, поэтому к значениям нагрузок менее 0,25–0,3 по модулю следует относиться как к слабым, к значениям более 0,7–0,75 – как к сильным, а в промежуточных случаях можно говорить о среднем по силе вкладе показателя в компоненту. Исходя из значений первой колонки Таблицы 4, следует, что с максимальными нагрузками в ГК 1 вошли индексы DAS28 и HAQ, отсутствие ответа на лечение метотрексатом, назначение ГКС в схему лечения и доза препарата. Данный набор показателей следует интерпретировать как тяжесть заболевания. Тяжёлым пациентам чаще назначались более высокие дозы МТ в сочетании с ГКС. Видно, что из шкал DAS28 и HAQ наибольшее значение для оценки тяжести имели значения в динамике и конце лечения, однако они сильно коррелировали с исходными значениями. С практической клинической точки зрения это даёт основания считать пациентов с высокими значениями по данным шкалам при первичном обследовании потенциально более сложными, т.е. хуже отвечающими на монотерапию МТ, и уже изначально нуждающимися в более агрессивном лечении.

С меньшими, но также хорошо объяснимыми нагрузками в ГК 1 вошёл ещё ряд показателей. Наблюдалась тенденция к большей тяжести заболевания у пациентов с высокими значениями индекса массы тела, а также с ранним дебютом, о чём говорит отрицательное значение нагрузки. Также несколько чаще у более тяжёлых пациентов отмечались системные проявления. Распределение пациентов по значениям ГК1 наглядно представлено на ординационной диаграмме Рисунка 4.

Рисунок 4 – Пациенты (точки) и показатели (векторы) в пространстве двух первых нелинейных главных компонент

Этот рисунок представляет собой сдвоенный график (биплот), на котором пациенты представлены точками, а показатели векторами. Проекции последних на ось абсцисс (ГК 1) прямо пропорциональны нагрузкам Таблицы 4, а проекции меток пациентов показывают общий разброс значений ГК, вычисленных для каждого пациента. Для повышения информативности рисунка мы присвоили пациентам разных категорий ответа на лечения метки разных цветов. Видно, что вдоль первой компоненты все пациенты распались на 2 группы: с ответом на лечение (синие метки) и с неответом или частичным ответом (соответственно красные и золотистые). 13 пациентов с отсутствующими оценками эффективности лечения вошли как в первую, так и во вторую группы. В целом полученная картина указывает на хорошую разделимость в многомерном пространстве изученных признаков пациентов с положительным ответом на лечение от остальных. Пациенты с частичным ответом и неответом на лечение МТ не разделялись между собой, что даёт основание причислить пациентов с частичным ответом к группе неответчиков.

Вторая главная компонента ГК 2 объясняла примерно десятую часть общей дисперсии набора признаков (9,5%). С максимальными значениями в неё вошли РФ и АЦЦП, а также пол и курение. Поскольку при кодировке качественного альтернативного признака «пол» женщинам присваивалась метка 1, а мужчинам – 2, положительное значение нагрузки для пола в Таблице 4 соответствует мужскому направлению, а отрицательное – женскому. Таким образом, ГК 2 следует интерпретировать как наличие особенностей РА у пациентов мужского пола. В связи с тем, что курящих мужчин в выборке было больше, чем курящих женщин, ассоциация признака «курение» с мужским полом закономерна. Нагрузки на другие показатели позволяют отметить более частую гепатотоксичность пациентов-мужчин, а также менее частое возникновение тошноты и рвоты в качестве побочной реакции на лечение метотрексатом. Описанная закономерность также хорошо видна из Рисунка 4, если рассматривать проекции векторов на ось ординат (ГК 2).

Сравнение выборок

Вторым методом сравнения групп с использованием критерия $\chi 2$ Пирсона проанализирован каждый признак для обнаружения других маркеров ответа на терапию (Таблица 5). Пропорционально число женщин и мужчин среди ответчиков на МТ было выше 6:1 (85,9% женщины, 14,1% мужчины), чем у неответчиков 4:1 (80,6% женщины, 19,4% мужчины), (p = 0,2, OR = 0,7 [0,4; 1,3]. Возраст пациентов статистически достоверно влиял на ответ МТ: в средней возрастной категории (40–60 лет) выше было число ответчиков 54,7% (p = 0,015, OR = 0,6 [0,3; 0,9]; в более молодой возрастной категории (до 40 лет) преобладали неответчики на терапию 42,7% (p = 0,003, OR = 2,1[1,3; 3,5]. Число пораженных суставов в группах разных исходов не различалось (данные не представлены). У неответчиков с тенденцией к достоверности чаще встречались системные проявления 21,8%, чем у ответчиков 14,1% (p = 0,08, OR = 1,7 [0,9; 3,1]. Достоверных различий в иммунологических показателях (РФ и АЦЦП) в группах разного ответа на МТ не выявлено (АЦЦП не определялись у 36 пациентов). Курение также оказало влияние на эффективность МТ: процент курящих преобладал в группе неответчиков 20,2% и 13,5% у ответчиков (p=0,1, OR=1,6 [0,9; 3,0] (с тенденцией к достоверности).

Лица с ожирением достоверно чаще были неответчиками 28,2%, чем ответчиками 15,3% (p=0,007, OR=2,1 [1,6; 4,8]. ГКС достоверно чаще применялись у неответчиков на МТ, что было предполагаемой закономерностью (данные не представлены). В группах разного ответа ПД в 2,2 раза чаще регистрировалась у пациентов с неответом на МТ 41,1% против 18,2% с ответом (p=0,004, OR=3,1 [1,9; 5,3]. Средняя доза МТ в обеих группах была около 14,8 мг в неделю. Высокая степень активности в дебюте заболевания преобладала в группе неответа более чем в два раза: 67,7% против 30,0% у ответчиков (p=0,001, OR=4,9 [2,9; 8,1]. Данные представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Характеристика пациентов с разным ответом на МТ, n=294

Признак	Неответ n=124 n (%)	Ответ n=170 n (%)	*p*	*OR* [95% CI]
Женщины (n=246)	100 (80,6%)	146 (85,9%)	0,264	0,7 [0,4; 1,3]
Мужчины (n=48)	24 (19,4%)	24 (14,1%)		
Курящие (n=48)	25 (20,2%)	23 (13,5%)	**0,151****	**1,6 [0,9; 3,0]**
Некурящие (n=246)	99 (79,8%)	147 (86,5%)		
Ожирение (n=61)	35 (28,2%)	26 (15,3%)	**0,007***	**2,1 [1,6; 4,8]**
Норма (n=233)	89 (71,8%)	144 (84,7%)		
Дебют РА до 40 (n=97)	53 (42,7%)	44 (25,9%)	**0,003***	**2,1 [1,3; 3,5]**
Дебют РА 40-60 (n=143)	50 (40,3%)	93 (54,7%)	**0,015***	**0,6 [0,3; 0,9]**
Дебют РА после 60 (n=54)	21 (17,0%)	33 (19,4%)	0,649	0,8 [0,5; 1,5]
Системные проявления (n=51)	27 (21,8%)	24 (14,1%)	**0,087****	**1,7 [0,9; 3,1]**
Без системных проявлений (n=243)	97 (78,2%)	146 (85,9%)		
РФ + (n=239)	97 (78,2%)	142 (83,5%)	0,289	0,7 [0,3; 1,2]
РФ - (n=55)	27 (21,8%)	28 (16,5%)		
АЦЦП + (n=211)	93 (75,0%)	118 (69,4%)	0,517	1,2 [0,7; 2,4]
АЦЦП - (n=47)	18 (14,5%)	29 (17,1%)		
АЦЦП не определялись (n=36)	13 (10,5%)	23 (13,5%)	-	-
ПД (n=82)	51 (41,1%)	31 (18,2%)	**0,0004***	**3,1 [1,9; 5,3]**
Нет ПД (n=212)	73 (58,9%)	139 (81,8%)		
DAS28 в дебюте 2,6 – 3,2 (n=17)	0 (0%)	17 (10,0%)	**-**	;
DAS28 в дебюте 3,2 – 5,1 (n=142)	40 (32,3%)	102 (60,0%)	**<0,001***	**0,3 [0,2; 0,5]**
DAS28 в дебюте более 5,1 (n=135)	84 (67,7%)	51 (30,0%)	**<0,001***	**4,9 [2,9; 8,1]**
HAQ в дебюте 0-1	2 (1,6%)	34 (20,0%)	**<0,001***	**0,06 [0,02; 0,3]**
HAQ в дебюте 1,1 – 2,0	59 (47,6%)	103 (60,6%)	**0,032***	**0,6 [0,4; 0,9]**
HAQ в дебюте 2,1 – 3,0	63 (50,8%)	33 (19,4%)	**<0,001***	**4,3 [2,6; 7,2]**
Без сопутствующей патологии (n=170)	64 (51,6%)	106 (62,4%)	**0,073****	**0,6 [0,4; 1,03]**
Сопутствующая патология (n=124)	60 (48,4%)	64 (37,6%)		
Аутоиммунный тиреоидит (n=13)	8 (6,5%)	5 (2,9%)	0,257	2,3 [0,7; 7,1]
Без аутоиммунного тиреоидита (n=281)	116 (93,5%)	165 (97,1%)		
Гипертоническая болезнь (n=35)	14 (11,3%)	21 (12,3%)	0,856	0,9 [0,44; 1,86]
Без гипертонической болезни (n=259)	110 (88,7%)	149 (87,7%)		
Ишемическая болезнь сердца (n=15)	6 (4,8%)	9 (5,3%)	0,926	0,9 [0,32; 2,63]
Без ишемической болезни (n=279)	118 (95,2%)	161 (94,7%)		
Сахарный диабет типа 2 (n=11)	6 (4,8%)	5 (2,9%)	0,592	1,7 [0,5; 5,6]
Без сахарного диабета (n=283)	118 (95,2%)	165 (97,1%)		
Анемия средней тяжести (n=5)	2 (1,6%)	3 (1,8%)	0,721	0,9 [0,15; 5,5]
Без анемии (n=289)	122 (98,4%)	167 (98,2%)		
Хронический гастрит (n=26)	18 (14,5%)	8 (4,7%)	**0,007***	**3,4 [1,4; 8,2]**
Без гастрита (n=168)	106 (85,5%)	162 (95,3%)		
Язвенная болезнь (n=12)	5 (4,1%)	7 (4,1%)	0,793	0,98 [0,3; 3,2]
Без язвенной болезни (n=282)	119 (95,9%)	163 (95,9%)		
Прием фолиевой кислоты (n=204)	94 (75,8%)	110 (64,7%)	**0,042**	**1,7 [1,02;2,87]**
Без фолиевой кислоты (n=90)	30 (24,2%)	60 (35,3%)		

Оба метода подтверждают связь неответа на МТ с высокими значениями DAS28 и HAQ в дебюте РА. У неответчиков DAS28 регистрируется более 5,1, а HAQ в интервале 2,1–3,0 ($p<0,001$, OR=4,9 [2,9; 8,1] и OR=4,3, [2,6; 7,2] соответственно), в сравнении с группой ответчиков, где исходные DAS28 и HAQ были ниже (p<0,05, OR и доверительный интервал менее 1). Активность заболевания по индексу DAS28: высокая у неответчиков – 84 (67,7%) и ответчиков – 51 (30,0%), средняя – 40 (32,3%) и 102 (60,0%) соответственно, низкая – 0 (0%) и 17 (10,0%) соответственно.

Сопутствующая патология фиксировалась на момент инициации лечения МТ. Выявлены 124 случая, чаще у неответчиков 60 (48,4%) против 64 (37,6%) на уровне тенденции следующих нозологий: чаще всего встречалась гипертоническая болезнь – 35 человек и хронический гастрит – 26 пациентов; число других зарегистрированных патологий было примерно одинаковым: аутоиммунный тиреоидит у 13 пациентов, ишемическая болезнь сердца у 15 пациентов, второй тип диабета 11 человек, язвенная болезнь 12-перстной кишки и желудка 12 пациентов, реже всего встречалась анемия средней степени тяжести у 5 пациентов. Убедительных данных по разности сопутствующей патологии у пациентов разного ответа на МТ не получено. Один из критериев невключения в исследование «прием лекарственных препаратов, оказывающих влияние на фармакокинетику и/или фармакодинамику МТ» позволил инициировать терапию МТ без фолиевой кислоты. Согласно клиническим рекомендациям, в процессе наблюдения фолиевая кислота назначалась в случае развития неэффективности или плохой переносимости МТ. Получена достоверная разница среди ответчиков и неответчиков. Частота неответа была выше у пациентов, получавших добавки ФК (p=0,042, OR=1,7 [1,02; 2,87]).

Методом сравнения выявлены следующие закономерности с ответом на МТ:

1. Ожирение снижает эффективность МТ почти в 2 раза. Пациенты с избыточной массой тела статистически значимо хуже отвечали на МТ, чем при нормальном весе: 35 (28,2%) неответчиков и 26 (15,3%) ответчиков страдали ожирением, нормальный вес у неответчиков регистрировался реже 89 (71,8%), чем у ответчиков 144 (84,7%), (p=0,007, OR=2,1 [1,6; 4,8]).

2. При раннем начале заболевания эффективность МТ ниже. Молодой возраст дебюта РА (до 40 лет) чаще ассоциировался с неответом на МТ (p=0,003, OR=2,1 [1,3; 3,5]), в возрасте 40–60 лет эффективность лечения была выше (p=0,015, OR=0,6 [0,3; 0,9]). Раннее начало заболевания зарегистрировано в 53 (42,7%) случаях неответа и 44 (25,9%) случаях ответа, а в возрасте 40–60 лет в 50 (40,3%) случаях неответа и 93 (54,7%) ответа.

3. Высокая активность РА и значительное нарушение функциональной жизнедеятельности в дебюте заболевания предопределяют неэффективность МТ. Число неответчиков по индексу DAS28 (более 5,1) было выше 84 (67,7%), чем число ответчиков – 51 (30,0%), (p<0,001, OR=4,9 [2,9; 8,1]). Индекс HAQ в дебюте 2,1 – 3,0 зарегистрирован чаще у неответчиков 63 (50,8%), чем у ответчиков 33 (19,4%), (p<0,001, OR=4,3 [2,6; 7,2]).

4. ПД МТ определяют его неэффективность. Нежелательные реакции на МТ были выше в 2,2 раза у неответчиков 51 (41,1%), чем у ответчиков 31 (18,2%), (p=0,0004, OR=3,1 [1,9; 5,3]).

5. Системные проявления РА и активное курение увеличивают вероятность плохого ответа на МТ. Системные проявления зарегистрированы чаще у неответчиков 27 (21,8%), чем у ответчиков 24 (14,1%); активное курение выше в группе неответа 25 (20,2%), чем в группе ответа – 23 (13,5%). В обоих случаях различия находятся на уровне тенденции ($0,05 \leq p \leq 0,1$), OR и доверительные интервалы идентичны 1,7 [0,9; 3,1] и 1,6 [0,9; 3,0].

6. Пол и иммунологические маркеры (РФ и АЦЦП) не влияют на прогноз ответа. В группах неответа и ответа на МТ показатели распределились следующим образом: женщины – 100 (80,6%) и 146 (85,9%), мужчины – 24 (19,4%) и 24 (14,1%); РФ «+» у 97 (78,2%) и 142 (83,5%) пациентов, РФ «-» у 27 (21,8%) и 28 (16,5%) пациентов; АЦЦП «+» в 93 (75,0%) и 118 (69,4%), АЦЦП «-» 18 (14,5%) и 29 (17,1%) пациентов соответственно, во всех случаях $p > 0,05$, а доверительный интервал содержит 1.

Таким образом, в группах разного ответа на МТ не было различий по следующим характеристикам: полу, числу пораженных суставов и иммунологическим маркерам (РФ и

АЦЦП). Частота неответа достоверно выше у пациентов с началом заболевания до 40 лет, с ожирением, высокой активностью РА в дебюте. Также у неответчиков чаще на уровне тенденции регистрировались курение и системные проявления. Ответ на МТ достоверно выше был в средней возрастной категории (от 40 до 60 лет). ПД достоверно чаще встречались у неответчиков.

Прогнозирование *побочных действий* метотрексата по *клинико-лабораторным* маркерам

Для обсуждения раздела о побочных действиях МТ стоить внести ремарку. В работе используются термины «нежелательные/побочные явления/действия/реакции/эффекты» и некоторые другие, употребляемые в клинических рекомендациях или научных статьях, как синонимичные. В задачах и выводах работы с целью единообразия и упрощения внедрения результатов исследования в практическое здравоохранение в соответствии с Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» (N 61-ФЗ, в редакции от 30.01.2024) используется термин «побочное действие» – «как реакция организма, возникшая в связи с применением лекарственного препарата в дозах, рекомендуемых в инструкции по его применению, для профилактики, диагностики, лечения заболевания или для реабилитации».

