

**Асоскова Анастасия Валерьевна**

**Прогнозирование безопасности терапии метотрексатом  
у больных псориазом на основе фармакогенетического тестирования**

**3.1.23. Дерматовенерология**

**3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки)**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Москва – 2023**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководители:**

**Кубанов Алексей Алексеевич**

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

**Сычев Дмитрий Алексеевич**

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

**Официальные оппоненты:**

**Заславский Денис Владимирович**

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры дерматовенерологи Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Зырянов Сергей Кенсаринovich**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_ часов на заседании Диссертационного совета Д 21.1.007.01 при ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России по адресу: 107076, г. Москва, ул. Короленко, дом 3, стр. 6

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России по адресу: 107076, г. Москва, ул. Короленко, дом 3, стр. 6 и на сайте: <http://www.cnikvi.ru/>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

Карамова Арфеня Эдуардовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы диссертации

Псориаз относится к числу наиболее распространенных заболеваний кожи. Согласно данным эпидемиологических исследований, распространенность псориаза в мире колеблется от 0,09 до 11,43%. По данным официальной государственной статистики в Российской Федерации распространенность псориаза в 2018 году составила 242,4 заболевания на 100 тысяч населения; заболеваемость – 66,5 на 100 тысяч населения [Кубанов А.А. и др., 2020].

Метотрексат (4-дезоксиглютаминовая кислота) зарекомендовал себя как высокоэффективное лекарственное средство, однако, у многих пациентов на фоне лечения возникают нежелательные лекарственные реакции (НЛР), в некоторых случаях приводящие к необходимости отмены препарата [Чикин В.В. и др., 2014]. Несмотря на высокую эффективность препарата, именно токсическое действие метотрексата у большинства пациентов является основным фактором, ограничивающим его применение [Grželj, J. et al., 2021]. Как правило, нежелательные лекарственные реакции метотрексата не представляют серьезной угрозы здоровью пациентов, и снижение дозы метотрексата приводит к их устранению, однако, в некоторых случаях тяжелые проявления токсического действия препарата возникают непредсказуемо [West J. et al., 2016]. Эти факты объясняют необходимость тщательного мониторинга состояния пациента и выявления потенциальных факторов риска токсичности препарата со стороны разных органов и функциональных систем. Таким образом, прогнозирование риска метотрексат-индуцированной токсичности является актуальной задачей.

### Степень разработанности темы диссертации

В настоящее время не существует алгоритма, способного прогнозировать возникновение токсического действия метотрексата. На безопасность терапии метотрексатом могут влиять комплаентность пациента, возраст, пол, индекс массы тела, этническая принадлежность пациента, степень тяжести псориаза, получаемая доза препарата, наличие сопутствующих заболеваний, употребление алкоголя, курение, а также межлекарственные взаимодействия [Romão V. et al., 2014]. Однако в последнее время большое внимание уделяется роли генетических факторов в индивидуальной переносимости терапии псориаза, которые могут определять около половины «неблагоприятных» ответов на терапию [Redenšek, S. et al., 2017; Ray-Jones H. et al., 2016; Sutherland A. et al., 2016; Сычѐв Д.А. и соавт., 2011].

Согласно данным современных фармакогенетических исследований, среди факторов, влияющих на безопасность метотрексата, большая роль отводится однонуклеотидным полиморфизмам в генах, определяющих индивидуальные особенности фармакокинетики

препарата [Warren R. et al., 2008; Redenšek, S. et al., 2017]. На фармакокинетику метотрексата оказывают влияние полиморфизмы генов, кодирующих транспортеры метотрексата, участвующие в процессах всасывания, распределения и выведения препарата [Grželj, J. et al., 2021]. Активность белков-транспортеров оказывает влияние на концентрации препарата в плазме крови и периферических тканях, тем самым определяя его токсичность [Grželj, J. et al., 2021; Redenšek, S. et al., 2017]. Выявление полиморфизмов генов, кодирующих белки-переносчики метотрексата и ферменты его биотрансформации, позволяет прогнозировать риск метотрексат-индуцированной токсичности [Camela, E. et al., 2022; Plaza-Plaza J. et al., 2016; Warren R. et al., 2008; Bedoui Y. et al., 2019; Sutherland A. et al., 2016; Lima A. et al., 2014; Ray-Jones H. et al., 2016; Сычѐв Д.А. и соавт., 2011].

Биодоступность метотрексата зависит от белков-переносчиков семейства ABC, которые транспортируют молекулы лекарственного средства из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта, а также от функционирования гликопротеина-P (белка ABCB1) – белка транспортера, который переносит молекулы метотрексата из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта. Ген *ABCB1*, кодирующий гликопротеин-P, обладает значительной степенью полиморфизма. Наибольшее клиническое значение и наибольшую распространенность имеет полиморфизм 3435C>T, представляющий собой замену цитозинового нуклеотида на тимидиновый в положении 3435 [Whetstine J. et al., 2011, Camela, E. et al., 2022]. Доказано, что низкий уровень экспрессии гена *ABCB1* в кишечнике и почках приводит к снижению содержания гликопротеина-P в этих органах и, следовательно, к более полному всасыванию и замедленному выведению его субстратов, к которым относится и метотрексат. В результате повышается концентрация метотрексата в плазме крови и возрастает вероятность развития НЛР [Marzolini C. et al., 2004; Застрожин М.С., 2017]. Влияние полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* на риск метотрексат-индуцированной токсичности изучено на выборках пациентов с ревматоидным артритом, и результаты исследований оказались неоднозначны [[Plaza-Plaza J. et al., 2016; Lv S. et al., 2019; Kyvsgaard N. et al., 2019]. Samara S. и соавт. показали, что носительство генотипа GG определяет повышенный риск токсичности метотрексата (слабости, утомляемости, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, со стороны костного мозга и центральной нервной системы) по сравнению с носительством генотипов AA и AG. Кроме того, у пациентов с генотипом GG отмечался повышенный риск гепатотоксичности (повышения уровня печеночных ферментов выше нормы и снижения уровня альбумина в сыворотке крови) [Samara S. et al., 2014]. В исследовании токсичности метотрексата у испанцев с ревматоидным артритом также показано, что частота гепатотоксичности (тремякратного повышения уровня ферментов печени) выше у пациентов с генотипом GG по сравнению с генотипом AG [Plaza-Plaza J. et al., 2016]. При этом, в некоторых исследованиях не выявлено ассоциации

носительства генотипа GG у пациентов с ревматоидным артритом, получавших терапию метотрексатом [Lv S. et al., 2019; Kyvsgaard N. et al., 2019].

Значимая роль в фармакокинетике метотрексата отводится белкам-транспортерам органических анионов семейства OATP: OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1. С точки зрения фармакогенетики интерес представляет изучение белка-транспортера органических анионов OATP1B1, который кодируется геном *SLCO1B1*. Белок OATP1B1 локализован преимущественно в синусоидальной мембране гепатоцитов, однако, мРНК белка обнаруживаются и в других тканях, в частности, в энтероцитах. Белок OATP1B1 осуществляет захват молекул метотрексата в печени из крови. В связи с этим, увеличенный внутриклеточный захват и задержка молекул метотрексата в клетках кишечника и печени могут объяснить его цитотоксическое действие на энтероциты и гепатоциты [Grželj, J. et al., 2021].