Побочные реакции на метотрексат зафиксированы у 82 (27,9%) из 294 больных. У 29 (9,9%) больных возникли тошнота, рвота и стоматит, у 52 (17,7%) наблюдалось повышение уровня трансаминаз, у 3 (1,1%) – лейкопения. Средняя сумма баллов по шкале Наранжо составила 9 баллов, что свидетельствует об определенной связи неблагоприятная побочная реакция с МТ. При сравнении связи с ПД у ответчиков и неответчиков разницы не получено.

Общее число ПД в 2,2 раза чаще регистрировалось при неэффективности МТ: у лиц с неответом 51 (41,1%) против 31 (18,2%) с ответом (p=0,004, OR=3,1 [1,9; 5,3]). ПД при назначении фолиевой кислоты встречались у 54 пациентов (26,4%) и 28 человек (31,1%) без добавок. Пациенты без побочных явлений МТ получали фолиевую кислоту: 150 человек (73,6%) и не получали 62 человека (68,9%). Прием фолиевой кислоты не оказывал влияние на развитие ПД МТ (p=0,414, OR=0,78 [0,5; 1,4].

В группе каждого ПД была проанализирована частота следующих показателей: пол, ожирение, курение, возраст дебюта РА, системные проявления, иммунологические маркеры (РФ и АЦЦП), активность болезни по индексу DAS28 и функциональный статус по опроснику HAQ, прием ГКС, а также форма и доза МТ. Как и расчёты эффективности, оценка ПД проводилась двумя методами: главных компонент и сравнения с использованием критерия $\chi 2$ Пирсона. Выделенные главные компоненты, которые суммарно объясняют небольшой процент общей дисперсии, интерпретации не подлежат из-за низкой их значимости (данные не представлены).

Самым частым побочным явлением МТ зарегистрировано повышение печеночных ферментов – 52 (17,7%) пациента от общего числа обследуемых. Сравнение влияния изучаемых факторов на гепатотоксичность представлены в Таблице 6. Достоверных данных по другим ПД не получено. В группах с гепатотоксичностью и без нее не было различий по следующим характеристикам: полу, ожирению, курению, возрасту дебюта РА, системным проявлениям, степени активности воспалительного процесса, и иммунологическим маркерам (РФ и АЦЦП). Гепатотоксичность достоверно чаще встречалась у пациентов, получавших инъекционный 40 (76,9%) случаев, чем таблетированный МТ 12 (23,1%) случаев (p=0,032, OR=2,12 [1,06; 4,24]); а также у больных, получавших ГКС в дебюте РА: 34 (65,4%) пациента против не принимавших их 18 (34,6%) (p=0,026, OR=2,02 [1,08; 3,77]). Закономерно, что индексы активности и нарушения жизнедеятельности были выше у лиц, получавших ГКС. Среднее значение DAS28 в дебюте при приеме ГКС составило 5,57±0,85, без приема ГКС 4,63±0,97 (p<0,001). Среднее значение индекса HAQ в дебюте при приеме ГКС составило 2,06±0,49, без приема ГКС 1,45±0,51 (p<0,001).

Таблица 6 - Влияние изучаемых факторов на гепатотоксичность МТ, n=294.

Признак	Гепатотоксичность n=52 (17,7%)	Нет гепатотоксичности n=242 (82,3%)	*p*	*OR* [95% CI]
Женщины (n=246)	41 (78,8%)	205 (84,7%)	0,299	0,673 [0,31; 1,43]
Мужчины (n=48)	11 (21,2%)	37 (15,3%)		
Системные проявления (n=51)	10 (19,2%)	41 (16,9 %)	0,693	1,17 [0,54; 2,51]
Без системных проявлений (n=243)	42 (80,8%)	201 (83,1 %)		
РФ есть (n=239)	44 (84,6%)	195 (80,6%)	0,562	1,33 [0,58; 3,00]
РФ нет (n=55)	8 (15,4%)	47 (19,4%)		
Курящие (n=48)	10 (19,2%)	38 (15,7%)	0,532	1,28 [0,59; 2,77]
Некурящие (n=246)	42 (80,8%)	204 (84,3%)		
ИМТ норма (n=233)	45 (86,5%)	188 (77,7%)	0,153	0,542 [0,23; 1,27]
Ожирение (n=61)	7 (13,5%)	54 (22,3%)		
ГКС в дебюте (n=151)	34 (65,4%)	117 (48,3%)	**0,026***	**2,02 [1,08; 3,77]**
Без ГКС в дебюте (n=143)	18 (34,6%)	125 (51,7%)		
Таблетированный МТ (n=106)	12 (23,1%)	94 (38,8%)	**0,032***	**2,12 [1,06; 4,24]**
Инъекционный МТ (n=188)	40 (76,9%)	148 (61,2%)		
Дебют РА до 40 лет (n=97)	13 (25%)	84 (34,7%)	0,2	0,6 [0,3; 1,2]
Дебют РА 40-60 лет (n=143)	27 (51,9%)	116 (47,9%)	0,6	1,2 [0,6; 2,1]
Дебют РА после 60 лет (n=54)	12 (23,1%)	42 (17,4%)	0,3	1,4 [0,7; 3,0]
HAQ в дебюте 0-1 (n=36)	4 (7,7%)	32 (13,2%)	>0,05	0,5 [0,2; 1,6]
HAQ в дебюте 1,1-2,0 (n=162)	34 (65,4%)	128 (52,9%)	0,1	1,7 [0,9; 3,1]
HAQ в дебюте 2,1-3,0 (n=96)	14 (26,9%)	82 (33,9%)	0,3	0,7 [0,4; 1,4]
DAS28 в дебюте 2,6-3,2(n=18)	2 (3,8%)	16 (6,6%)	>0,05	0,6 [0,1; 2,5]
DAS28 в дебюте 3,2-5,1 (n=142)	26 (50%)	116 (47,9%)	0,8	1,1 [0,6; 2,0]
DAS28 в дебюте >5,1 (n=134)	24 (46,2%)	110 (45,5%)	0,9	1,0 [0,6; 1,9]
АЦЦП + (n=211)	42 (91,3%)	169 (79,7%)	0,09	2,67 [0,91; 7,86]
АЦЦП - (n=47)**	4 (8,7 %)	43 (20,3%)		

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$); ** – 36 пациентам АЦЦП не определялись

Таким образом, по изученным показателям можно предположить развитие гепатотоксичности, но не ПД со стороны ЖКТ и лейкопению. Среди рассмотренных факторов предикторами гепатотоксичности могут быть прием ГКС в дебюте РА, назначаемые при более высокой активности заболевания и нарушении жизнедеятельности. Инъекционная форма МТ, в отличие от пероральной, чаще вызывает цитолитическое действие со стороны печени. Другие параметры: пол, ожирение, курение, системные проявления, возраст дебюта РА, иммунологические маркеры (РФ и АЦЦП), доза МТ, – не влияют на развитие гепатотоксичности.

Для ПД со стороны ЖКТ (тошнота, рвота, стоматит) и лейкопении изученные параметры: пол, ожирение, курение, системные проявления, возраст дебюта РА, исходная активность болезни по индексу DAS28 и функциональные нарушения по индексу HAQ, иммунологические маркеры (РФ и АЦЦП), прием ГКС, форма и доза введения МТ, – закономерностей не получено.

В первой части исследования, основанной на сравнении клинических маркеров в группах разного ответа на терапию, были выявлены предикторы неэффективности и гепатотоксичности МТ. На основании числа выявленных предикторов для эффективности – 6, гепа-

тотоксичности – 2, можно сделать вывод о более сложном прогнозировании ПД по клиническим параметрам, нежели неответ на МТ.

Влияние носительства *аллельных вариантов генов*, кодирующих метаболизм метотрексата *на эффективность* и *побочные действия* фармпрепарата

Следующий этап работы – оценка влияния однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих метаболизм МТ, на эффективность терапии. Фармакогенетические исследования в рейтинге мировых научных трендов, безусловно, занимают лидирующие позиции и проводятся двумя разными подходами: кандидатным и полногеномным, каждый из которых имеет свои недостатки и преимущества. Спектр всех аллельных генетических полиморфизмов может быть изучен при полногеномном тестировании в связи с любой нозологией или фармацевтическим препаратом и видится выигрышным вариантом. Он охватывает весь геном, проводится без предварительного отбора полиморфизмов и предположений исследователя - «вслепую», но с большими ожиданиями. Полногеномное тестирование требует специального оборудования и дорогостоящих расходных материалов, поэтому в существующих реалиях мало доступно. При кандидатном подходе, в отличие от полногеномного, изучаются только отобранные перед типированием определенные полиморфизмы, которые по мнению исследователя могут продемонстрировать ассоциацию с лекарством или заболеванием. Поэтому вероятность получить «нулевой» результат или же плохую воспроизводимость на популяции при этом подходе существует. Для достижения поставленной цели перед планируемым исследованием полиморфизмы должны быть тщательно отобраны исследователем и набрана большая выборка для лучшей воспроизводимости. Поскольку нами был избран кандидатный подход для решения поставленной задачи, опорой для отбора полиморфизмов стали публикации по метаболизму МТ.

В мире изучение путей механизма действия МТ и поиск аллельных полиморфизмов, меняющих ответ на препарат, шло параллельно. Открытия ученых дополняли друг друга и давали толчок новым научным изысканиям. В 1998 году van Ede et al., нашли подтверждение того, что эффективность и побочные действия малых доз фармпрепарата определяются различными метаболическими путями. Противовоспалительный эффект опосредован активацией аденозина, а побочные реакции могут быть объяснены действием на гомоцистеин-метиониновый или фолатный путь.

Исследование ферментов метаболизма МТ и кодирующих их генов, двигалось в направлении от транспортеров, полиглютамации, к фолатному циклу, и, позже, к аденозиновому пути. Поначалу изучались полиморфизмы одного гена, а в двухтысячных годах исследователи стали включать в работы сразу несколько полиморфных вариантов разных генов-кандидатов. Изучение полиморфизмов генов, кодирующих аденозиновый путь метаболизма МТ, исторически пришлось на последние два десятилетия. Аллели генов *ATIC, AMPD1, ADA* и *ITPA* одновременно изучались в разных комбинациях и в совокупности с другими полиморфизмами, кодирующими внутри- и внеклеточный транспорт МТ, процессы полиглютамации и обратный ей, а также фолатный цикл. Ученые стали чаще использовать многофакторные методы анализа, в котором наряду с генетическими рассматривали клинические и лабораторные маркеры возможного ответа на МТ. При планировании текущего исследования был проанализирован путь метаболизма МТ и в основу отбора полиморфизмов положена идея отразить все преобразования МТ от внутриклеточного транспорта до выведения из клетки. Последовательность поиска строилась на основании цепи метаболизма МТ: транспорт; процесс полиглютамации и обратный ей, основные противовоспалительные пути (аденозиновый и фолатный), при этом акцент был сделан на аденозиновый как основной в механизме действия малых доз МТ и наименее изученный. Статистическая обработка должна была отобразить как самостоятельное действие полиморфизмов на терапевтический ответ, а далее - совместное влияние как самих генов, так и во взаимодействии с клиническими параметрами.

Распределение генотипов соответствовало закону Харди–Вайнберга для европейской популяции: для *SLC19A1 (RFC1)* rs1051266 *p* = 0,24; для *ABCB1 (MDR1)* rs1128503 *p* = 0,56 и rs2032582 *p* = 0,56; для *GGH* rs3758149 *p* = 0,75; для *FPGS* rs4451422 *p* = 0,33 и rs1544105 *p* = 0,52; для *MTHFR* rs1801131 *p* = 0,68 и rs1801133 *p* = 0,66; для *ATIC* rs2372536 *p* = 0,7; для *ADA* rs244076 *p* = 0,2; *AMPD1* rs17602729 *p* = 0,5; для *ITPA* rs1127354 *p* = 0,41. Достоверных различий в частоте полиморфизмов между популяцией пациентов с РА, принимающих МТ, и представителями других популяцией обнаружено не было, что говорит об отсутствии взаимосвязи между заболеваемостью и наличием изучаемых полиморфизмов.

Оценка *эффективности* МТ простым статистическим анализом показала, что аллель С полиморфизма *MTHFR* rs 1801133 у неответчиков встречался чаще – 189 (76%), чем аллель Т – 59 (24%) на уровне тенденции (*p* = 0,08, *OR* = 1,4; 95% ДИ [0,96; 2,0]), преобладая в гомозиготном состоянии в сравнении с ответчиками – 74 (60%) и 82 (48%) соответственно (*p* = 0,05, *OR* = 1,6 [0,99; 2,5]), также на уровне тенденции. Генотип СТ чаще выявлялся у ответчиков на уровне тенденции 73 (43%) против 41 (33%) у неответчиков (*p* = 0,09, *OR* = 0,7 [0,4; 1,06]). У ответчиков преобладал аллель С полиморфизма *ATIC* rs2372536: 230 (68%) против аллеля G 110 (32%) (*p* = 0,07, *OR* = 0,7 [0,5; 1,0]) на уровне тенденции, и частота встречаемости генотипа СС достоверно выше у ответчиков 80 (47%) против 41 (33%) у неответчиков (*p* = 0,02, *OR* = 0,6 [0,3; 0,9]). При этом генотип CG достоверно преобладал у неответчиков 68 (55%) над ответчиками 70 (41%) (*p* = 0,02, *OR* = 1,7 [1,09; 2,8]). Генотип ТС полиморфизма *ADA* rs 244076 встречался чаще на уровне тенденции у неответчиков 33 (27%) против 33 (18%) у ответчиков (*p* = 0,07, *OR* = 1,7 [0,9; 2,9]).

Таким образом, при анализе частот генотипов и аллелей разницы среди ответчиков и неответчиков на МТ в распределении большинства полиморфизмов: *SLC19A1 (RFC1)* rs1051266 G>A, *FPGS* rs4451422 A>C и rs1544105 C>T; *GGH* rs3758149 C>T; *ABCB1 (MDR1)* rs1128503 C>T и rs2032582 A>C, *ITPA* rs1127354 C>A, *AMPD1* rs17602729 C>T, *MTHFR* rs1801131 A>C, – не выявлено (данные представлены в тексте диссертации). В группах разного ответа на МТ различия выявлены в трех полиморфизмах. У неответчиков чаще выявлялся аллель С полиморфизма *MTHFR* rs1801133 в гомозиготном состоянии (на уровне тенденции); генотип CG полиморфизма *ATIC* rs2372536 (достоверно); гетерозиготный генотип ТС полиморфизма *ADA* rs244076 (на уровне тенденции). У ответчиков преобладал гетерозиготный генотип СТ полиморфизма *MTHFR* rs1801133 на уровне тенденции; аллель С полиморфизма *ATIC* rs2372536 на уровне тенденции и достоверно в гомозиготном состоянии.

После изучения ассоциации аллельных полиморфизмов с эффективностью МТ такой же подход был применен к анализу SNP со всеми видами *побочных действий* (данные представлены в тексте диссертации). Генотип ТТ *MTHFR* rs1801133 статистически значимо чаще встречается у лиц с ПД на МТ: 11 (13,4%) больных против 13 (6,1%) пациентов без них (p = 0,041, *OR* = 2,37 [1,02; 5,54]. Для каждого вида ПД: гепатотоксичности, со стороны ЖКТ и крови, – были рассчитаны частоты встречаемости полиморфизмов, но статистически значимых данных не получено.

Таким образом, при анализе генотипов большинства аллельных полиморфизмов в группах ПД МТ и без них: *SLC19A1 (RFC1)* G>A rs1051266, *FPGS* A>C rs4451422 и C>T rs1544105; *GGH* C>T rs3758149; *ABCB1 (MDR1)* C>T rs1128503 и A>C rs2032582, *ITPA* C>A rs1127354, *AMPD1* C>T rs17602729, *MTHFR* A>C rs1801131, *ATIC* C>G rs2372536, *ADA* A>G rs244076, - разницы не выявлено. Единственный из изученных генотипов ТТ полиморфизма *MTHFR* C>T rs1801133 способен в два раза увеличить число побочных действий МТ.

Сравнительный анализ частоты встречаемости комбинации аллелей изучаемых генов показал, что в группах разного терапевтического ответа на МТ: частота некоторых комбинаций у ответчиков от 0,0111 до 0,0601 и у неответчиков от 0,0089 до 0,0255; в группах пациентов с ПД и без них частота некоторых комбинаций составила от 0,0099 до 0,0569 без ПД и 0,0089 до 0,0349 с ПД. Однако эти данные не позволяют выявить целевой предиктор для оценки эффективности и побочных действий терапии.

Моделирование рисков неответа на терапию метотрексатом

Выбор предикторов для построения модели неответа на метотрексат

Выбор показателей, которые будут использоваться для моделирования, представляет собой специальную задачу, поскольку полученный набор должен быть, во-первых, надёжным, а во-вторых, оптимальным по числу показателей. Надёжность предполагает хорошую диагностическую ценность не только для имеющегося набора данных, но и для объектов генеральной совокупности, не вошедших в изученную выборку. В современных методах моделирования это достигается процедурой ресэмплинга, когда вместо одного анализа проводится их серия с обеспечением вариабельности включения имеющихся наблюдений в новые выборки и последующим учётом полученной изменчивости для построения и/или оценки качества моделей. В качестве таких методов применяются техники складного ножа (jackknife), различные варианты бутстрэпа (bootstrap), рандомизационная процедура Монте-Карло (Monte Carlo method, permutation test), а также перекрёстная проверка (cross-validation). Под оптимальностью в отношении числа показателей можно понимать такое их количество, которое будет обеспечивать высокие прогностические качества модели при небольшом числе предикторов. Обычно в ходе моделирования ориентируются на информационные критерии: Акаике (AIC) или байесовский (BIC) – чем ниже их значение, тем модель ближе к оптимальной. При этом для построения самой модели широко применяется множественная логистическая регрессия, позволяющая включать как количественные, так и качественные номинальные предикторы для прогноза бинарного отклика.

В нашем случае число предикторов было велико: 11 показателей из анамнеза пациентов и 12 полиморфных состояний 9 генов. Включение такого большого набора в модель с пошаговым выбором наиболее сильных предикторов не обеспечит получения лучшей модели, поскольку часть показателей могут коррелировать между собой, а выбор наиболее сильного показателя из такого паттерна не обеспечивает лучших качеств модели в сочетаниях с другими предикторами. На практике это приводит к перебору большого числа моделей с прямым и/или обратным отбором и различными граничными значениями статистического критерия для включения или исключения показателя из модели. Поэтому при выборе наиболее перспективных предикторов была задействована другая техника, обеспечивающая одновременно надёжность полученного набора предикторов – «случайный лес из деревьев классификации и регрессии» (Random forest).

На Рисунке 5представлено «дерево решений», построенное по алгоритму CART (Classification and Regression Tree), и позволяющее классифицировать пациента как попадающего в группу неответа на терапию метотрексатом или в группу ответчиков на такое лечение. Точность классификации по этому «дереву решений» составила 187 из 228 или 82,0%, при чувствительности 77,9% и специфичности 91,9%. Видно, что полученный набор предикторов 4 раза включал показатель «HAQ в дебюте», 2 раза – «возраст дебюта», а также по одному разу «РФ», «DAS28 исходный», «ГКС», и 4 полиморфных гена (*SLC19A1, FPGS* rs4451422 и две точковые мутации гена *MTHFR*). Таким образом, учитывая, что наиболее значимые предикторы расположены в верхней части графика, можно предположить, что наиболее важными для классификации пациентов на две категории являются показатели «HAQ в дебюте» и аллельный вариант гена *MTHFR* rs1801133. Однако более точно и количественно это можно оценить по результатам оценки важности предикторов.

Ещё на этапе построения «дерева» для каждого «ветвления» рассчитывалась предикторная статистика – сумма квадратов регрессии для каждого показателя, а далее выбирался наилучший предиктор. Если вычислить среднее значение этой статистики для всех «ветвлений» и наибольшему значению присвоить значение 1, а остальным – пропорциональные меньшие значения, то все предикторы могут быть ранжированы в порядке уменьшения важности для классификации.

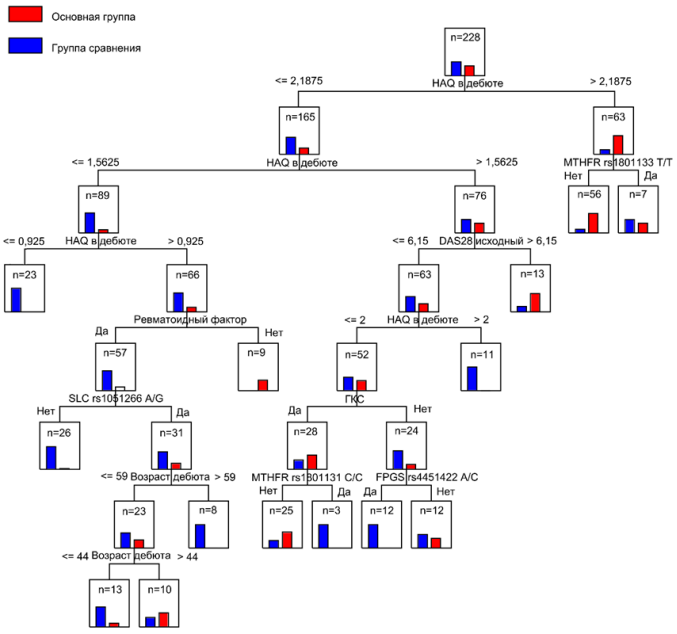


Рисунок 5 – «Дерево решений» для прогноза неответа на лечение метотрексатом

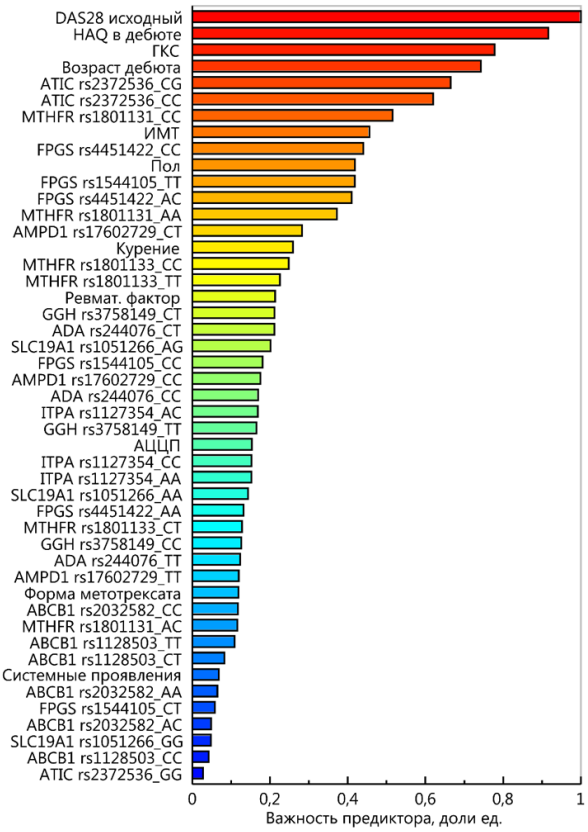


Рисунок 6 – Иерархия предикторов для «дерева классификации» ответа на лечение метотрексатом

Для анализа, по которому было построено представленное на Рисунке 5 «дерево», соответствующая иерархия предикторов представлена на Рисунке 6. Видно, что полученная иерархия не нашла полного отражения в «дереве» решений. Так, например, максимальной важностью обладал показатель «DAS28 исходный», а не «HAQ в дебюте», а наиболее перспективный для прогноза ген *ATIC* rs2372536 не был включён алгоритмом в итоговое «дерево решений». Это означает, что полученное «дерево» не может использоваться в качестве надёжного классификатора и является лишь одним из множества вариантов. Поэтому нами была использована техника построения «случайного леса из таких деревьев».

В ходе анализа из имеющегося набора данных случайным образом извлекалось 70% наблюдений, которые использовались для построения модели (обучающая выборка), а на оставшихся 30% оценивалось её качество (тестовая выборка). В настройках метода минимальное значение в дочернем узле было выставлено на 2, а максимальное число уровней на 20 – для обеспечения полной классификации всех объектов. При этом, учитывая, что для моделей с разным числом предикторов лучшими могли оказаться разные показатели, был рассмотрен набор от 2 до 10 предикторов. В каждом случае строилось 500 случайных «деревьев» классификации, и по результатам анализа оценивалась важность показателей для такого «леса». Результаты этой оценки представлены графически на кластерной тепловой карте – Рисунка 7.

Из Рисунка 7 видно, что выделилась группа из трёх показателей с максимальными значениями важности независимо от числа предикторов в модели: «DAS28 исходное» (средний ранг по всем 9 моделям «случайного леса» равен 1), «HAQ в дебюте» (2) и «возраст дебюта» (3). Относительно высокую важность демонстрировали показатели: «форма метотрексата» (4) и аллельный вариант гена «*SLC19A1* rs1051266 AG» (5). В десятку наиболее сильных предикторов вошли также «*ABCB1* rs2032582 AC» (ранг 6), «*ATIC* rs2372536 CC» (7), «ГКС» (8), «*MTHFR* rs1801131 AC» (9) и «*GGH* rs3758149 CC» (10). Именно данные показатели были далее использованы для построения моделей логистической регрессии.

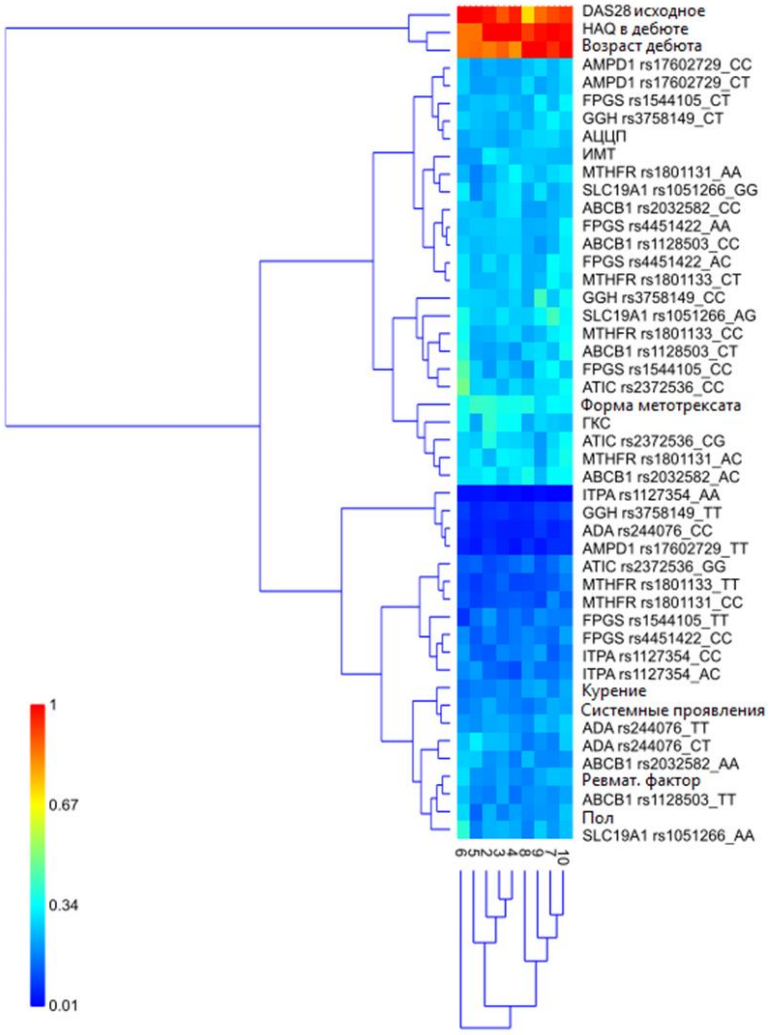


Рисунок 7 – Кластерная тепловая карта важности предикторов в зависимости от их числа в модели

Построение модели

Опираясь на результаты предыдущего этапа, нами были построены две модели: первая включала 3 наиболее сильных клинических предиктора, а вторая строилась пошаговой техникой отбора показателей из 10 наиболее сильных предикторов, включая генетическую информацию. Результаты анализа представлены в Таблицах 7 и 8.

Таблица 7 – Параметры и характеристика модели 1 логистической регрессии для прогноза неответа на лечение метотрексатом (n=281)

Показатели	Коэффициент регрессии ± стандартная ошибка	*OR* [95% CI]	*p*
DAS28 исходный	0,41118±0,21024	1,51 [1,00; 2,28]	0,0505
HAQ в дебюте	1,53595±0,37467	4,65 [2,23; 9,68]	< 0,0001
Возраст дебюта	-0,001765±0,01020	0,98 [0,96; 1,00]	0,0836
Константа	-4,5577	–	–
Примечание – Модель полностью: χ^2_{ML*} = 297,5; df_* = 3; p < 0,0001. Чувствительность: 60,4% [51,1; 69,1] Специфичность: 80,6% [74,2; 86,0] Диагностическая эффективность: 70,5. Доля верно классифицированных: 72,6% [67,2; 77,6]. * – ML (maximum likelihood) – максимальное правдоподобие, df (degree of freedom) – степени свободы (для критерия)			

Из Таблицы 7 видно, что несмотря на высокую статистическую значимость модели целиком (хи-квадрат максимального правдоподобия, $\chi^2_{ML} = 297{,}5$; $df = 3$; $p < 0{,}0001$), значимым из трёх показателей был только HAQ в дебюте. Для двух других предикторов p-значение было между 0,05 и 0,10, что свидетельствует о неслучайности их влияния на результат моделирования, однако не позволяет обоснованно включить их в модель.

Таким образом, по сути, первая модель только подтверждает значение для диагностики показателя HAQ. В более полную модель, отобранную пошаговым алгоритмом и представленную в Таблице 8, вошли 3 клинических показателя и 1 генетический.

Таблица 8 – Параметры и характеристика модели 2 логистической регрессии для прогноза неответа на лечение метотрексатом ($n = 281$)

Показатели	Коэффициент регрессии ± стандартная ошибка	*OR* [95% CI]	*p*
ATIC rs2372536 CC	-1,12785±0,32030	0,32 [0,17; 0,61]	0,0004
HAQ в дебюте	1,96891±0,31919	7,16 [3,83; 13,39]	< 0,0001
ГКС	0,74817±0,32440	2,11 [1,12; 3,99]	0,0211
Возраст дебюта	-0,02497±0,010784	0,98 [0,95; 0,99]	0,0206
Константа	-2,8442	–	–
Примечание – Модель полностью: $\chi^2_{ML} = 377{,}1$; $df = 4$; $p < 0{,}0001$. Чувствительность: 66,7% [57,6; 74,9]. Специфичность: 79,4% [72,9; 85,0]. Диагностическая эффективность: 73,1. Доля верно классифицированных: 74,4% [69,0; 79,2]			

Наиболее сильным предиктором в модели ожидаемо оказался HAQ в дебюте с $OR = 7{,}16$. На втором месте и также ожидаемо находился наиболее сильный генетический маркёр – генотип CC *ATIC* rs2372536, по которому ранее были обнаружены статистически значимые различия; отрицательное значение отношения шансов означает, что этот вариант обладал протекторным свойством, т.е. благоприятствовал ответу на лечение, шансы на который были в 1/0,32 = 3,13 раз выше, чем у обладателей других вариантов. На третьем месте с $OR = 2{,}11$ в модели был приём ГКС, а на четвёртом – слабый, но статистически значимый, протекторный эффект возраста дебюта, т.е. более поздний возраст дебюта снижал шансы неответа на лечение (в 1/0,98 = 1,02 раза). В целом данная модель была высоко статистически значимой и обладала высокой специфичностью (79,4%), однако имела недостаточно высокую чувствительность: 66,7% [95% ДИ от 57,6 по 74,9].

Таким образом, с помощью логистической регрессии выстроены две модели для прогноза неответа на МТ. Первая высоко статистически значимая ($\chi^2_{ML} = 297{,}5$; $df = 3$; $p < 0{,}0001$) модель с чувствительностью 60,4% [51,1; 69,1] и специфичностью 80,6% [74,2; 86,0] включала три клинических предиктора дебюта DAS28, HAQ и возраст, в которой показатель HAQ был значимым ($p < 0{,}0001$) и не показали значимости DAS28 ($p < 0{,}0505$) и возраст ($p < 0{,}0836$). Вторая модель высоко статистически значимая ($\chi^2_{ML} = 377{,}1$; $df = 4$; $p < 0{,}0001$) с чувствительностью 66,7% [57,6; 74,9] и специфичностью 79,4% [72,9; 85,0] включала 3 клинических и один фармакогенетический параметры: значимые показатели ATIC rs2372536 CC ($p < 0{,}0004$), HAQ дебюта ($p < 0{,}0001$) и не значимые возраст ($p < 0{,}0206$) и ГКС ($p < 0{,}0211$). В целом результаты проведённого моделирования следует оценивать, как положительные, однако недостаточно надёжные для практического использования ввиду невысокой чувствительности. Поэтому далее предпринята попытка построения ещё одной фармакогенетической модели.

Построение фармакогенетической модели прогноза *неответа* на метотрексат

Для поиска генов и их взаимодействий с целью моделирования прогноза риска неответа на лечение МТ у больных РА была использована методика снижения многофакторной размерности (MDR). Работа по построению генетической модели прогноза риска неответа на терапию включала в себя несколько этапов. На первом этапе был проведён автоматический

всесторонний поиск лучшей модели: от одного гена до сочетания трёх генов. Характеристики полученных моделей представлены в Таблице 9 и на Рисунке 8.