Носительство (гетерозиготное, и в особенности гомозиготное) аллеля С гена *SLCO1B1*\*5 в локусе rs4149056 проявляется в замене аминокислоты (валина на аланин в локусе 174), что определяет снижение активности белка-транспортера в виде уменьшения захвата молекул метотрексата и их последующей элиминации. В связи с этим, концентрация препарата в крови возрастает, что и определяет увеличение риска возникновения нежелательных реакций [Grželj, J. et al., 2021]. Эта гипотеза подтверждена в фармакогенетических исследованиях: показано, что у носителей аллеля С отмечается снижение клиренса метотрексата [Treviño L. et al., 2019; Ramsey L. et al., 2013; Goričar K. et al., 2014]. Результаты полногеномного исследования Ramsey L. и соавт. показали, что клиренс метотрексата ниже на 13% у гомозигот CC по сравнению с гомозиготами TT [Ramsey L. et al., 2013]. Стоит отметить, что такое влияние полиморфизма rs4149056 *SLCO1B1* на проявления токсического действия метотрексата было установлено для пациентов с онкологическими заболеваниями, получавшим высокие дозы препарата [Treviño L. et al., 2019; Ramsey L. et al., 2013; Goričar K. et al., 2014].

Aurea Lima и соавторы выявили взаимосвязь носительства аллеля Т в локусе rs4149056 гена *SLCO1B1* с более частым возникновением НЛР метотрексата у пациентов с ревматоидным артритом, получавшими метотрексат в дозировке, сопоставимой с таковой при псориазе: у пациентов-гомозигот TT и гетерозигот СТ проявления токсического действия метотрексата возникали чаще, чем у носителей других генотипов. Кроме того, у носителей аллеля Т отмечался более высокий риск развития НЛР метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта по сравнению с носителями аллеля С [Lima A. et al., 2014].

Вариабельность ответа пациентов на терапию метотрексатом и отсутствие алгоритма прогнозирования нежелательных лекарственных реакций определяют необходимость поиска биомаркеров, которые могли бы быть предикторами индивидуального ответа на терапию.

В связи с этим актуальным является выявление подобных ассоциаций у больных псориазом, что позволит установить связь безопасности метотрексата с его фармакогенетическими особенностями и разработать клинико-лабораторный подход к персонализированному выбору фармакотерапии псориаза, позволяющий прогнозировать возникновение и тяжесть токсических явлений при лечении метотрексатом.

**Целью** исследования явилась разработка алгоритма прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза метотрексатом с использованием фармакогенетического тестирования.

В соответствии с целью исследования, поставлены **задачи**:

- 1) Проанализировать частоту и тяжесть нежелательных лекарственных реакций, возникающих при лечении пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат;
- 2) Изучить частоты распределения аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) у больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза;
- 3) Оценить взаимосвязь между частотой и тяжестью местных и системных нежелательных лекарственных явлений, возникающих при терапии пациентов с тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат, и полиморфизмами генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056);
- 4) Оценить возможность использования результатов фармакогенетических исследований для прогнозирования безопасности терапии метотрексатом для больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза.

#### **Научная новизна результатов диссертационной работы**

Научную новизну диссертационного исследования составляют следующие положения:

- 1) Впервые была оценена частота и выраженность нежелательных лекарственных реакций у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза и проведен анализ факторов, влияющих на безопасность терапии метотрексатом;
- 2) Впервые в отечественной дерматовенерологии у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза изучены частоты распределения аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056), а также проведено сравнение частот распределения аллелей и генотипов у пациентов с псориазом и у групп здоровых добровольцев;
- 3) Определена взаимосвязь между безопасностью терапии пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат и полиморфизмами генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056);

4) Разработан алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования.

### **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы**

Проведенное исследование позволило оценить вклад фармакогенетических факторов в безопасность терапии метотрексатом у больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза. Показана важность проведения генотипирования *ABCB1* rs1045642 и *SLCO1B1* rs4149056 перед назначением метотрексата пациентам со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, которое позволит снизить риск развития нежелательных лекарственных реакций путем выделения группы пациентов, которым не рекомендуется назначение метотрексата.

Результаты проведенного исследования позволили впервые разработать персонализированный подход к назначению метотрексата больным среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза с учетом фармакогенетического тестирования, что может быть использовано в клинической практике.

Новые научные данные, касающиеся прогнозирования безопасности терапии метотрексатом у больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза на основе фармакогенетического тестирования внедрены в качестве рекомендаций для практикующих врачей в работу отделения клинической дерматологии ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в учебный процесс обучения ординаторов и врачей-дерматовенерологов на кафедре дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Положения, выносимые на защиту**

1) Доказано, что терапия метотрексатом у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза сопряжена с высоким риском развития нежелательных лекарственных реакций типа А. Наиболее частыми проявлениями токсического действия метотрексата являются нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта, печени, центральной нервной системы, а также нефротоксичность метотрексата. При этом, НПР метотрексата не зависят от клинико-демографических характеристик пациентов (возраста, роста, тяжести течения псориаза), наличия сопутствующих заболеваний, что требует оценки влияния генетических факторов на безопасность терапии, а именно изучения влияния полиморфизма генов белков-переносчиков, участвующих в процессе биотрансформации метотрексата, перед его назначением;

- 2) Установлено, что носительство минорного аллеля Т по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* и «дикого» генотипа СС по полиморфизму rs4149056 гена *SLCO1B1* ассоциировано с большей выраженностью нежелательных лекарственных реакций метотрексата у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза;
- 3) Не обнаружено влияние полиморфизма генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) на частоту развития псориаза;
- 4) Установлено, что носительство минорного аллеля Т по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* ассоциировано с большей частотой и выраженностью нежелательных лекарственных реакций метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, а носительство «дикого» аллеля Т по полиморфизму rs4149056 гена *SLCO1B1* ассоциировано с большей частотой гепатотоксического действия метотрексата у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза;
- 5) Фармакогенетическое исследование, включающее генотипирование по полиморфизмам *ABCB1* rs1045642 и *SLCO1B1* rs4149056 может лечь в основу алгоритма прогнозирования безопасности терапии метотрексатом больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Исследование одобрено Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 9 от 13 ноября 2018 года. Тема утверждена на заседании совета терапевтического факультета от 10 декабря 2018 года, протокол № 6. Основные положения диссертации доложены в виде научных докладов на V Конференции дерматовенерологов и косметологов Крыма (2019 г.), IX Конференция дерматовенерологов и косметологов Приволжского федерального округа (2019 г.), XXI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (2021 г.), V Ежегодном всероссийском конгрессе «Вотчаловские чтения» (2021 г.), симпозиуме Молодых ученых РАН (2022 г.), XXII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (2022 г.), Всероссийском конгрессе по непрерывному профессиональному медицинскому образованию 11 работников здравоохранения «ЗОНТ: здоровье, образование, наука, технологии» (2022 г.). Апробация диссертации состоялась на расширенном совместном заседании кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, протокол № 74 от 08.06.2022 г.



Достоверность результатов и выводов исследования подтверждается репрезентативностью выборки – в исследование включены 75 пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза.