Наилучшей простой моделью была модель с полиморфизмом *ATIC* rs2372536, что было ожидаемым, поскольку данный ген сильнее всего и статистически значимо проявился ранее в анализе отдельных однонуклеотидных полиморфизмов. Чувствительность модели 57,7% [48,4; 66,6], специфичность 58,8% [51,3; 66,0], диагностическая эффективность 58,2, надёжность модели в кросс-проверке 10/10 (Таблица 9). В графическом сопровождении техники MDR, представленной на Рисунке 8а, это выглядит как тёмно-серая ячейка повышенного риска для гетерозиготы CG и светло-серые ячейки пониженного риска для обеих гомозигот.

Из Таблицы 9 видно, что прогностическая модель на основе только этого гена была высоко статистически значимой и давала близкую величину отношения шансов, а также имела хорошую поддержку по результатам 10-кратной перекрёстной проверки: 10 из 10. Однако она характеризовалась низкой диагностической эффективностью (58,2), причём как за счёт низкой чувствительности (57,7%), так и низкой специфичности (58,8%).

Таблица 9 – Модели автоматического построения прогноза неответа на терапию по результатам MDR-анализа ($n_{неответ}$=111, $n_{ответ}$=170)

Модель	Чувствительность, % [95% CI]. Специфичность, % [95% CI]. Диагностическая эффективность	*OR* [95% CI]	*p*	Надёжность модели в кросс-проверке
ATIC rs2372536	57,7 [48,4; 66,6] 58,8 [51,3; 66,0] 58,2	1,95 [1,20; 3,16]	$\chi^2_{(1)} = 7,31$ $p = 0,007$	10 /10
ATIC rs2372536 + *SLC19A1* rs1051266	65,8 [56,6; 74,1] 55,3 [47,8; 62,6] 60,5	2,38 [1,45; 3,90]	$\chi^2_{(1)} = 11,96$ $p < 0,001$	6 /10
ATIC rs2372536 + *SLC19A1* rs1051266 + *MTHFR* rs1801133	73,0 [64,2; 80,6] 58,2 [50,7; 65,5] 65,6	3,76 [2,24; 6,32]	$\chi^2_{(1)} = 26,34$ $p < 0,001$	5 /10
Отдельные двухгенные модели				
ATIC rs2372536 + *MTHFR* rs1801133	59,5 [50,2; 68,3] 59,4 [51,9; 66,6] 59,4	2,15 [1,32; 3,49]	$\chi^2_{(1)} = 9,58$ $p = 0,002$	10 /10
ADA rs244076 + *MTHFR* rs1801131	53,2 [43,9; 62,3] 57,7 [48,4; 66,6] 55,4	1,54 [0,95; 2,50]	$\chi^2_{(1)} = 3,15$ $p = 0,076$	10 /10
SLC19A1 rs1051266 + *FPGS* rs4451422	45,0 [36,0; 54,3] 72,9 [65,9; 79,2] 59,0	2,21 [1,33; 3,66]	$\chi^2_{(1)} = 9,66$ $p = 0,002$	10 /10

Следующей автоматически найденной моделью было сочетание генов «*ATIC* rs2372536 + *SLC19A1 (RFC1)* rs1051266». Данная модель имела несколько большую диагностическую эффективность, но с заметным приростом чувствительности, которая составила здесь 65,8%. Как видно из Рисунка 8б, наибольшее число пациентов в данной комбинации оказались в ячейке гетерозигот по обоим генам (комбинация риска) и в ячейке гетерозигот по гену *SLC19A1* rs1051266 при предковой комбинации CC в гене *ATIC* rs2372536 (протекторная комбинация). Несмотря на высокую статистическую значимость, данная модель имела низкую надёжность по результатам перекрёстной проверки: 6 из 10.

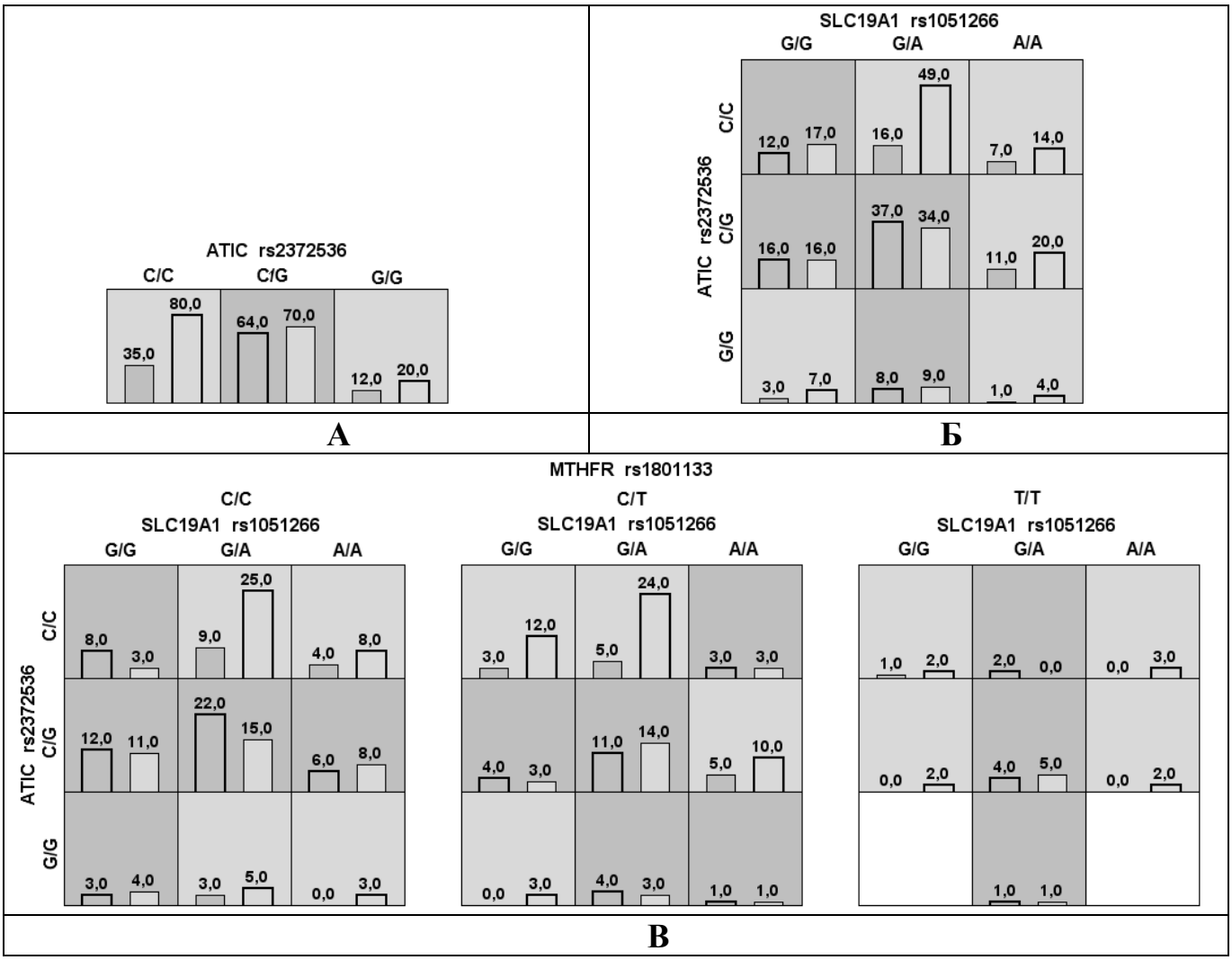


Рисунок 8 – Столбчатые диаграммы числа пациентов в ячейках сочетания генотипов для трех (**А, Б** и **В**) моделей автоматического построения. Столбцы слева – количество неответчиков, столбцы справа – число ответчиков на терапию; темно-серые ячейки – комбинации повышенного риска, светло-серые – пониженного риска, белые – сочетание комбинаций генотипов отсутствует

Последней автоматически найденной моделью была комбинация из трёх генов «*ATIC* rs2372536 + *SLC19A1* rs1051266 + *MTHFR* rs1801133». Видно, что добавление гена *MTHFR* rs1801133 существенно повысило качество модели: чувствительность увеличилась до 73,0%, а отношение шансов – до 3,76. Графическая интерпретация этой модели была сложнее, хотя и здесь прослеживалась установленная выше закономерность повышения риска для гетерозигот *ATIC* rs2372536 и снижения риска для гетерозигот *SLC19A1* rs1051266. Как и предыдущая, данная модель имела существенный недостаток – низкую поддержку в кросс-проверке, что означает её непредсказуемое поведение на других выборках, а, значит, и слабую пригодность для практического использования.

Таким образом, с использованием всестороннего поиска лучшей модели, не удалось найти надёжную модель с приемлемыми показателями диагностической эффективности. С другой стороны, автоматически отобранные модели не могут считаться a priori лучшими, поскольку являются исключительно математическими и никак не задействуют имеющуюся биологическую информацию.

Для повышения эффективности модели на следующем этапе был получен и проанализирован граф вклада всех изученных генов в развитие неответа на терапию, представленный на Рисунке 9. Он построен с использованием техники информационного анализа, в котором

единицей измерения является энтропия Шеннона – количественная мера неопределённости случайных величин. Степень изменения энтропии оценивается информационным выигрышем (Information gain), или относительной энтропией, представляющей собой расстояние между двумя вероятностными распределениями: при учёте информации о данной части системы и при её отсутствии.

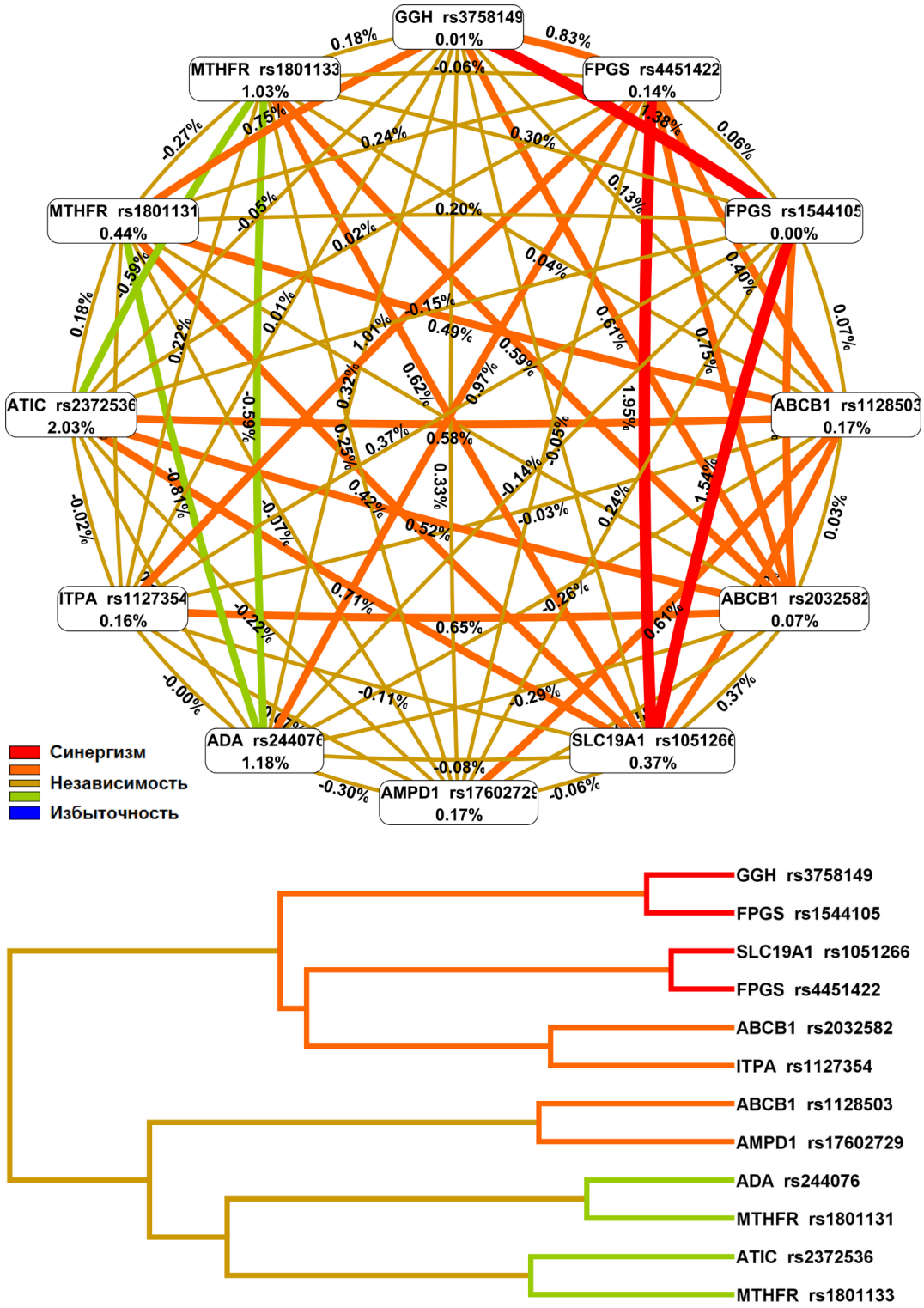


Рисунок 9 – Граф энтропии (сверху) и дендрограмма сходства (снизу) для вклада генов и их взаимодействий в риск неответа на терапию

Структурно граф представлен вершинами, в данном случае – генами, и рёбрами связей между вершинами, в нашем случае – взаимодействием генов. И вершины, и рёбра графа

снабжены значениями определяемого ими информационного выигрыша (в процентах), которые интерпретируются как вклады самих генов и вклады парных взаимодействий между ними в суммарную энтропию системы. Рёбра графа имеют разную толщину – в зависимости от абсолютного значения информационного выигрыша, а также разный цвет – в зависимости от направления вклада в энтропию системы.Оранжевым и красным цветами на Рисунке 9 обозначены связи с положительным вкладом, указывающим на неаддитивный синергетический эффект взаимодействия генов, когда их влияние на результирующий признак (неответ на терапию в данном случае) не является простой суммой действия отдельных генов, что в терминах современной генетики интерпретируется как эпистатическое взаимодействие генов. Зелёным и синим цветами обозначены связи с отрицательным информационным выигрышем, указывающим на избыточность информации в такой паре. То есть в данном случае информация об одном гене частично дублируется информацией о втором гене, что может быть интерпретировано как аддитивный эффект сопряжённого действия двух генов на признак. Тонкие коричневые линии указывают на отсутствие информационного выигрыша в такой паре вершин, то есть о независимом и слабом действии соответствующих генов на признак.

Результаты информационного анализа рассматриваемой системы хорошо согласуются с полученными ранее выводами. Так, например, видно, что наибольший информационный выигрыш из 12 полиморфизмов демонстрировал именно *ATIC* rs2372536 со значением 2,03%. Вторым по силе влияния на результирующий признак был ген *MTHFR* rs1801133 с выигрышем в 1,03%, однако он не был включён во вторую модель всестороннего поиска, поскольку его действие было сопряжённым с *ATIC* rs2372536, и в данной двухгенной системе наблюдалась избыточность, показанная на графе зелёным ребром с отрицательным значением информационного выигрыша. Таким образом, данная двухгенная модель с выигрышем 2,03+1,03-0,59=2,47 уступила модели «*ATIC* rs2372536 + *SLC19A1* rs1051266» с выигрышем 2,03+0,37+0,71=3,11. Обращает на себя внимание преобладание оранжевого и красного цветов на графе энтропии, что указывает на преимущественное неаддитивное действие рассматриваемой системы генов в неответ на терапию. Наиболее сильные из таких связей наблюдались между *SLC19A1* rs1051266 с одной стороны и двумя полиморфизмами *FPGS* rs4451422 и rs1544105 – с другой. За счёт сильного ребра (1,95%) информационный выигрыш в системе «*SLC19A1* rs1051266 + *FPGS* rs4451422» почти не уступал лучшей двухгенной модели: 0,37+0,14+1,95=2,46 против 2,47 (см. выше).

С позиций построения итоговой модели наиболее важные связи позволила увидеть дендрограмма сходства (Рисунок 9), в которой сила взаимодействия генов указана не толщиной линий и значениями на них, а близостью положения на дереве. Так, видно, что самая тесная и неаддитивная связь наблюдалась для генов «*SLC19A1* rs1051266 + *FPGS* rs4451422»; близкий кластер сформировали «*GGH* rs3758149 + *FPGS* rs1544105». В целом связь этих 4 этих генов позволяет выдвинуть первую биохимически обоснованную генетическую модель, которую мы назвали «моделью полиглютамации».

Модель полиглютамации включает в себя полиморфизм транспортёра *SLC19A1*, два полиморфных участка гена *FPGS* и полиморфизм *GGH*. Известно, что за основную внутриклеточную поставку МТ отвечает транспортер SLC19A1, а за преобразование в основные полиглютамированные метаболиты препарата FPGS и обратный ему процесс, деглютамацию, – GGH. То есть три фермента включаются в биохимический процесс последовательно и напрямую зависят от активности предыдущего. Кроме этого, от их содружественной работы зависит образование активной формы МТ, блокирующей основные пути действия его действия. Таким образом, выстроенная модель имеет хорошую теоретическую базу и может рассматриваться в качестве кандидата на итоговую модель. Интересно отметить, что данную модель определяют не столько аллельные состояния входящих в неё генов, сколько неаддитивные эффекты их сочетания между собой, что видно на графе Рисунка 9. Видно, что энтропия в данной системе определяется исключительно эпистатическим взаимодействием генов. В целом полученная модель была высоко статистически значимой (p<0,001) и имела хорошую надёжность (Таблица 10). Однако диагностическая эффективность её была невысокой

(65,1), особенно низка была специфичность (60,0%). С точки зрения фармакогенетики это можно интерпретировать как важное генетически обусловленное влияние системы полиглютамации на метаболизм метотрексата, которого, однако, недостаточно для надёжного прогноза риска неответа на терапию. Поэтому в качестве итоговой модели была выбрана более сложная, но также биохимически обусловленная модель.

В итоговую модель были включены две пары полиморфных генов, представляющих разные пути метаболизма метотрексата в клетке – аденозинового и фолатного: «*ATIC* rs2372536 + *MTHFR* rs1801133» и «*ADA* rs244076 + *MTHFR* rs1801131». Как видно из Рисунка 9, внутри этих пар наблюдалась заметная информационная избыточность, что указывает на сопряжённую работу данных генов в биохимически обусловленном неответе на терапию. Здесь также стоит обратиться к биохимическим процессам метаболизма МТ. Ключевые ферменты, катализирующие синтез фолатов MTHFR и ATIC, стоящий у истоков как синтеза пуринов «de novo», так и аденозина, определяют разные механизмы действия МТ. Таким образом, сложное взаимодействие параллельных фармакокинетических процессов МТ определяет эффект препарата.

Таблица 10 – Итоговые модели прогноза неответа на терапию по результатам MDR-анализа, созданных на основе биологической информации ($n_{неответ}$=111, $n_{ответ}$=170)

Модель	Чувствительность, % [95% CI]. Специфичность, % [95% CI]. Диагностическая эффективность	*OR* [95% CI]	*p*	Надёжность модели в кросс-проверке
Модель полиглютамации				
SLC19A1 rs1051266 + *FPGS* rs4451422 + *FPGS* rs1544105 + *GGH* rs3758149	70,3 [61,3; 78,2] 60,0 [52,5; 67,1] 65,1	3,55 [2,13; 5,90]	$\chi^2_{(1)}$=24,65 p<0,001	10 /10
Итоговая модель				
ATIC rs2372536 + *ADA* rs244076 + *MTHFR* rs1801133 + *MTHFR* rs1801131 + *SLC19A1* rs1051266	80,2 [72,0; 86,8] 69,4 [60,4; 77,4] 74,8	9,18 [5,19; 16,22]	$\chi^2_{(1)}$=66,06 p<0,001	10 /10

Таблица 11 - Фрагмент таблицы решающее правило «если, то» для итоговой модели прогноза риска неответа на метотрексат по генетическим показателям: 1 – неответ, 0 – ответ

Если	И	И	И	И	То
SLC19A1 rs1051266	*ADA rs244076*	*ATIC rs2372536*	*MTHFR rs1801131*	*MTHFR rs1801133*	Риск =
GG	TT	CC	CC	CC	1
GG	TT	CC	AA	CC	0
GG	TT	CC	AA	CT	0
GG	TT	CC	AA	TT	0
GG	TT	CC	AC	CC	1
GG	TT	CC	AC	CT	0
GG	TT	GG	CC	CC	1
GG	TT	GG	AA	CC	0

На основании исключительно генетического анализа однозначно сказать, являются ли эти пути конкурирующими антагонистическими или параллельными комплементарными, сложно, что, однако, не мешает построению модели прогноза риска. Пятым членом модели был ген транспортёра *SLC19A1,* который входил как в наиболее сильную двухгенную авто-

матически найденную модель, так и в модель полиглютамации, что подтверждает значимость кодируемого им белка в транспорте МТ.

Таким образом, с использованием техники MDR изучен вклад 12 полиморфизмов 9 генов и их взаимодействий в риск неответа на терапию метотрексатом. Предложена высоко статистически значимая (p<0,001) модель с поддержкой в перекрёстной проверке 10 из 10: «*ATIC* rs2372536 + *MTHFR* rs1801133 + *ADA* rs244076 + *MTHFR* rs1801131 + *SLC19A1* rs1051266». Решающее правило «если, то» данной модели позволяет прогнозировать риск неответа на терапию с чувствительностью 80,2% (95% ДИ 72,0–86,8) и специфичностью 69,4% (95% ДИ 60,4–77,4) (Таблица 11, полные таблицы принятия решений по правилу «если, то» представлены в приложении диссертации).

Моделирование рисков развития побочных действий на терапию метотрексатом

Как и в случае с моделированием неответа на терапию, моделирование развития побочных явлений у больных с РА включало этапы выбора предикторов, построения клинико-генетической и генетической модели. В него вошли 82 пациента с ПД и 212 пациентов, у которых наблюдался или не наблюдался ответ на лечение, но отсутствовали побочные реакции – они составили в данном случае группу сравнения. Для выбора предикторов также использовалась техника «случайного леса», согласно которой был составлен рейтинг предикторов (Рисунок 10) и построена кластерная тепловая карта для «деревьев» с числом предикторов от 2 до 10 (Рисунок 11).

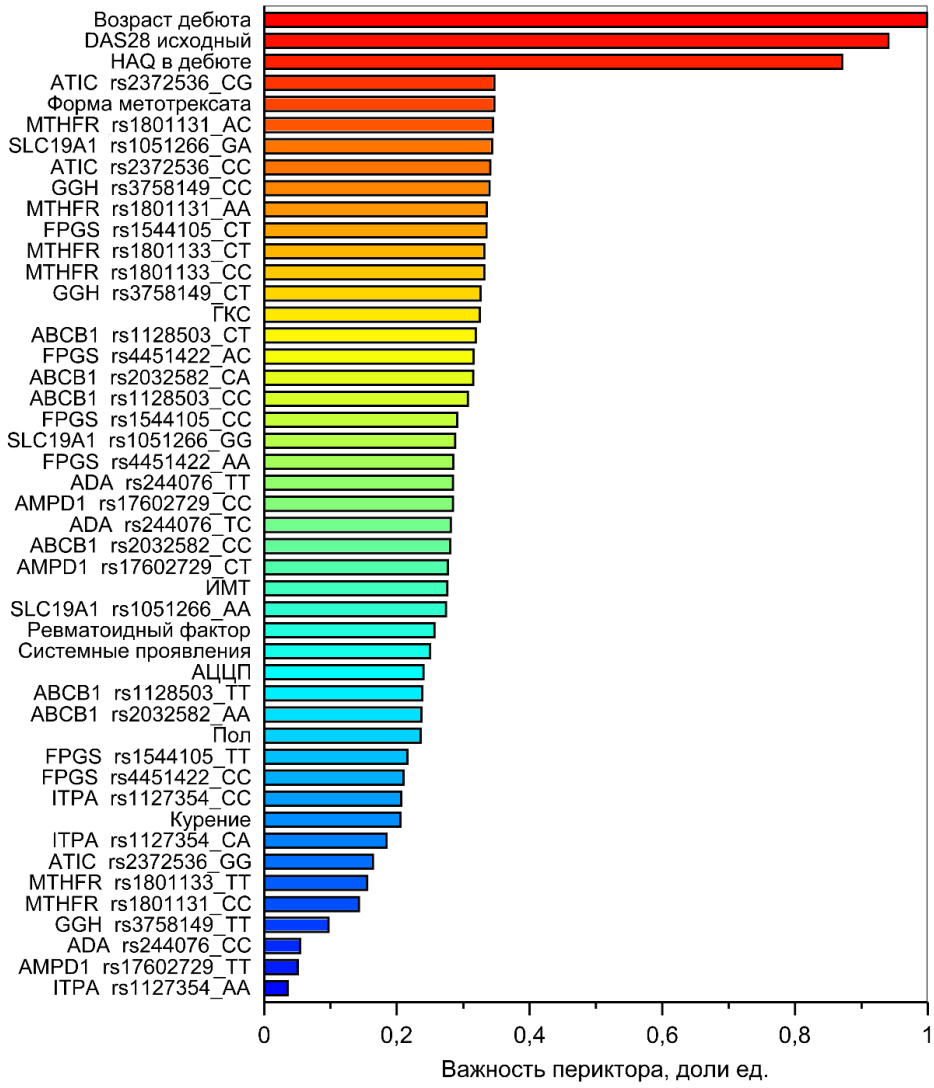


Рисунок 10 – Иерархия предикторов для «дерева классификации» ПД на лечение метотрексатом у больных ревматоидным артритом

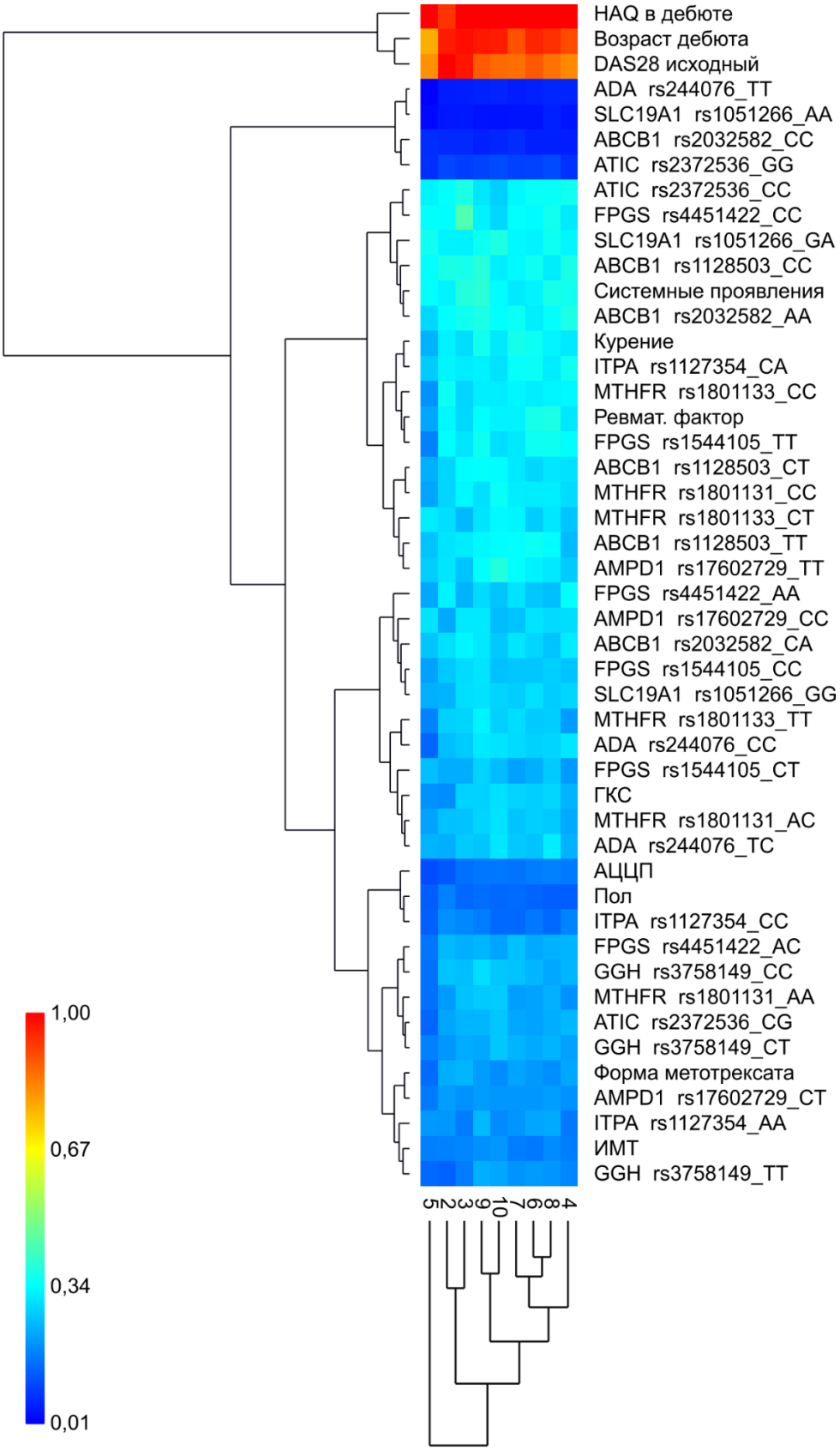


Рисунок 11 – Кластерная тепловая карта важности предикторов в зависимости от их числа в модели

Из представленных рисунков видно, что самыми важными для прогноза ПД оказались в точности те же показатели, что и для прогноза неответа на терапию: HAQ в дебюте, возраст

дебюта и DAS28 исходный. Причём их важность в долях единицы шкалы «случайного леса» более чем в 2 раза превосходила таковую для других показателей (Рисунок 10). Следует отметить, что в обобщённом по 9 анализам (от 2 до 10 предикторов) рейтинге форма МТ занимала 4 место, хотя относительно трёх лидеров рейтинга важность его была небольшой.

Таким образом, на данном этапе были отобраны лучшие показатели для моделирования риска развития ПД на терапию МТ: HAQ и возраст дебюта, DAS28 исходный, инвариантные к числу одновременно включаемых в модель предикторов

Далее с помощью техники множественной логистической регрессии проведено моделирование ПД метотрексата. Результаты представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Параметры и характеристика модели 1 логистической регрессии для прогноза ПД на лечение метотрексатом (*n*=294)

Показатели	Коэффициент регрессии ± стандартная ошибка	*OR* [95% CI]	*p*
DAS28 исходный	0,08680±0,19095	1,09 [0,75; 1,56]	0,649
HAQ в дебюте	0,16324±0,33337	1,17 [0,61; 2,26]	0,624
Возраст дебюта	-0,01051±0,00941	0,99 [0,97; 1,01]	0,264
Константа	–1,1995	–	–
Примечание – Модель полностью: χ2ML = 2,99; df = 3; p = 0,393. Чувствительность: 0,0% [0,0; 3,0]. Специфичность: 100,0% [98,8; 100,0]. Диагностическая эффективность: 50,0. Доля верно классифицированных: 72,1% [67,2; 77,6]. * – ML (maximum likelihood) – максимальное правдоподобие, df (degree of freedom) – степени свободы (для критерия)			

Из Таблицы 12 видно, что, несмотря на использование самых сильных предикторов: исходные показатели индексов HAQ, DAS28 и возраст дебюта, – полученная модель оказалась неработоспособной: она не была статистически значимой (χ^2_{ML}=2,99; *df*=3; *p*=0,393) и не позволила верно классифицировать ни одного пациента с побочными эффектами на лечение, то есть имела нулевую чувствительность. Таким образом, попытка построения клинико-генетической модели для прогноза побочных действий на лечение метотрексатом на основе множественной логистической регрессии оказалась даже менее успешной, чем для прогноза неответа. В связи с этим далее была предпринята попытка построения фармакогенетической модели с использованием техники MDR. На первом этапе анализа были получены 3 лучшие модели, найденные алгоритмом всестороннего поиска. Их характеристики приведены в Таблицы 13.

Таблица 13 –Модели автоматического построения прогноза ПД по результатам MDR-анализа ($n_{\text{ПД}}$ = 82, $n_{\text{группа сравнения}}$=212)

Модель	Чувствительность, % [95% CI]. Специфичность, % [95% CI]. Диагностическая эффективность	*OR* [95% CI]	*p*	Надёжность модели в кросс-проверке
MTHFR rs1801133	52,4 [41,7; 63,0] 55,2 [48,5; 61,8] 53,8	1,36 [0,81; 2,26]	$\chi^2_{(1)}$=1,38 *p*=0,240	6 /10
FPGS rs1544105 + *GGH* rs3758149	72,0 [61,6; 80,8] 44,3 [24,3; 36,6] 58,2	2,04 [1,18; 3,55]	$\chi^2_{(1)}$=6,55 *p*=0,011	3 /10
ABCB1 rs2032582 + *MTHFR* rs1801133 + *FPGS* rs4451422	69,5 [59,0; 78,7] 59,0 [52,3; 65,4] 64,2	3,28 [1,90; 5,64]	$\chi^2_{(1)}$=19,18 *p*<0,001	2 /10

Из представленных данных следует, что ни одна из трёх моделей не может быть использована в диагностических целях: во-первых, все они имели неудовлетворительную под-

держку в перекрёстной проверке, то есть демонстрировали ненадёжность, во-вторых, имели низкую диагностическую эффективность, не превышающую даже 60%, и, в-третьих, наиболее простая модель с полиморфным геном *MTHFR* rs1801133 не была статистически значима. Тем не менее, следует отметить, что 3 из 5 входивших в модели автоматического поиска полиморфизмов относились к системе полиглютамации: *GGH* rs3758149, *FPGS* rs1544105 и rs4451422.