В работе использованы современные, полностью соответствующие цели и задачам высокоинформативные методы исследования: проводилось молекулярно-генетическое исследование (определение генетических полиморфизмов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) методом полимеразной цепной реакции), применялись шкалы выраженности токсичности CTCAE\_v5.0 (Common Toxicity Criteria for Adverse Event), GSRS (Gastrointestinal symptoms rating scale), для оценки причинно-следственной связи приема метотрексата и НЛП использовались шкала Наранжо, для определения тяжести течения псориаза был применен индекс PASI (Psoriasis Area and Severity Index).

Достоверность результатов диссертационной работы определяется использованием современных методов статистической обработки полученных данных, соответствующих критериям доказательной медицины: при выборе метода нормальность распределения выборок оценивали с помощью W-теста Шапиро-Уилка, однородность дисперсий – с помощью T-теста Фишера (при сравнении двух выборок) и теста Левена (при сравнении нескольких выборок); различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ ); для сравнения двух выборок количественных данных использовали t-тест Стьюдента либо его непараметрический аналог: U-тест МаннаУитни (Mann-Whitney U-test); при сравнении количественных данных нескольких выборок одновременно использовали параметрический одно- и многофакторный дисперсионный анализ (и их непараметрические аналоги: анализ Крускала-Уоллиса (ANOVA) и критерий Джонкхир-Терпстры (при проверке гипотезы сдвига против альтернатив упорядоченности); сравнение качественных признаков производилось с использованием критерия Хи квадрат Фишера (Fisher's Chi-square test); влияние одной переменной на другую оценивалось по результатам регрессионного анализа

#### **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Соискателем проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, доказана её актуальность, сформулирована проблема, требующая уточнения и обоснована степень её разработанности, поставлены цель и определены задачи исследования. Обозначена методология проведения работы и разработан дизайн исследования. Диссертантом проведено обследование, наблюдение, лечение пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, ведение электронной базы данных и медицинской документации, выполнена оценка безопасности терапии метотрексатом, определена частота и выраженность нежелательных лекарственных реакций у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, оценена взаимосвязь между безопасностью

терапии пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат и полиморфизмами генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056). Диссертантом разработан алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования, предложены рекомендации по прогнозированию безопасности терапии метотрексатом у пациентов с псориазом.

Полученные автором результаты систематизированы, проанализированы и статистически обработаны. Автором самостоятельно сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. По материалам проведенного исследования соискателем подготовлены и опубликованы статьи и доклады по теме диссертации.

### **Публикации по теме диссертации**

Материалы диссертации изложены в 4 научных работах, в том числе – 2 статьях в рецензируемых журналах, входящих в международную систему научного цитирования Scopus, а также 2 статьях в журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, в которых отражено основное содержание работы.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование «Прогнозирование безопасности терапии метотрексатом у больных псориазом на основе фармакогенетического тестирования» соответствует формуле специальности 3.1.23. Дерматовенерология и областям исследования: п. № 2 «Этиология и патогенез дерматозов, лимфопролиферативных заболеваний кожи, новообразований кожи и ИППП (изучение причинно-следственных связей между генетическими, патоморфологическими, иммунологическими, биохимическими, функциональными особенностями и клиническими проявлениями заболеваний)», п. № 5 «Совершенствование и разработка новых методов лечения дерматозов, лимфопролиферативных заболеваний кожи, новообразований кожи, ИППП с применением современных лекарственных средств, медицинских изделий, физиотерапии, санаторно-курортного лечения, реабилитации. Совершенствование критериев излеченности». 10 Диссертационное исследование «Прогнозирование безопасности терапии метотрексатом у больных псориазом на основе фармакогенетического тестирования» соответствует формуле специальности: 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), п. № 10 проведение фармакогенетических исследований, п. № 16 – Изучение научных подходов к совершенствованию системы фармаконадзора. Мониторинг безопасности лекарственных средств, изучение нежелательных реакций лекарственных средств, разработка методов их профилактики и коррекции.

## Структура и объем диссертации

Работа изложена на 148 страницах печатного текста и состоит из разделов: «введение», «обзор литературы», «материалы и методы исследования», «результаты исследования», «заключение», «выводы», «практические рекомендации» и «список литературы». Список литературы содержит 142 источника, в том числе 12 отечественных и 130 зарубежных. Текст иллюстрирован 14 рисунками и 75 таблицами.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор академик РАН, д.м.н., профессор А.А. Кубанов). Фармакогенетические исследования проведены в НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор академик РАН, д.м.н., профессор Сычев Д.А.).

*Предметом исследования* явилось изучение влияния полиморфизмов генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) на безопасность терапии метотрексатом у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза.

*Объект исследования* – 75 пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, 47 (62,7%) мужчин и 28 женщин (37,3%) в возрасте от 19 до 84 лет. Средняя продолжительность госпитализации составила  $24,6 \pm 8,2$  дней.

Критериями включения пациентов в исследование были:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании;
2. Пациенты с клиническими формами псориаза: псориаз обыкновенный, пустулезный псориаз (генерализованный Цумбуша, ладоней и подошв Барбера), псориагическая эритродермия, псориаз артропатический;
3. Пациенты, получающие метотрексат в период госпитализации.

Критериями невключения были:

1. Выраженная соматическая патология;
2. Психотическое состояние или тяжелое психотическое заболевание в анамнезе;
3. Одновременный прием препаратов, влияющих на фармакокинетику и/или фармакодинамику метотрексата.

Критериями исключения были:

1. Отказ больного от продолжения участия в исследовании.

Включение в исследование происходило в первые 24 часа после первой инъекции метотрексата. От каждого пациента было получено информированное согласие на включение в исследование и была дана исчерпывающая информация о ходе исследования, его целях и результатах.

*Методы исследования:*

1. Клинические методы

У каждого пациента собирались демографические данные, проводился сбор анамнеза заболевания, осмотр и оценка кожного патологического процесса.

Для определения степени тяжести псориаза применялся индекс PASI: тяжесть кожных проявлений оценивалась в отношении четырех анатомических зон (голова, туловище, верхние и нижние конечности) [Fredriksson T. et al., 1978]. Фиксировалась сопутствующая терапия.

Нежелательные лекарственные реакции оценивались со стороны органов кровотока, со стороны центральной нервной системы, со стороны органов чувств, со стороны дыхательной системы, со стороны пищеварительной системы, со стороны мочевыделительной системы, со стороны кожных покровов, со стороны костно-мышечной системы, со стороны сердечно-сосудистой системы, со стороны иммунной системы, со стороны репродуктивной системы.

Данные о симптоматических нежелательных лекарственных реакциях выявлялись в ходе опроса пациента с помощью специально разработанного структурированного опросника: пациенту задавали вопросы относительно наличия каждой из ожидаемых симптоматических нежелательных лекарственных реакций по всем органам и системам ежедневно с момента включения пациента в исследование на протяжении всего периода госпитализации [Цветов В., 2007]. В случае положительного ответа, выраженность НЛР оценивалась пациентом самостоятельно при помощи визуально-аналоговой нумерологической оценочной шкалы. Кроме того, выраженность НЛР оценивалась при помощи шкалы выраженности токсичности CTCAE\_v5.0 (Common Toxicity Criteria for Adverse Event, version 5.0 [U.S. Department of Health and Human Services, 2017]). Тяжесть нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта оценивали при помощи специализированного опросника для оценки качества жизни пациентов с учетом симптомов со стороны ЖКТ – GSRS (Gastrointestinal symptoms rating scale) [Svedlund J. et al., 1988].