Далее, как и в случае с моделированием риска неответа на терапию, проведен информационный анализ, результаты которого представлены на Рисунке 12. Судя по преобладающим оранжевому и красному цветам в круговом графе энтропии, в данной системе наблюдалось преимущественно неаддитивное эпистатическое взаимодействие генов. Слабая избыточность отмечена только для взаимодействий гена *MTHFR* rs1801133 (рёбра зелёного цвета). Как и в случае моделирования неответа на терапию, вклад рассматриваемых полиморфных генов в риск ПД был мал (от 0,01% для *GGH* rs3758149 до 1,02% для *MTHFR* rs1801133), тогда как вклад взаимодействий генов был существенно выше и доходил до 1,53–1,56%. Такие взаимодействия относились к транспортной системе (*SLC19A1* rs1051266 + *ABCB1* rs2032582) и системе полиглютамации (*GGH* rs3758149 + *FPGS* rs1544105), что также видно по самым коротким «ветвям» на дендрограмме.

Исходя из данных, полученных выше, гены, отвечающие за полиглютамацию, проявились и при моделировании неответа на терапию, однако эта модель существенно уступила итоговой модели, включавшей гены, кодирующие аденозиновый, фолатный пути и внутриклеточный транспорт метотрексата. В данном же случае гены системы полиглютамации проявились во взаимодействиях столь сильно, что должны быть включены в любую прогностическую модель. Следовательно, в неответе на терапию эти эффекты были не самостоятельными, а опосредованными, т.е. у части пациентов неответ на терапию являлся в большей степени результатом развития побочных эффектов.

В целом участие систем транспорта и полиглютамации в развитии побочных эффектов представляется логичным, поскольку препарат либо не поступает в клетку, либо не преобразуется в активные формы, накапливаясь в организме. В этой связи в качестве первой итоговой модели рассмотрено именно 5 полиморфизмов этих систем. Из данных Таблицы 14 видно, что полученная модель имела хорошую чувствительность (79,3%), слабую специфичность (63,2), но была высоко статистически значима и хорошо воспроизводилась в перекрёстной проверке. В приложении текста диссертации приведена таблица принятия решений «если то» по этой модели для отнесения пациента к группе риска развития ПД лечения МТ.

В качестве последней прогностической модели рассмотрена предыдущая, но с добавлением гена *ATIC* rs2372536. Как видно из кругового графа, он образовал достаточно «сильные» рёбра с геном *FPGS*: rs4451422 – 0,86% и rs1544105 – 1,05%, а на дендрограмме входил в 3 пары самых сильных взаимодействий. Из Таблицы 14 видно, что модель из 6 генов обладала хорошей диагностической эффективностью в целом (80,4%) и особенно отличалась высокой чувствительностью, которая составила 91,5%. В приложении текста диссертации приведены решающие правила для этой модели, по которым пациента следует причислить к группе риска побочных действий на лечение МТ.

На Рисунке 12 видно, что из генов транспортной системы ген *SLC19A1* достаточно сильно взаимодействует только с другим геном из этой системы – *ABCB1*. Из генов системы полиглютамации ген *GGH* взаимодействует с обоими вариантами гена *FPGS*, в то время как между последними связи нет. При этом связь между генами обеих систем была не слишком сильной: примерно в два раза слабее связей внутри систем. Следовательно, нельзя исключать, что прогностическая ценность итоговых моделей складывается из двух относительно независимых компонентов: работы генов системы транспорта и генов системы полиглютамации, сочетание аллельных вариантов которых не позволяет части пациентов метаболизировать метотрексат. При этом, поскольку каждый компонент модели позволяет выявить только часть лиц группы риска, по отдельности они не обеспечивают достаточной диагностической эффективности и только их сочетание в одной модели даёт хороший результат.

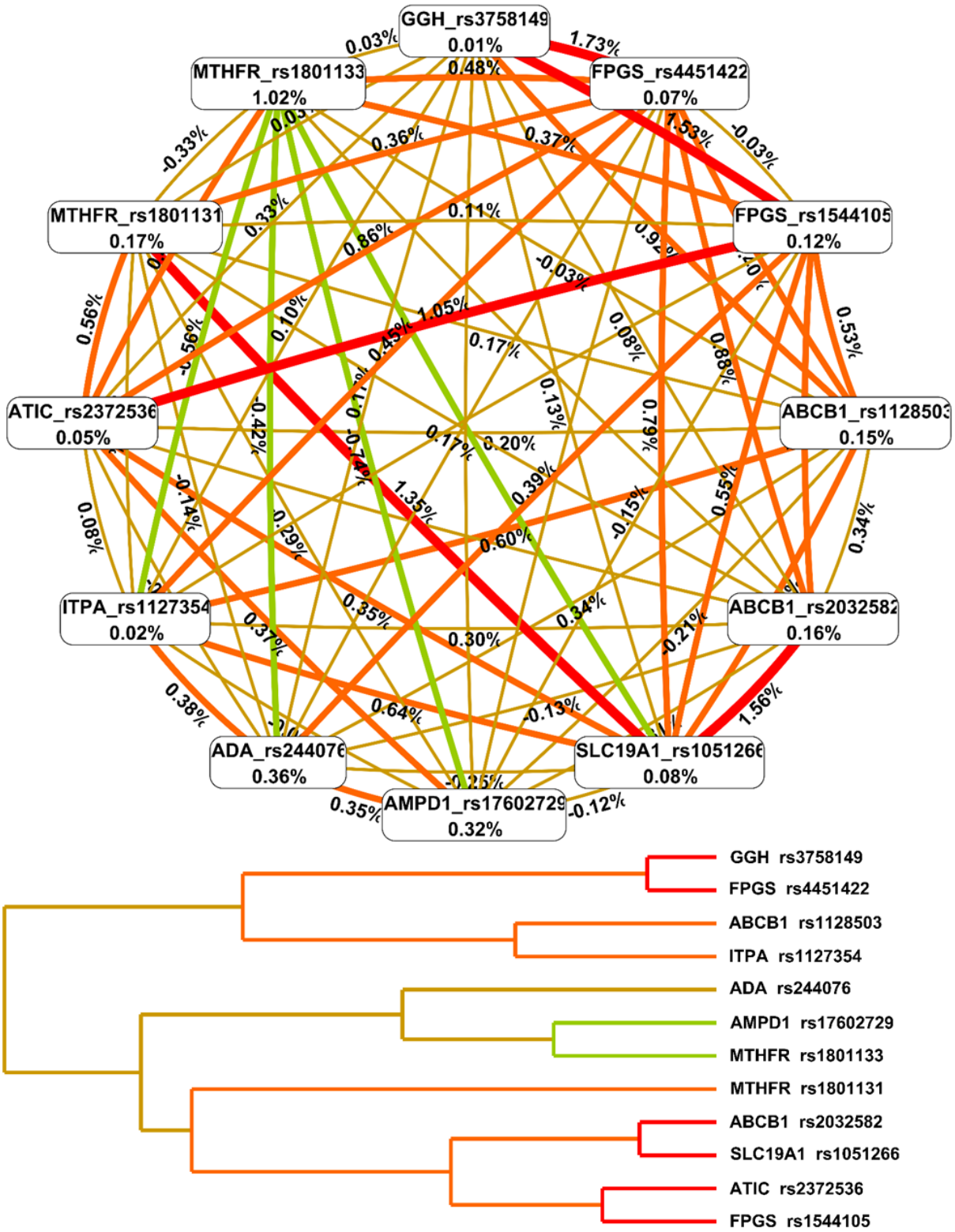


Рисунок 12 – Граф энтропии (сверху) и дендрограмма сходства (снизу) для вклада генов и их взаимодействий в риск ПД на терапию МТ.

Таким образом, с использованием техники MDR изучен вклад 12 аллельных полиморфизмов 9 генов и их взаимодействий в риск развития нежелательных побочных действий на терапию метотрексатом. Наибольшую диагностическую эффективность показали две модели, включающие гены системы транспорта (*SLC19A1* rs1051266 и *ABCB1* rs2032582), полиглютамации (*GGH* rs3758149, *FPGS* rs4451422 и rs1544105). Модели были высоко статистически значимы ($p < 0{,}001$), демонстрировали надёжность 10 из 10 в перекрёстной провер-

ке и имели чувствительность и специфичность соответственно 79,3–91,5% и 63,2–69,3%. Решающее правило «если, то» данных моделей позволяет прогнозировать риск побочных реакций на МТ и причислить пациента к группе ПД (приложения текста диссертации).

Таблица 14 – Итоговые модели прогноза ПД на терапию по результатам MDR-анализа, созданных на основе биологической информации ($n_{ПД}$ = 82, $n_{группа\ сравнения}$=212)

Модель	Чувствительность, % [95% CI]. Специфичность, % [95% CI]. Диагностическая эффективность	*OR* [95% CI]	*p*	Надёжность модели в кросс-проверке
Итоговая модель 1 (транспорт и полиглютамация)				
SLC19A1 rs1051266 + *ABCB1* rs2032582 + *FPGS* rs4451422 + *FPGS* rs1544105 + *GGH* rs3758149	79,3 [69,6; 86,9] 63,2 [56,6; 69,5] 71,2	6,57 [3,60; 12,00]	$\chi^2_{(1)}$=42,70 p<0,001	10 /10
Расширенная итоговая модель				
SLC19A1 rs1051266 + *ABCB1* rs2032582 + *FPGS* rs4451422 + *FPGS* rs1544105 + *GGH* rs3758149 + *ATIC* rs2372536	91,5 [84,0; 96,1] 69,3 [62,9; 75,3] 80,4	24,23 [10,59;55,45]	$\chi^2_{(1)}$=87,64 p<0,001	10 /10

Суммировав результаты оценки клинико-лабораторных и фармакогенетических параметров при различном терапевтическом ответе на МТ, мы получили следующие закономерности:

1) на основании полученных шести предикторов эффективности и только двух предикторов гепатотоксичности, прогнозирование побочных действий по клиническим маркерам сложнее, чем прогнозирование эффективности;

2) развитие побочных реакций на МТ увеличивает вероятность неответа на препарат;

3) ПД лучше прогнозируются по фармакогенетическим, но не по клиническим маркерам;

4) на развитие побочных действий МТ влияет лекарственная форма препарата;

5) по отдельным аллельным полиморфизмам возможно предвидеть неответ (*ATIC* rs2372536 и *MTHFR* rs1801133), в меньшей степени ПД МТ (*MTHFR* rs1801133);

6) нелинейные взаимодействия между отдельными биологическими системами: транспорта, полиглютамации, фолатов, аденозина, – влияют на эффективность и переносимость МТ;

7) в основе терапевтического и токсического действия МТ лежат разные фармакологические механизмы: а) ответ на МТ зависит от неаддитивного взаимодействия полиморфизмов, кодирующих внутриклеточный транспорт, аденозиновый и фолатный механизмы действия препарата; б) побочные реакции на МТ определяются взаимодействием полиморфизмов, кодирующих системы транспорта и полиглютамации.

На основании клинико-лабораторных маркеров и однонуклеотидных полиморфизмов генов, участвующих в метаболизме метотрексата, удалось выявить закономерности, позволяющие прогнозировать резистентность к фармпрепарату и метотрексат-индуцированные побочные действия у пациентов с ревматоидным артритом.

Алгоритмы для принятия решений о назначении метотрексата пациентам с ревматоидным артритом

Установленные закономерности и сформулированные выводы (см. соответствующий раздел) позволяют построить алгоритмы принятия решения о назначении МТ, доступные для

использования в реальной клинической практике, основанные на совокупности маркеров. Алгоритмы были определены как клинический и два фармакогенетических:

I – клинических показателей – «клинический»; Рисунок 13

II – двух аллельных полиморфизмов генов – «фармакогенетический 1» (простой); Рисунок 14

III – полиморфизмов, кодирующих фармакокинетические и фармакодинамические пути преобразования МТ, – «фармакогенетический 2» (сложный); Рисунок 15

I. Клинический алгоритм

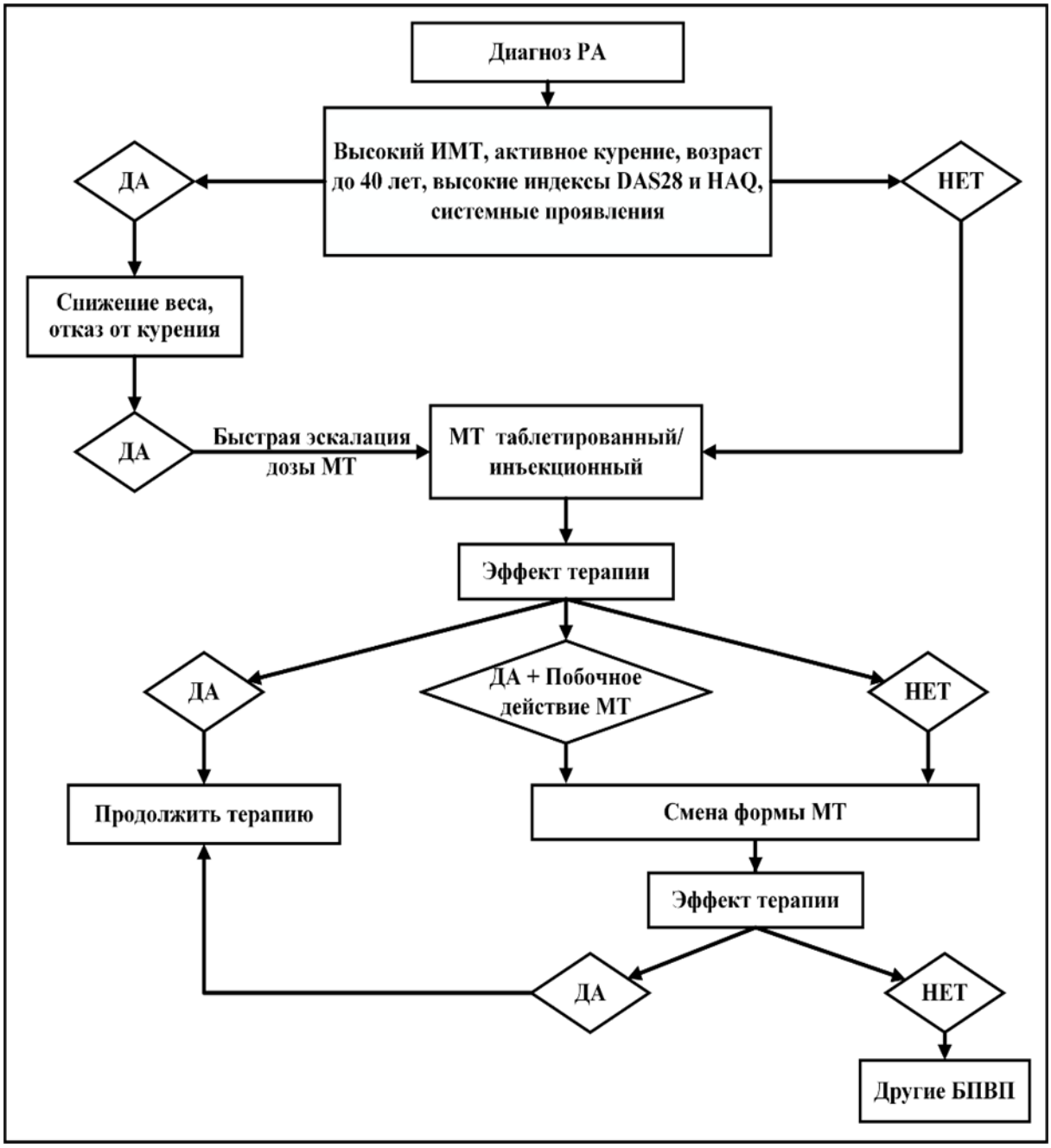


Рисунок 13 – Клинический алгоритм для принятия решений о назначении метотрексата пациентам с РА

Клинический алгоритм обладает наименьшей прогностической ценностью, но позволяет избежать выполнения целого ряда лабораторных исследований. Может быть использован в качестве скрининга для разделения пациентов на подгруппы: «ответ» и «неответ» на МТ, «побочные действия» и «отсутствие побочных действий».