Для оценки причинно-следственной связи приема метотрексата и НЛР использовались шкала Наранжо [Busto U. et al., 1982]. В исследовании были рассмотрены только те НЛР, которые имели определенную, вероятную, возможную степень связи.

2. Лабораторные методы

Нежелательные лекарственные реакции также выявлялись при помощи анализа данных лабораторных исследований: общего и биохимического анализа крови, а также общего анализа

мочи. Оценивались значения результатов лабораторных исследований при госпитализации до приема пациентом метотрексата и перед выпиской из стационара на фоне терапии метотрексатом. Кроме того, оценивалась динамика лабораторных показателей. Тяжесть НЛР также оценивалась при помощи шкалы выраженности токсичности CTCAE\_v5.0.

Определение носительства полиморфизмов rs1045642 гена *ABCB1*, rs4148738 гена *ABCB1*, rs4149056 гена *SLCO1B1* было осуществлено при помощи методики генотипирования в режиме реального времени.

### 3. Статистические методы

Статистический анализ произведен методами параметрической и непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v10.0 («StatSoft Inc.», США). При выборе метода брали во внимание нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью W-теста Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test) и однородность дисперсий с помощью T-теста Фишера (при сравнении двух выборок) и теста Левена (при сравнении нескольких выборок). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ ). Для сравнения двух выборок количественных данных использовали t-тест Стьюдента и его непараметрический аналог U-тест Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). При сравнении количественных данных нескольких выборок одновременно использовали параметрический 55 одно- и многофакторный дисперсионный анализ (и их непараметрические аналоги: анализ Крускала-Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA) и критерий Джонкхира-Терпстры (при проверке гипотезы сдвига против альтернатив упорядоченности). При внутригрупповом сравнении количественных данных нескольких групп использовали апостериорный анализ: критерий Ньюмана-Койлса (Newman-Keuls range test) для независимых выборок. Сравнение качественных признаков производилось с использованием критерия Хи квадрат Фишера (Fisher's Chi-square test). Влияние одной переменной на другую оценивалось по результатам регрессионного анализа.

### 4. Разработка алгоритма прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования

Для разработки алгоритма прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат проведен анализ влияния фармакогенетических факторов, которые могут оказывать влияние на безопасность терапии, а именно: полиморфизмов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056). На основании выявленных закономерностей разработаны рекомендации по персонализированному подходу к терапии псориаза метотрексатом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Нежелательные лекарственные реакции, наблюдавшиеся у пациентов с псориазом при терапии метотрексатом

В исследование включено 75 пациентов, среди которых было 47 (62,7%) мужчин и 28 женщин (37,3%) в возрасте от 19 до 84 лет. У всех пациентов, включенных в исследование, наблюдалась прогрессирующая стадия псориаза. В общей группе пациентов наблюдались 65 (86,7%) пациентов со среднетяжелыми формами (PASI от 10 до 19 баллов) и 10 (13,3%) пациентов с тяжелыми формами псориаза ((PASI от 20 до 72 баллов). Пациенты получали метотрексат в виде инъекций, вводимых внутримышечно один раз в неделю. Средняя доза метотрексата составила  $14,05 \pm 3,49$  мг. Среднее количество инъекций составило  $3,15 \pm 1,00$ . Все пациенты получали метотрексат в сочетании с фолиевой кислотой, принимаемой не ранее, чем через сутки после проведенной инъекции. Средняя продолжительность госпитализации составила  $24,6 \pm 8,2$  дней.

Нежелательные лекарственные реакции возникли у 57 пациентов (76%). НЛР сгруппированы следующим образом: к нежелательным лекарственным реакциям метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта были отнесены: стоматит, диарея, тошнота, рвота, изжога, боль в животе, боль в правом подреберье и другие диспепсические расстройства; к гепатотоксичности отнесены значимые повышения уровней ферментов печени и щелочной фосфатазы; к нефротоксичности были отнесены протеинурия и повышение уровня креатинина; к нежелательным лекарственным реакциям со стороны центральной нервной системы были отнесены слабость и повышенная утомляемость, бессонница, головная боль, головокружение. НЛР у пациентов, у которых отмечались парестезии, зуд, мышечная боль, макуло-папулезные высыпания, были объединены в категорию «иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата». Категории НЛР представлены в таблице 1.

**Таблица 1** – Распределение нежелательных лекарственных реакций по категориям

<b>Категория нежелательных лекарственных реакций</b>	<b>Количество пациентов</b>
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	38 (50,67%)
Нефротоксичность метотрексата	25 (33,33%)
Гепатотоксичность метотрексата	22 (29,3%)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	39 (52%)

## Продолжение Таблицы 1

Категория нежелательных лекарственных реакций	Количество пациентов
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	5 (6,67%)
Всего	57 (76%)

Рассмотрены НЛР, связь которых с приемом метотрексата по шкале Наранжо была оценена в 6 – 8 баллов, что соответствовало «вероятной» категории степени достоверности взаимосвязи «метотрексат – НЛР», а также НЛР, связь которых с приемом метотрексата была оценена в 1 – 4 баллов, что соответствовало «возможной» степени достоверности связи.

Тяжесть нежелательных лекарственных реакций оценивали при помощи визуальных аналоговых шкал, по шкале выраженности токсичности СТСАЕ (Common Toxicity Criteria for Adverse Event). Выраженность токсического влияния метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта оценивалась при помощи опросника GSRS. Выраженность нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта была оценена как 1 и 2 степень тяжести по шкале СТСАЕ, что соответствует легкой и умеренной выраженности токсичности; средний балл выраженности тошноты по ВАШ составил  $2,78 \pm 3,55$ , выраженности боли в животе –  $1,05 \pm 1,54$ . Средний балл по шкале GSRS составил  $7,97 \pm 9,18$ , что соответствует существенному влиянию токсических проявлений метотрексата на качество жизни пациентов. Выраженность нефротоксичности метотрексата не превышала 1 степень тяжести по шкале СТСАЕ, в отличие от гепатотоксичности, степень тяжести которой у некоторых пациентов была средней и высокой (2 и 3 степень тяжести по шкале СТСАЕ), что привело к необходимости отмены метотрексата. Тяжесть токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы была оценена как легкая и умеренная (1 – 2 балла по СТСАЕ), в частности, выраженность головной боли по ВАШ составила  $0,3 \pm 0,8$  балла, сонливости –  $5,2 \pm 1,2$  балла.

**Анализ частоты распределения аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) у пациентов с псориазом, получавших метотрексат**

. Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (для *ABCB1* rs1045642:  $\chi^2 = 0,32$ ,  $p = 0,572$ ; для *SLCO1B1* rs4149056:  $\chi^2 = 3,17$ ,  $p=0,075$ ; для *ABCB1* rs4148738:  $\chi^2 = 0,037$ ,  $p=0,847$ ). Достоверных различий в частоте полиморфизмов генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) между популяцией пациентов с псориазом, принимающих метотрексат, и представителями других популяцией

обнаружено не было, что говорит о том, что взаимосвязь между заболеваемостью псориазом и фактом наличия изучаемых полиморфизмов отсутствует.

**Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* C3435T rs1045642 на безопасность терапии**

Группы носителей генотипов СС, СТ и ТТ по полиморфизму *ABCB1* C3435T rs1045642 сопоставимы по всем демографическим, анамнестическим и клиническим характеристикам.

Проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 2.

**Таблица 2** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=14	ТС (абс., %), N=34	ТТ (абс., %), N=27	Достоверность различий (p- value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	2 (14,3%)	18 (52,9%)	18 (66,7%)	<b>0,006</b>
Стоматит	1 (7,1%)	2 (5,9%)	0 (0,0%)	0,407
Диарея	1 (7,1%)	8 (23,5%)	8 (29,6%)	0,261
Тошнота	2 (14,3%)	13 (38,2%)	14 (51,9%)	<b>0,064</b>
Рвота	0 (0,0%)	2 (5,9%)	0 (0,0%)	0,290
Изжога	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (7,4%)	0,161
Диспепсия	1 (7,1%)	17 (50,0%)	15 (55,6%)	<b>0,008</b>
Боль в животе	1 (7,1%)	11 (32,4%)	14 (51,9%)	<b>0,016</b>
Боль в правом подреберье	0 (0,0%)	2 (5,9%)	2 (7,4%)	0,595

Кроме того, носители аллеля Т были объединены в одну группу: гетерозигот и гомозигот и провели сравнение между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 3.



**Таблица 3** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=14	СТ+ТТ (абс., %), N=61	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	2 (14,3%)	36 (59,0%)	<b>0,006</b>
Стоматит	1 (7,1%)	2 (3,3%)	0,467
Диарея	1 (7,1%)	16 (26,2%)	0,168
Диарея СТСАЕ-1	0 (0,0%)	14 (23,7%)	<b>0,059</b>
Тошнота	2 (14,3%)	27 (44,3%)	<b>0,053</b>
Рвота	0 (0,0%)	2 (3,3%)	1,000
Изжога	0 (0,0%)	2 (3,3%)	1,000
Диспепсия	1 (7,1%)	32 (52,5%)	<b>0,005</b>
Боль в животе	1 (7,1%)	25 (41,0%)	<b>0,026</b>
Боль в правом подреберье	0 (0,0%)	4 (6,6%)	1,000

Анализ частоты возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта выявил значимые различия между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ rs1045642: проявления токсического действия метотрексата чаще встречались у носителей генотипов СТ и ТТ (СС – 2 (14,3%), ТС – 18 (52,9%), ТТ – 18 (66,7%),  $p=0,006$ ). При этом, при сравнении групп СС и СТ+ТТ (СС - 2 (14,3%), СТ+ТТ - 36 (59,0%)) достоверность осталась неизменной ( $p=0,006$ ).

Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния носительства аллеля Т (генотипы СТ+ТТ) по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* на частоту развития НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта: estimation -2,16, OR = 8,64, 95% CI OR: 1,78 – 42,01,  $p = 0,008$ . Чувствительность составляет 94,7%, специфичность – 67,56 %.

При анализе частоты встречаемости отдельных типов нежелательных лекарственных реакций также были выявлены статистически значимые закономерности. Диспепсия оказалась более характерна для носителей генотипов СТ и ТТ (СС – 1 (7,1%), СТ – 17 (50,0%), ТТ – 15 (55,6%),  $p = 0,008$ ). В отношении частоты возникновения тошноты была продемонстрирована

лишь тенденция к достоверности (СС – 2 (14,3%), СТ – 13 (38,2%), ТТ – 14 (51,9%),  $p=0,064$ ), при этом, достоверность возросла при сравнении групп СС и СТ+ТТ ( $p=0,053$ ). При сравнении групп СС и СТ+ТТ достоверность носительства генотипов СТ+ТТ и возникновения диспептических явлений также стала более выраженной ( $p=0,005$ ).

Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния носительства аллеля Т (генотипы СТ+ТТ) полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* на частоту развития диспепсии: estimation -2,66, OR = 14,34, 95% CI OR: 1,76 – 116,57,  $p = 0,013$ .

Боль в животе чаще отмечали носители минорного аллеля Т: СС – 1 (7,1%), СТ – 11 (32,4%), ТТ – 14 (51,9%),  $p=0,016$ . Объединение носителей аллеля Т в группу СТ+ТТ подтвердил установленную закономерность: СС – 1 (7,1%), СТ+ТТ – 25 (41,0%),  $p=0,026$ . Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* на возникновение боли в животе: estimation -2,2, OR = 9,03, 95% CI OR: 1,109 – 73,5,  $p = 0,04$ .

При анализе частоты возникновения диареи между группами СС, СТ и ТТ достоверной связи выявлено не было (СС – 1 (7,1%), СТ – 8 (23,5%), ТТ – 8 (29,6%),  $p=0,261$ ), однако, при объединении пациентов с генотипами СТ и ТТ в группу СТ+ТТ выявлена тенденция к достоверности между частотой возникновения диареи 1 степени тяжести по шкале СТСАЕ и носительством аллеля Т (СС – 0 (0,0%), СТ+ТТ – 14 (23,7%),  $p=0,059$ ).

Проведена оценка влияния носительства различных генотипов на выраженность нежелательных лекарственных реакций: анализ показал, что выраженность нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику тяжести симптомов со стороны органов пищеварения GSRS достоверно выше, чем у носителей генотипа СС (СС – 0,00 [0,00; 0,00], СТ – 4,00 [0,00; 11,75], ТТ – 19,00 [0,00; 22,00],  $p<0,001$ ). При объединении носителей генотипов СТ и ТТ в одну группу также была выявлена статистически значимая разница: СС+ТТ – 9,00 [0,00; 17,25], СС – 0,00 [0,00; 0,00],  $p = 0,001$ .

Выраженность боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал также была выше у пациентов с генотипами СТ и ТТ по сравнению с пациентами с генотипом СС (СС – 0,00 [0,00; 0,00], СТ – 4,00 [0,00; 11,75], ТТ – 19,00 [0,00; 22,00],  $p = 0,021$ ). При сравнении групп пациентов с генотипом СС и генотипами СТ+ТТ также была обнаружена статистически значимая ассоциация ( $p = 0,035$ ).

Таким образом, обнаруживаются достоверные различия в частоте и выраженности различных проявлений токсического действия метотрексата у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру *ABCB1* rs1045642: носители мутантного аллеля Т (генотипы СТ и

ТТ) чаще отмечали токсическое действие метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта, и выраженность нежелательных лекарственных реакций была выше.

Анализ частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ также показал более частое возникновение НЛР у носителей минорного аллеля Т: (СС – 2 (14,3%), СТ – 10 (29,4%), ТТ – 16 (59,3%),  $p = 0,008$ . При объединении носителей аллеля С в одну группу СТ+СС статистически значимая сила связи увеличивается: СТ+СС – 12 (25%), ТТ – 16 (59,3%),  $p = 0,004$ . Таким образом, вероятность возникновения токсического действия метотрексата со стороны ЦНС выше у носителей генотипа ТТ (чувствительность – 57,14%, специфичность – 23,4 %). Результат построения биномиальной регрессии также продемонстрировал наличие тенденции к достоверности во влиянии носительства генотипа ТТ на повышение риска развития НЛР со стороны центральной нервной системы: estimation -1,49, OR = 4,45, 95% CI OR: 0.917 - 21.653,  $p = 0.064$ .