II. Фармакогенетический 1 алгоритм

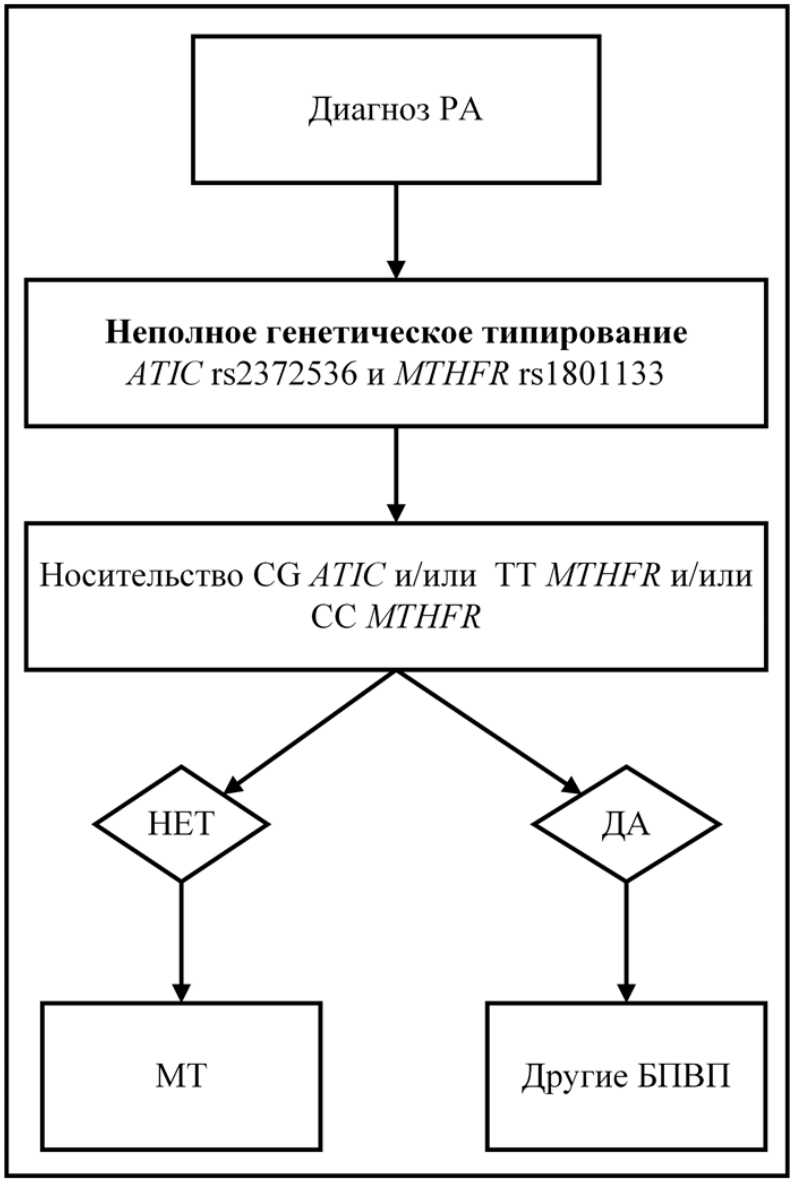


Рисунок 14– Фармакогенетический 1 алгоритм для принятия решений о назначении метотрексата пациентам с РА

Простой фармакогенетический-1 алгоритм обладает лучшей прогностической ценностью, чем клинический. Включает основные аллельные полиморфизмы генов эффективности и ПД метотрексата. Требует минимального лабораторного набора фармакогенетических параметров и финансовых затрат на них.

III. Сложный фармакогенетический-2 алгоритм

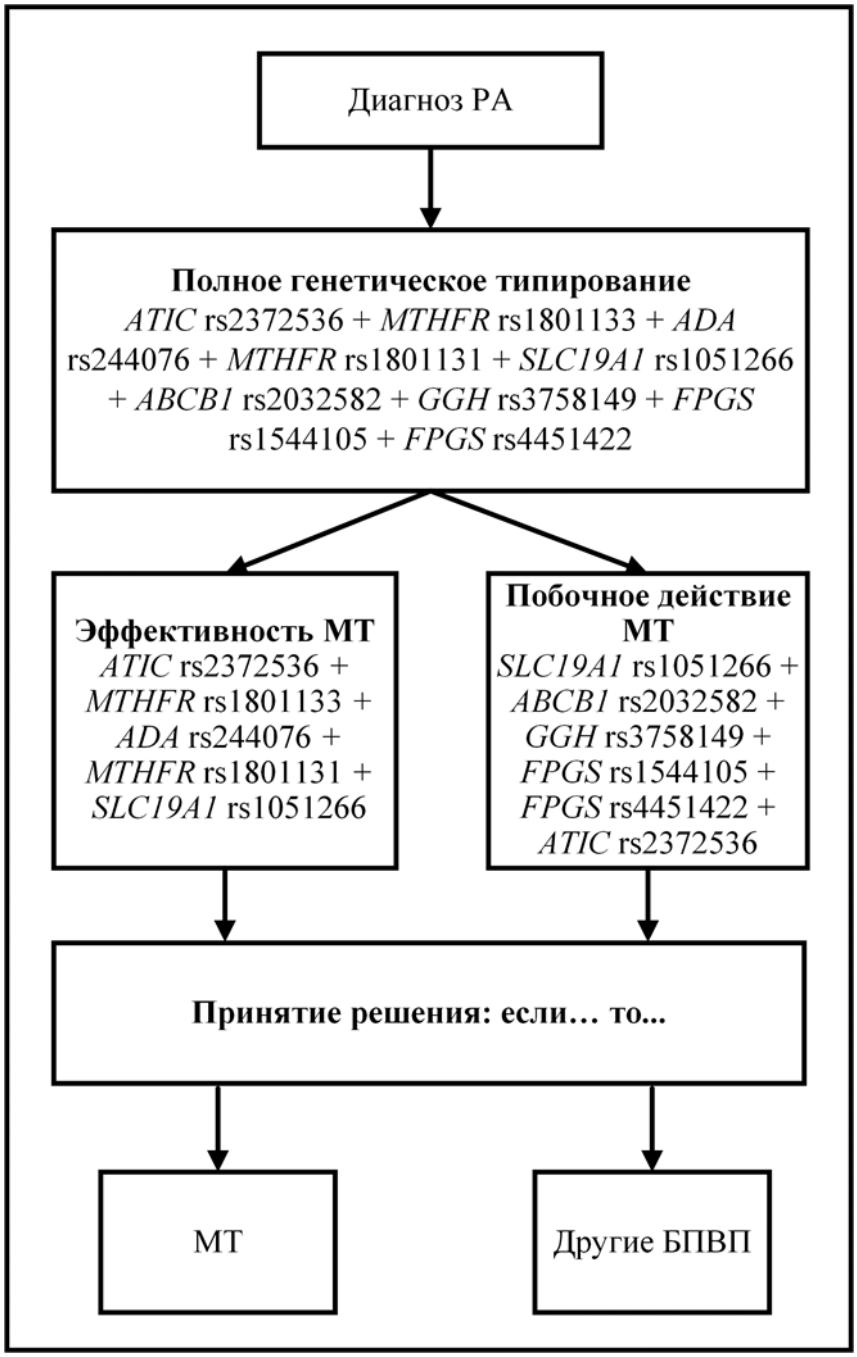


Рисунок 15 – Сложный фармакогенетический-2 алгоритм для принятия решений о назначении метотрексата пациентам с РА

Сложный фармакогенетический-2 алгоритм наиболее полный. Обладает наилучшей диагностической эффективностью из трех алгоритмов. Недостатком является высокая стоимость фармакогенетических анализов и часто недоступность их проведения в большинстве регионов.

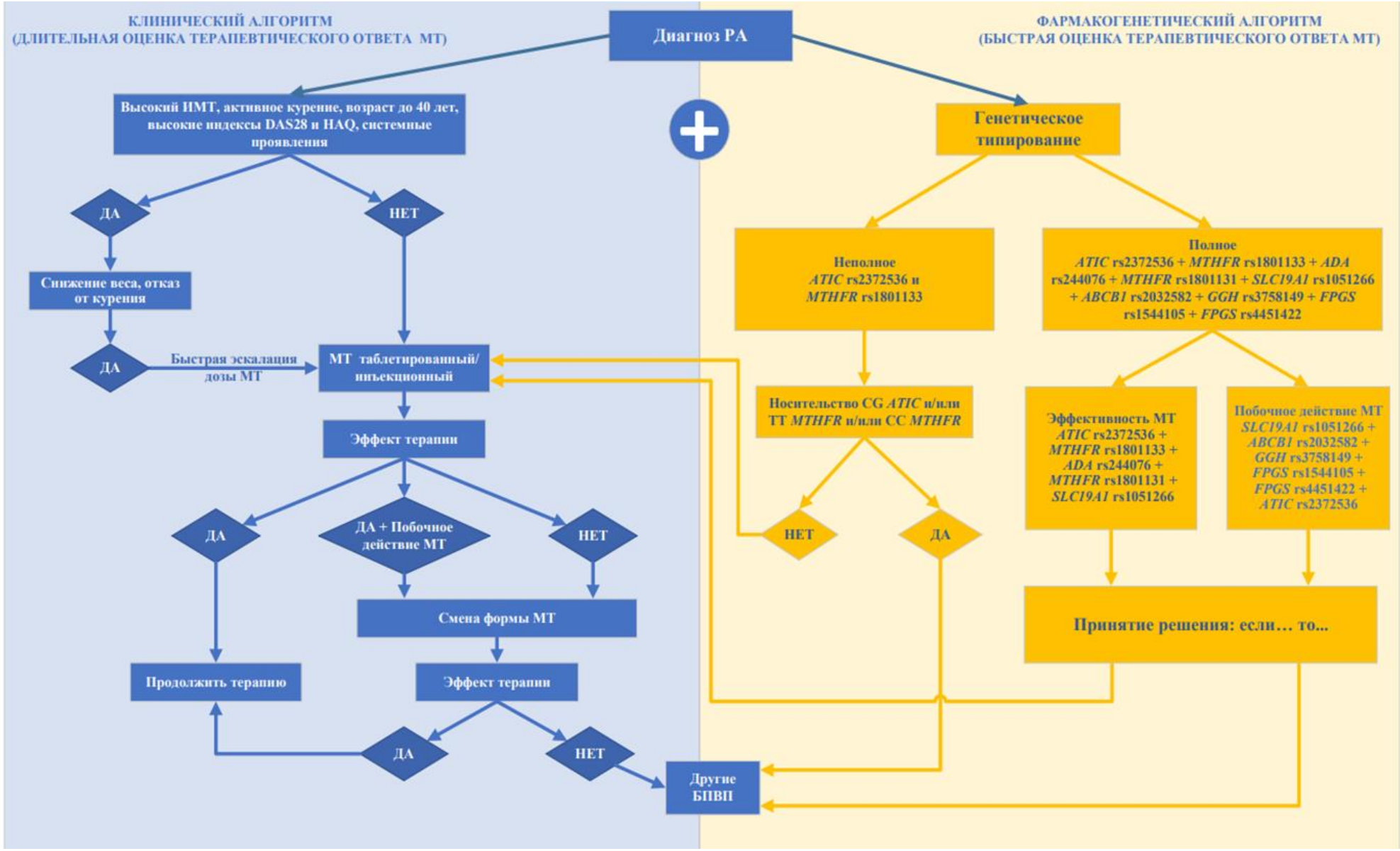


Рисунок 16 – Итоговый клинико-фармакогенетический алгоритм для индивидуализации терапии метотрексатом пациентов с ревматоидным артритом

Путем объединения клинического и фармакогенетических алгоритмов был создан общий клинико-фармакогенетический алгоритм, на основании которого, в зависимости от лабораторных возможностей медицинского учреждения, может быть принято решение об инициации терапии метотрексатом при ревматоидном артрите (рис. 16). Кроме этого, использование данного алгоритма может быть актуально и при планировании терапии при недифференцированных артритах.

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что разработанные клинико-лабораторные и фармакогенетические предикторы позволяют оптимизировать терапию метотрексатом у больных ревматоидным артритом до начала ее инициации. Использованный методический подход проведенного исследования с последовательной статистической обработкой клинико-лабораторных и фармакогенетических показателей от простых методов к сложным многокомпонентным анализам – главных компонент, логистической регрессии, снижения многофакторной размерности, может быть использован для подобных изысканий как при оценке терапевтического ответа на метотрексат при других артритах (например, недифференцированном и спондилоартритах), так и для моделирования прогноза неответа и ПД других лекарственных препаратов.

Подводя итог, можно констатировать, что впервые в отечественной ревматологической науке удалось создать новый подход для прогнозирования терапевтического ответа на лекарственный препарат. Выходом в практическую ревматологию служит разработанный алгоритм персонификации лечения ревматоидного артрита. Для оценки воспроизводимости алгоритма необходимо его более широкое внедрение в клиническую практику, в первую очередь, в российской популяции, что открывает горизонты для дальнейших клинико-фармакогенетических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Клиническим предиктором эффективности применения метотрексата в лечении ревматоидного артрита служит средний возраст пациента (от 40 до 60 лет); предикторами неэффективного лечения являются: возраст пациента до 40 лет, курение табака, ожирение, высокие показатели индексов активности заболевания (DAS28) и функционального нарушения жизнедеятельности (HAQ) в дебюте заболевания и наличие системных проявлений. При этом клиническая эффективность метотрексата не зависит от пола пациента, числа пораженных суставов и наличия иммунологических маркеров (ревматоидного фактора и антител к циклическому цитруллинированному пептиду).

2. Побочные действия со стороны печени, желудочно-кишечного тракта и системы крови, осложняющие применение метотрексата при ревматоидном артрите, не связаны с половой принадлежностью пациента, возрастом дебюта заболевания, курением, ожирением, наличием системных проявлений и иммунологических маркеров (ревматоидного фактора и антител к циклическому цитруллинированному пептиду), активностью заболевания, функциональными нарушениями и дозой метотрексата. При этом применение глюкокортикостероидов в комплексной терапии ревматоидного артрита и инъекционная форма метотрексата являются предикторами цитолитического поражения печени на фоне базисного лечения метотрексатом. Наличие отмеченных побочных действий метотрексата определяет его неэффективность в базисной терапии ревматоидного артрита. Побочные действия метотрексата по клиническим маркерам прогнозируются хуже, чем эффективность.

3. Фармакогенетические маркеры терапевтического ответа превосходят клинические по своей предикторной информативности. Наиболее информативными самостоятельными предикторами отклика на терапию метотрексатом при ревматоидном артрите являются: *MTHFR* C677T (rs1801133), *ATIC* C347G (rs2372536) и *ADA* T534C (rs244076). Эффективность метотрексата выше у носителей генотипа CC полиморфизма *ATIC* (rs2372536) и генотипа CT полиморфизма *MTHFR* (rs1801133). Низкий ответ на метотрексат ожидаем у носителей генотипа CG полиморфизма *ATIC* (rs2372536), генотипа CC полиморфизма *MTHFR*

(rs1801133) и генотипа TC полиморфизма *ADA* (rs244076). Самостоятельный вклад в эффективность метотрексата не вносят следующие аллельные полиморфизмы: *SLC19A1* G80A (rs1051266), *ABCB1* C1236T (1128503) и A2677C (rs2032582), *GGH* C-401T (rs3758149), *FPGS* A>C (rs4451422) и C105T (rs1544105), *MTHFR* A1298C (rs1801131), *AMPD1* C34T (rs17602729), *ITPA* C94A (rs1127354).

4. Фармакогенетическим самостоятельным предиктором побочных действий метотрексата при ревматоидном артрите является: генотип TT полиморфизма *MTHFR* C677T (rs1801133). Самостоятельный вклад в развитие побочных действий метотрексата не определяют следующие аллельные полиморфизмы: *SLC19A1* G80A (rs1051266), *ABCB1* C1236T (rs1128503) и A2677C (rs2032582), *FPGS* A>C (rs4451422) и C105T (rs1544105), *GGH* C-401T (rs3758149), *MTHFR* A1298C (rs1801131), *ATIC* C347G (rs2372536), *AMPD1* C34T (rs17602729), *ITPA* C94A (rs1127354), ADA T534C (rs244076). Аллельные полиморфизмы *MTHFR* rs1801133 и *ATIC* rs2372536, наряду с клиническими маркерами, могут использоваться в качестве дополнительного скрининга для прогнозирования терапевтического отклика на метотрексат при планировании базисной противовоспалительной терапии.

5. Предикторная информативность совокупности фармакогенетических маркеров эффективности и профиля переносимости базисной терапии метотрексатом у больных ревматоидным артритом превосходит самостоятельный потенциал аллельных полиморфизмов. Диагностическая эффективность моделей, выстроенных на основе биологической информации, выше, чем автоматический поиск. Значимая клиническая модель эффективности метотрексата, включающая возраст начала ревматоидного артрита, индексы активности заболевания DAS28 и функционального нарушения жизнедеятельности HAQ в дебюте заболевания, обладает наиболее высокой специфичностью из всех найденных моделей – 80,6%, но наименьшей чувствительностью – 60,4%, что не позволяет рекомендовать ее для использования. Прогнозировать эффективность терапии метотрексатом со специфичностью 68,2% и чувствительностью 80,2% можно с помощью высоко значимой фармакогенетической модели, включающий аллельные полиморфизмы «*ATIC* rs2372536 + *MTHFR* rs1801133 + *ADA* rs244076 + *MTHFR* rs1801131 + *SLC19A1* rs1051266». С целью прогнозирования побочных действий в период планирования базисной терапии метотрексатом наиболее целесообразно использование фармакогенетической модели, обладающей специфичностью 69,3% и чувствительностью 91,5% на основе аллельных полиморфизмов «*SLC19A1* rs1051266 + *ABCB1* rs2032582 + *GGH* rs3758149 + *FPGS* rs1544105 + *FPGS* rs4451422 + *ATIC* rs2372536». В клинической практике для прогнозирования терапевтического ответа на метотрексат разработанные модели использовать в решающем правиле «если, то…».

6. Моделирование терапевтического ответа позволяет оценить вклад разных систем метаболизма метотрексата в развитие эффективности и побочных действий фармпрепарата. Внутриклеточный транспорт, фолатный и аденозиновый пути, синтез пуринов «de novo» обеспечивают клинический ответ на метотрексат, а нарушения внутри- и внеклеточного транспорта, процессов полиглютамации и деглютамации метотрексата обуславливают–побочные действия.

7. Разработаны клинический и клинико-фармакогенетические алгоритмы для оптимизации фармакотерапии метотрексатом и персонифицированного принятия решения о назначении базисного противовоспалительного препарата при ревматоидном артрите, которые могут быть использованы в клинической практике.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Перед планированием терапии ревматоидного артрита метотрексатом необходимо оценить возраст пациента, статус курения, индекс массы тела, степень активности и функциональные нарушения, системные проявления заболевания. Курящим пациентам и с ожирением рекомендовать отказ от курения и снижение веса, как потенциальных факторов неэффективности лечения. Пациентам до 40 лет, с высокими индексами активности и функциональных нарушений, а также системными проявлениями заболевания, рекомендовать более тща-

тельное динамическое наблюдение для оценки эффективности терапии, быструю эскалацию дозы метотрексата. Врач и пациент должны быть готовы к неэффективности терапии и переключению на другие базисные противовоспалительные препараты. При лечении пациентов с дебютом ревматоидного артрита в возрасте 40–60 лет ожидать ответ на метотрексат.

2. Мониторинг побочных действий метотрексата проводить в процессе динамического наблюдения в соответствии с клиническими рекомендациями: контроль общего анализа крови, печеночных ферментов с оценкой субъективных ощущений переносимости фармпрепарата. В случае развития побочных действий перевести на другую форму метотрексата с последующим анализом переносимости. В некоторых случаях это позволит продолжить терапию метотрексатом.

3. Не следует предполагать терапевтический ответ на метотрексат по иммунологическим показателям (ревматоидному фактору и антителам к циклическому цитруллинированному пептиду).

4. Пациенты, у которых развились побочные действия метотрексата, должны тщательно наблюдаться как для их нивелирования, так и для оценки эффекта терапии, т.к. риск неответа в 2 раза выше при их возникновении.

3. Минимальный набор генотипирования полиморфизмов *ATIC* rs2372536 и *MTHFR* rs1801133 может быть рекомендован после установления диагноза ревматоидный артрит и использован для прогноза в большей степени эффективности, чем побочных действий метотрексата. Носителям генотипов CG rs2372536 гена *ATIC* и/или CC rs1801133 гена *MTHFR* рассмотреть назначение другие синтетических базисных противовоспалительных препаратов.

6. Для предопределения риск неответа на метотрексат типировать набор полиморфизмов генов, кодирующих разные биологические системы, участвующие в метаболизме метотрексата: внутриклеточного транспорта, фолатный и аденозиновый *ATIC* rs2372536 + *MTHFR* rs1801133 + *ADA* rs244076 + *MTHFR* rs1801131 + *SLC19A1* rs1051266. Для принятия решения пользоваться таблицей прогноза неответа по правилу «если, то…».

7. Для предопределения побочных действий на метотрексат типировать набор полиморфизмов генов, кодирующих разные биологические системы, участвующие в метаболизме метотрексата: транспорта, полиглютамации/деглютамации и аденозиновый *SLC19A1* rs1051266 + *ABCB1* rs2032582 + *GGH* rs3758149 + *FPGS* rs1544105 + *FPGS* rs4451422 + *ATIC* rs2372536. Для принятия решения пользоваться таблицей прогноза побочных действий по правилу «если, то…».

8. При реализации полного фармакогенетического типирования в сочетании с анализом клинических маркеров на практике удастся сохранить социальный статус пациента и снизить экономические затраты на лечение.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинико-лабораторные маркеры эффективности метотрексата при ревматоидном артрите / Ходус Е.А., Девальд И.В., Мысливцова К.Ю., Игнатова Г.Л. // Непрерывное медицинское образование и наука. - 2024. -Т. 19, №2. – С.10-17.
2. Влияние полиморфизмов генов *ATIC, ADA, ITPA, AMPD1* на эффективность метотрексата при ревматоидном артрите / Девальд И.В., Ходус Е.А., Мысливцова К.Ю., Хромова Е.Б., Игнатова Г.Л., Лила А.М., Сташкевич Д.С. // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2024. - №1. -С. 4-13. https://doi.org/10.37489/2588-0527-2024-1-4-13.
3. Однонуклеотидный полиморфизм остеопротегерина как возможный биомаркер ревматоидного артрита в башкирской популяции Челябинской области / Ю. В. Чумачева, Д. С. Сташкевич, И. В. Девальд, Т. А. Суслова // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 521-526. – DOI 10.46235/1028-7221-13964-SNP.
4. Оценка влияния полиморфизмов генов-транспортеров (*RFC1, MDR1*) и *GGH* на эффек-

тивность метотрексата при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Д. Ю. Нохрин [и др.] // Современная ревматология. – 2023. – Т. 17, № 4. – С. 28-34. – DOI 10.14412/1996-7012-2023-4-28-34.
5. Поиск предикторов токсичности метотрексата при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, К. Ю. Мысливцова, Е. А. Ходус, Г. Л. Игнатова // Клиницист. – 2023. - № 17(3). – С. 22-30. - DOI 10.17650/1818-8338-2023-17-3-K691
6. Гаплотипы TNFA-HLA II класса как прогностические маркеры ревматоидного артрита / Д. С. Сташкевич, Е. Б. Хромова, И. В. Девальд [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 1. – С. 61. – DOI 10.17513/spno.31426.
7. Генетический полиморфизм толл-подобного рецептора 6 при ревматоидном артрите / М. А. Цуканова, Р. В. Попов, А. В. Евдокимов [и др.] // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. – 2022. – № 4(20). – С. 12-16. – DOI 10.24411/2409-4102-2022-10402.
8. Ассоциация полиморфизмов генов-транспортеров RFC-1 и MDR1 с терапевтическим ответом на метотрексат у больных ревматоидным артритом / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Е. Б. Хромова [и др.] // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. – 2022. – № 3(19). – С. 5-14. – DOI 10.24411/2409-4102-2022-10301.
9. Гаплотипы TNFA-HLA DQA1; TNFA-HLA DQB1 при ревматоидном артрите / Д. С. Сташкевич, Е. Б. Хромова, И. В. Девальд [и др.] // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2022. – № 1. – С. 95-104.
10. Мультифакторное влияние полиморфизмов генов фолатного цикла на эффективность и токсичность метотрексата при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, К. Ю. Мысливцова, Г. Л. Игнатова // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2022. – № 4. – С. 46-55.
11. Haplotype frequencies and linkage disequilibrium SNPS in TNFA of Russian patients with rheumatoid arthritis living in Chelyabinsk region of Russian South Urals / D. Stashkevich, E. Khromova, I. Devald [et al.] // HLA. – 2022. – Vol. 99, No. 5. – P. 537-538. – DOI 10.1111/tan.14606.
12. Расширенные гаплотипы на основе редких однонуклеотидных полиморфизмов TNFA и HLA DRB1 в ассоциации с ревматоидным артритом / Д. С. Сташкевич, Е. Б. Хромова, И. В. Девальд [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2021. – Т. 24, № 4. – С. 555-562. – DOI 10.46235/1028-7221-1053-EHB.
13. Haplotype frequencies and linkage disequilibrium HLA-DRB1- TNFA-238 of Russian patients with rheumatoid arthritis living in the Chelyabinsk region of Russian South URALS / D. S. Stashkevich, E. B. Khromova, I. V. Devald [et al.] // HLA. – 2021. – Vol. 97, No. 4. – P. 323. – DOI 10.1111/tan.14227.
14. Полиморфизмы гена гамма-глутамилгидролазы - еще одна из возможностей предположить ответ на метотрексат при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Е. Б. Хромова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23, № 3. – С. 335-340. – DOI 10.46235/1028-7221-333-GHG.
15. Полиморфизмы генов метаболизма метотрексата - как предикторы его гепатотоксичности при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, К. Ю. Мысливцова [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – № 6(178). – С. 106-111. – DOI 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-106-111.
16. Полиморфизм гена интерлейкина 17A у больных ревматоидным артритом / Д. С. Сташкевич, И. В. Девальд, Е. Б. Хромова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23, № 3. – С. 285-290. – DOI 10.46235/1028-7221-382-IGP.
17. Аллельные полиморфизмы гена тимидилатсинтазы и их гаплотипы как предикторы ответа на метотрексат у больных ревматоидным артритом / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Е. Б. Хромова [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2019. – Т. 57, № 2. – С. 149-153. – DOI 10.14412/1995-4484-2019-149-153.
18. Полиморфизм RFC-1 80G>a как возможный предиктор ответа на терапию метотрексатом

у больных ревматоидным артритом. Пилотный проект / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Е. Б. Хромова, А. Л. Бурмистрова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т. 14, № 3. – С. 236-243. – DOI 10.22138/2500-0918-2017-14-3-236-243.
19. Полиморфизм гена RFC-1 80A>G в прогнозировании эффективности терапии метотрексатом у пациентов с ревматоидным артритом / Е. А. Ходус, Е. Б. Хромова, И. В. Девальд, Т. А. Суслова // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, № S. – С. 148.
20. Полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы в прогнозировании эффективности терапии артритов аутоиммунной этиологии / Е. Б. Хромова, Е. А. Ходус, И. В. Девальд, Т. А. Суслова // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8, № 3(17). – С. 619-621.
21. HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals) / T. A. Suslova, A. L. Burmistrova, M. S. Chernova [et al.] // International Journal of Immunogenetics. – 2012. – Vol. 39, No. 5. – P. 394-408. – DOI 10.1111/j.1744-313X.2012.01117.x.
22. Анализ двухлокусных гаплотипов HLA и TNFA у больных ревматоидным артритом башкирской популяции / Д. С. Сташкевич, И. В. Девальд // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 2-2(35). – С. 116-117.
23. Ассоциация межгенной комбинации генотипов IL-1b и IL-4 с предрасположенностью / устойчивостью к ревматоидному артриту / А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Т. А. Суслова, И. В. Девальд // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 372.
24. Полиморфизм гена фактора некроза опухолей альфа в точке -1031 у больных ревматоидным артритом русской и башкирской популяций / А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Т. А. Суслова [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 219.
25. Генетическая предрасположенность к ревматоидному артриту: роль генов и гаплотипов HLA класса II / Т. А. Суслова, А. Л. Бурмистрова, Е. Б. Хромова [и др.] // Иммунология. – 2008. – Т. 29, № 3. – С. 137-140.
26. Влияние гена HLA DRB1*04 на возникновение и течение ревматоидного артрита / И. В. Девальд, Е. А. Ходус, Т. А. Суслова, А. Л. Бурмистрова // Вестник Челябинского государственного университета. – 2008. – № 4. – С. 21-23.
27. Анализ ассоциации полиморфизмов генов IL-1β, IL-1RA, IL-4 с возрастом начала ревматоидного артрита у пациентов русской этнической группы Челябинской области / А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Т. А. Суслова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2007. – Т. 9, № 2-3. – С. 206-207.
28. Молекулярно-генетический анализ полиморфизмов генов цитокинов -интерлейкина-1β, рецептора антагониста интерлейкина-1 и интерлейкина-4 у больных ревматоидным артритом башкирской этнической группы, проживающих в Челябинской области / А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Т. А. Суслова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2007. – Т. 9, № 6. – С. 631-634.
29. Ассоциация полиморфизмов генов цитокинов ИЛ-1Ра, ИЛ-4, ИЛ-10 с возрастом атаки ревматоидного артрита у башкир Челябинской области / Т. А. Суслова, Е. Б. Хромова, Д. С. Сташкевич [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 192.
30. Распределение аллельных вариантов гена HLA DRB1*04 у больных ревматоидным артритом русской национальности, проживающих в Челябинской области / А. Л. Бурмистрова, Е. Б. Хромова, Т. А. Суслова [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 3-1(13). – С. 278-280.
31. Иммуногенетический анализ башкирской этнической группы Южно-Уральского региона и ассоциация генов HLA I и II классов с ревматоидным артритом у башкир / А. Л. Бурмистрова, И. В. Девальд, В. А. Черешнев [и др.] // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 2. – С. 68-71.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланиновая трансаминаза

АСТ – аспарагиновая трансаминаза
АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду
БПВП – базисные противовоспалительные препараты, сБПВП – синтетические БПВП
ГИБП – генно-инженерные биологические препараты
ГК - главная компонента
ГКС – глюкокортикостероиды
ДИ – доверительный интервал
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИМТ – индекс массы тела
ПД – побочное действие
РА – ревматоидный артрит
РФ – ревматоидный фактор
A – аденин
ACR (American College of Rheumatology) – Американская коллегия ревматологов
C – цитозин
DAS28 (Disease Activity Score) – индекс активности, основанный на исследовании болезненности и припухлости 28 суставов
dbSNP (Single Nucleotide Polymorphism Database) – база данных однонуклеотидных полиморфизмов
df (degree of freedom) – степени свободы
EULAR (European League Against Rheumatism) – Европейская антиревматическая лига
G – гуанин
HAQ (Health Assessment Questionnaire) – функциональный индекс нарушения жизнедеятельности
MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) – снижение многофакторной размерности (не путать с геном *MDR1*)
ML (maximum likelihood) – максимальное правдоподобие
NLPCA (Nonlinear Principal Component Analysis) – нелинейный анализ главных компонент
OR – (odds ratio) отношение шансов
PCA (Principal component analysis) – анализ главных компонент
ROC-анализ (receiver operating characteristic) – рабочая характеристика приемника
rs – стандартное имя однонуклеотидного полиморфизма, получившее ссылочный идентификатор s np от dbSNP (база данных SNP)
SNP (Single Nucleotide Polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм
T – тимин
Белки и одноименные *гены* (пишутся курсивом), участвующие в метаболизме метотрексата:
ABCB1 (ATP-binding cassette member B1) – АТФ-связывающая кассета B1
ADA (adenosine deaminase) – аденозиндеаминаза
AICAR (aminoimidazole carboxamide ribonucleotide) – аминоимидазол карбоксамид рибонуклеотид
AMPD (adenosine monophosphate deaminase) – аденозинмонофосфат деаминаза
ATIC (aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase) – аминоимидазол карбоксамид рибонуклеотид трансформилаза
DHFR (dihydrofolate reductase) – дегидрофолатредуктаза
FPGS (folylpolyglutamate synthase) – фолилполиглютаматсинтаза
GGH (gamma-glutamyl hydrolase) – гаммаглютамилгидролаза
ITPA (inosine triphosphatase) – инозинтрифосфатаза
MDR1 (multidrug resistance) – белок множественной лекарственной устойчивости
MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) – метилентетрагидрофолатредуктаза
RFC (reduced folate carrier) – редуцированный носитель фолатов
SLC (solute carrier family) – семейство транспортеров растворенных веществ

На правах рукописи

Девальд Инесса Валерьевна

РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ: СТРАТЕГИЯ ПЕРСОНИФИКАЦИИ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ МЕТОТРЕКСАТОМ НА ОСНОВАНИИ КЛИНИКО-ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Специальность 3.1.27. - Ревматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва

2025

Подписано в печать

Формат Усл. Печ.л.

Бумага офсетная. Гарнитура

Печать лазерная. Тираж экз. Заказ №

Отпечатано в