При анализе частоты встречаемости отдельных типов НЛР со стороны центральной нервной системы, установлена статистически значимая разница в возникновении бессонницы: у носителей аллеля Т бессонница возникала значимо чаще (СС – 0 (0,0%), СТ – 1 (2,9%), ТТ – 8 (29,6%),  $p=0,002$ ). Выявлена тенденция к достоверности в более частой встречаемости слабости и повышенной утомляемости у носителей минорного аллеля Т (СС – 2 (14,3%), СТ – 9 (26,5%), ТТ – 13 (48,1%),  $p=0,057$ ).

Анализ различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ показал, что у носителей генотипов СТ и ТТ балл выраженности слабости был достоверно выше, чем у носителей генотипа СС (СС – 0.00 [0.00; 0.00], СТ – 0.00 [0.00; 2.25], 0.00 [0.00; 5.50], ТТ – 0.00 [0.00; 2.25],  $p=0,045$ ).

Таким образом, результаты исследования демонстрируют, что носительство аллеля Т ассоциировано с большей частотой и выраженностью нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы. Возможным объяснением выявленной закономерности может быть накопление метотрексата в организме вследствие его замедленного выведения у носителей минорного аллеля Т *ABCB1* (rs1045642).

#### **Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs4148738 на безопасность терапии**

В ходе исследования не обнаружено различия в частоте и выраженности нежелательных реакций у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру rs4148738 гена *ABCB1*. Вероятно, это может быть связано с тем, что данный маркер не оказывает влияние на фармакокинетику метотрексата, в связи с чем, различия в частоте нежелательных реакций не обнаружено.

### Анализ влияния полиморфизма *SLCO1B1* 5 rs4149056 на безопасность терапии

Проведен анализ различий частоты возникновения гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами ТС+СС и ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 4, 5.

**Таблица 4** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *SLCO1B1*\*5 rs4149056 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=6	ТС (абс., %), N=20	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Гепатотоксическое действие	0 (0,0%)	4 (20,0%)	18 (36,7%)	<b>0,099</b>
Повышение уровня АСТ	0 (0,0%)	1 (5,0%)	10 (20,4%)	0,148
Повышение уровня АЛТ	0 (0,0%)	3 (15,0%)	18 (36,7%)	<b>0,053</b>
Повышение уровня щелочной фосфатазы	0 (0,0%)	1 (5,0%)	2 (4,1%)	0,859

**Таблица 5** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *SLCO1B1*\*5 rs4149056 ТС+СС и ТТ

Показатель	ТС+СС (абс., %), N=26	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Гепатотоксическое действие	4 (15,4%)	18 (36,7%)	<b>0,054</b>
Повышение уровня АСТ	1 (3,8%)	10 (20,4%)	<b>0,085</b>
Повышение уровня АЛТ	3 (11,5%)	18 (36,7%)	<b>0,028</b>
Повышение уровня щелочной фосфатазы	1 (3,8%)	2 (4,1%)	1,000

При анализе частоты возникновения гепатотоксичности между группами СС, ТС и ТТ выявлена лишь тенденция к достоверности (СС – 0 (0,0%), ТС – 4 (20,0%), ТТ – 18 (36,7%),  $p=0,099$ ), и при объединении пациентов с генотипами СТ и ТТ в группу СТ+ТТ тенденция к достоверности между частотой возникновения гепатотоксичности и носительством аллеля Т усилилась (ТС+СС - 4 (15,4%), ТТ – 18 (36,7%),  $p=0,054$ ).

При детальном анализе различных проявлений гепатотоксического действия метотрексата выявлено, что клинически значимое повышение уровня АЛТ у носителей генотипа ТТ имеет тенденцию к достоверности (СС – 0 (0,0%), ТС – 3 (15,0%), ТТ – 18 (36,7%),  $p=0,053$ ).

Объединение носителей аллеля С в группу ТС+СС показало, что повышение уровня АЛТ статистически значимо чаще встречается у гомозигот ТТ: ТС + СС – 3 (11,5%), ТТ – 18 (36,7%),  $p=0,028$ .

Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния носительства генотипа ТТ (rs4149056) гена *SLCO1B1* на возникновение клинически значимого повышения уровня АЛТ (estimation -1,49, OR = 4,452, 95% CI: 1.084 – 1,804,  $p= 0,028$ ). Чувствительность составляет 85,71%, специфичность – 57,41%.

Кроме того, было показано, что клинически значимое повышение уровня АСТ у носителей генотипа ТТ также имеет тенденцию к достоверности при объединении носителей аллеля Т в группу ТС+ТТ (СС – 1 (3,8%), ТС+СС – 10 (20,4%),  $p=0,085$ ). Результат построения биномиальной регрессии также продемонстрировал наличие тенденции к достоверности во влиянии полиморфизма rs4149056 гена *SLCO1B1* (носительства генотипа ТТ) на повышение уровня АСТ: estimation -1,86, OR = 6,41, 95% CI OR: 0,772 – 53,195,  $p = 0,085$ .

Полученные данные показывают наличие влияния полиморфизма полиморфизма rs4149056 гена *SLCO1B1* на безопасность терапии метотрексатом, а именно на гепатотоксическое действие препарата (повышение уровня АЛТ). Предположительно, носительство аллеля Т ассоциировано с более выраженным печеночным захватом молекул метотрексата, что может приводить к накоплению метотрексата и его полиглутаматов в клетках печени и прямом гепатотоксическим действием лекарственного средства.

При анализе влияния клинико-демографических факторов, получаемой терапии и сопутствующих заболеваний, на безопасность терапии метотрексатом, было выявлено, что более высокие дозы метотрексата ассоциированы с более частым развитием нефротоксичности метотрексата: средняя доза метотрексата составила 15,00 [13,33; 16,67] у пациентов с НЛР, и 13,33 [10,00; 15,00] у пациентов без НЛР это группы ( $p=0,034$ ), что предположительно, объясняется повышением концентрации метотрексата в крови и повышенным риском проявлением его токсического действия.

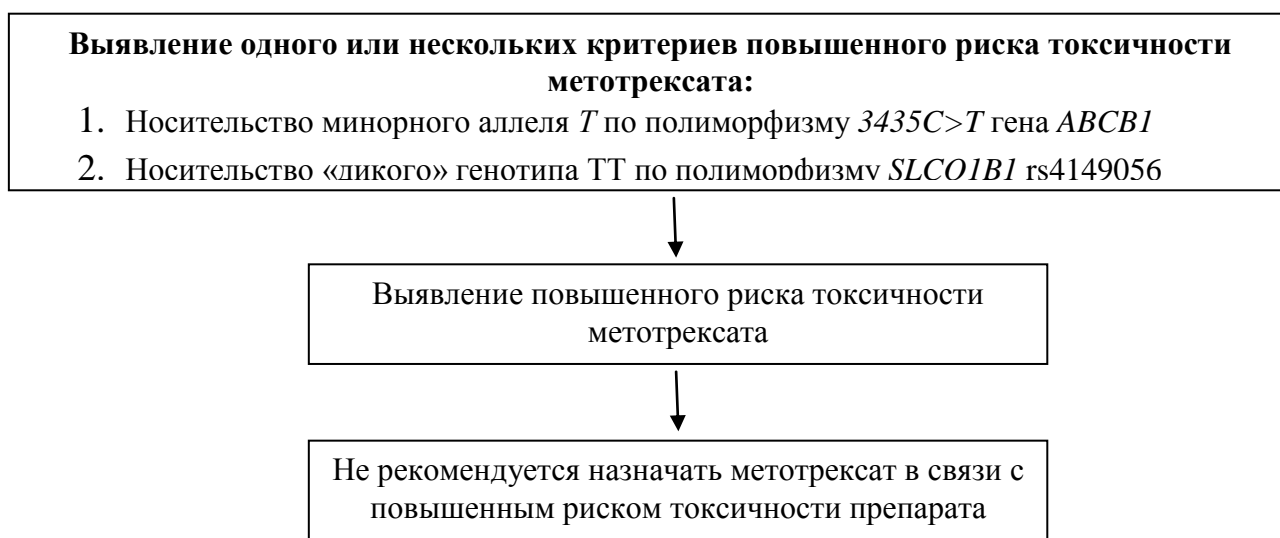
Кроме того, обнаружено, что гепатотоксическое действие метотрексата статистически значимо чаще наблюдалось у пациентов, которые получали фототерапию в составе комбинированной терапии псориаза: из 35 пациентов, которым проводилась фототерапия НЛР со стороны печени отмечались у 14 (70,0%), и не возникали у 21 (38,2%) пациентов ( $p = 0,029$ ).

Другие демографические характеристики пациентов, степень тяжести псориаза, количество инъекций, получение преднизолона не оказывают статистически значимого влияния на безопасность терапии метотрексатом.

При изучении ассоциации эффективности и безопасности терапии метотрексатом установлено, что у пациентов, у которых отмечалось гепатотоксическое действие метотрексата,

процент снижения индекса PASI был статистически значимо выше: динамика индекса PASI (%) = 53,55 [33,33; 59,24] у пациентов с гепатотоксичностью и динамика индекса PASI (%) = 36,98 [29,99; 43,02] у пациентов без гепатотоксичности,  $p = 0,004$ . Более частое возникновение НЛР метотрексата при более выраженной эффективности терапии может быть объяснено тем, что при большей эффективности наблюдалась большая биодоступность метотрексата, следовательно, достигалась более высокая концентрация лекарственного средства в плазме крови, за счет чего возрастал риск развития токсического влияния метотрексата.

**Алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования**



Установлено, что носительство минорного аллеля *T* по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* ассоциировано с большей частотой и выраженностью нежелательных лекарственных реакций метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза. Возможным объяснением выявленной закономерности может быть накопление метотрексата в организме вследствие его замедленного выведения у носителей минорного аллеля *T* *ABCB1* (rs1045642). Предположительно, это обусловлено влиянием полиморфизма гена на функционирование кодируемого им белка. Ген *ABCB1* кодирует гликопротеин-Р: вероятно, что у носителей минорного аллеля *T* снижается активность гликопротеина Р, субстратом которого является метотрексат. Это может приводить к тому, что метотрексат медленнее выводится из организма. Вследствие этого метотрексат в большем количестве доходит до рецепторов-мишеней, реализуется его цитотоксическое действие, что проявляется в повышении риска развития и выраженности нежелательных реакций.

Установлено, что носительство «дикого» аллеля T по полиморфизму rs4149056 гена *SLCO1B1* ассоциировано с большей частотой гепатотоксического действия метотрексата у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза. Такая взаимосвязь может быть объяснена влиянием возникновения мутации на функционирование белка-транспортера. Ген *SLCO1B1* кодирует транспортный белок-переносчик органических анионов OATP1B1, который локализуется преимущественно на базолатеральной мембране гепатоцитов и осуществляет захват молекул метотрексата клетками печени. Вероятно, что замена аллеля T на аллель C (*SLCO1B1*\*5 rs4149056 (T521C)), то есть носительство генотипов *SLCO1B1* rs4149056 CT и CC, ассоциированы с менее выраженной активностью белка-переносчика и менее выраженным захватом метотрексата клетками печени *in vitro*, соответственно, сниженным клиренсом метотрексата *in vivo*. Результаты некоторых исследований (A. Lima et al. (2014), J. Roszkiewicz et al. (2020)), показывают, что у носителей дикого аллеля T в сравнении с носителями минорного аллеля C реже возникают нежелательные лекарственные реакции ввиду того, что повышенный захват молекул метотрексата клетками печени ассоциирован с ускоренным его выведением из организма и меньшей биодоступностью, однако, в нашем исследовании подтверждения этой гипотезе выявлено не было.

Однако для гепатотоксичности наблюдаются иные закономерности: так как носительство дикого аллеля T ассоциировано с более выраженным печеночным захватом молекул метотрексата, вероятно, что носительство данного аллеля может быть ассоциировано и с большей вероятностью развития и выраженности гепатотоксичности. Это может быть объяснено тем, что, вероятно, внутриклеточное накопление метотрексата и его полиглутаматов оказывает прямое гепатотоксическое действие.

При этом, НЛР метотрексата не зависят от клинико-демографических характеристик пациентов (возраста, роста, тяжести течения псориаза), наличия сопутствующих заболеваний, что требует оценки влияния генетических факторов на безопасность терапии, а именно изучения влияния полиморфизма гена белков-переносчиков, участвующих в процессе биотрансформации метотрексата, перед его назначением.

Таким образом, фармакогенетическое исследование, включающее генотипирование по полиморфизмам *ABCB1* rs1045642 и *SLCO1B1* rs4149056 может лечь в основу алгоритма прогнозирования безопасности терапии метотрексатом больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза: алгоритм прогнозирования безопасности терапии метотрексатом больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза с учетом фармакогенетического тестирования, включающего определение носительства полиморфизмов *ABCB1* rs1045642 и *SLCO1B1* rs4149056 позволит определить группы пациентов, которым не рекомендуется проводить терапию метотрексатом.

## ВЫВОДЫ

1) Терапия метотрексатом у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза сопровождается высоким риском развития нежелательных лекарственных реакций – НЛР развиваются у 76% пациентов. Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта были выявлены у 38 пациентов (50,67%), нефротоксичность метотрексата – у 25 пациентов (33,33%), гепатотоксичность – у 20 пациентов (26,67%), нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы – у 39 пациентов (52%). 5 пациентов (6,67%) отмечали иные нежелательные лекарственные реакции.

2) Распределение генотипов соответствует закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (для *ABCB1* rs1045642:  $\chi^2 = 0,32$ ,  $p = 0,572$ ; для *SLCO1B1* rs4149056:  $\chi^2 = 3,17$ ,  $p=0,075$ ; для *ABCB1* rs4148738:  $\chi^2 = 0,037$ ,  $p=0,847$ ). Ассоциация изучаемых полиморфизмов с псориазом не выявлена: достоверных различий в частоте полиморфизмов генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) между популяцией пациентов с псориазом, принимающих метотрексат, и представителями других популяций не обнаружено.

3) Носительство генотипа ТТ по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* ассоциировано с большей частотой нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта (СС – 2 (14,3%), ТС – 18 (52,9%), ТТ – 18 (66,7%),  $p=0,006$ ), в частности – в частоте возникновения диспептических явлений (СС – 1 (7,1%), СТ – 17 (50,0%), ТТ – 15 (55,6%),  $p = 0,008$ ), боли в животе (СС – 1 (7,1%), СТ – 11 (32,4%), ТТ – 14 (51,9%),  $p=0,016$ ). Выраженность нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта у носителей минорного аллеля Т была достоверно выше, чем у носителей генотипа СС (СС – 0,00 [0,00; 0,00], СТ – 4,00 [0,00; 11,75], ТТ – 19,00 [0,00; 22,00],  $p<0,001$ ; СС+ТТ – 9,00 [0,00; 17,25], СС – 0,00 [0,00; 0,00],  $p = 0,001$ ). Выраженность боли в животе была выше у пациентов с генотипами СТ и ТТ по сравнению с пациентами с генотипом СС (СС – 0,00 [0,00; 0,00], СТ – 4,00 [0,00; 11,75], ТТ – 19,00 [0,00; 22,00],  $p = 0,021$ ).

Обнаружено, что проявления токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы чаще встречаются у носителей генотипа ТТ по сравнению с носителями генотипов СС и СТ по полиморфизму 3435C>Т гена *ABCB1* (СС – 2 (14,3%), СТ – 10 (29,4%), ТТ – 16 (59,3%),  $p = 0,008$ ), в частности – чаще наблюдается бессонница (СС – 0 (0,0%), СТ – 1 (2,9%), ТТ – 8 (29,6%),  $p=0,002$ ). У носителей генотипа ТТ выраженность слабости и повышенной утомляемости была выше, чем у носителей генотипа СС (СС – 0,00 [0,00; 0,00], СТ – 0,00 [0,00; 2,25], 0,00 [0,00; 5,50], ТТ – 0,00 [0,00; 2,25],  $p=0,045$ ).

У гомозигот ТТ по полиморфизму *ABCB1* rs1045642 чаще выявляется токсичность метотрексата со стороны центральной нервной системы (чувствительность – 57,14%,



специфичность – 23,4 %, OR = 4,36, 95% CI: 1,59 – 11,95, SE = 0,51). У носителей аллеля Т (генотипы СТ+ТТ) по полиморфизму *ABCB1* rs1045642 чаще отмечаются НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта (чувствительность - 94,7%, специфичность – 67,56 %, OR = 8,64, 95% CI: 1,78 – 42,01, SE = 0,81).

Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния носительства аллеля Т по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* на частоту развития НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта: estimation -2,16, OR = 8,64, 95% CI OR: 1,78 – 42,01, p = 0,008; тошноты: estimation -1,56, OR = 4,76, 95% CI: 0,98 – 23,13, p = 0,05, диспепсии: estimation -2,66, OR = 14,34, 95% CI: 1,76 – 116,57, p = 0,013; боли в животе: estimation -2,2, OR = 9,03, 95% CI: 1,109 – 73,5, p = 0,04.

Разницы у носителей различных генотипов по полиморфизму *ABCB1* rs4148738 обнаружено не было.

При изучении влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на безопасность терапии обнаружено статистически значимое влияние носительства дикого аллеля Т полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на возникновение гепатотоксичности метотрексата: клинически значимое повышение уровня АЛТ чаще отмечалось у пациентов с генотипами ТС+ТТ (СС - 3 (11,5%), ТС+ТТ – 8 (36,7%), p=0,03). Носительство генотипа ТТ по полиморфизму rs4149056 гена *SLCO1B1* ассоциировано с повышенной вероятностью развития гепатотоксического действия метотрексата (чувствительность – 85,71%, специфичность – 57,41%, OR = 4,452, 95% CI: 1.17 - 16.933, SE = 0,68). Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния носительства аллеля Т (rs4149056) гена *SLCO1B1* на возникновение клинически значимого повышения уровня АЛТ: estimation -1,49, OR = 4,452, 95% CI OR: 1.084 - 1.804, p = 0.028.

4) Алгоритм прогнозирования безопасности терапии метотрексатом больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза с учетом фармакогенетического тестирования, включающего определение носительства полиморфизмов *ABCB1* rs1045642 и *SLCO1B1* rs4149056 позволяет определить группы пациентов, которым не рекомендуется проводить терапию метотрексатом. Носительство аллеля Т (генотипы СТ+ТТ) по полиморфизму *ABCB1* rs1045642 влияет на повышение частоты развития НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта (estimation -2,16, OR = 8,64, 95% CI OR: 1,78 – 42,01, p = 0,008). Чувствительность составляет 94,7%, специфичность – 67,56 %.

У носителей генотипа ТТ по полиморфизму *ABCB1* rs1045642 чаще выявляется токсичность метотрексата со стороны центральной нервной системы (p = 0,008, чувствительность составляет 57,14%, специфичность – 23,4 %). Носительство генотипа ТТ по полиморфизму *SLCO1B1* rs4149056 влияет на повышение частоты развития гепатотоксического действия метотрексата

(estimation -1,49, OR = 4,452, 95% CI OR: 1.084 - 1.804, p = 0.028). Чувствительность составляет 85,71%, специфичность – 57,41%.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использование фармакогенетического исследования по полиморфизму *ABCB1* rs1045642 обеспечит повышение безопасности терапии пациентов с псориазом, получающих метотрексат, так как носители минорного аллеля Т имеют повышенный риск развития нежелательных лекарственных реакций, связанного, вероятно, с генетически детерминированным замедлением выведения метотрексата

2. Использование фармакогенетического исследования по полиморфизму *SLCO1B1* rs4149056 обеспечит повышение безопасности терапии пациентов с псориазом, получающих метотрексат, так как гомозиготы ТТ имеют повышенный риск развития гепатотоксичности, связанный, вероятно, с генетически детерминированным ускоренным захватом метотрексата клетками печени, его внутриклеточным накоплением и прямым гепатотоксическим действием метотрексата и его полиглутаматов.

### СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Асоскова А.В.** Вопросы безопасности применения метотрексата в терапии псориаза / **А.В. Асоскова**, Д.А. Сычев, А.А. Кубанов // Вестник РАМН – 2021. Т. 76 (3) – С. 254 – 267
2. Кубанов, А.А. Фармакогенетический подход к прогнозированию безопасности терапии метотрексатом у больных псориазом / А.А. Кубанов, **А.В. Асоскова**, Д.А. Сычев // Российский журнал кожных и венерических болезней – 2021. Т. 24 (2) – С. 119 – 132
3. Галлямова Ю.А. Метотрексат в дерматологии: от теории к практике / Ю.А. Галлямова, **А.В. Асоскова** // Лечащий Врач – 2021. Т. 5 – С. 46 – 51
4. Кубанов, А.А. Влияние полиморфизма 3435 С>Т гена *ABCB1* на безопасность терапии метотрексатом пациентов с псориазом / А.А. Кубанов., **А.В. Асоскова**, М.С. Застрожин и соавт. // Вестник дерматологии и венерологии – 2023. Т. 99 (1) – С. 25 – 33

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

НЛР – нежелательные лекарственные реакции

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт