

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО  
ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
НЕПРЕРЫВНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

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)

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**  
доктор медицинских наук,  
профессор, академик РАН,  
Кубанов Алексей Алексеевич

доктор медицинских наук,  
профессор, академик РАН,  
Сычев Дмитрий Алексеевич

Москва – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	12
1.1 Метотрексат в терапии псориаза .....	12
1.2 Фармакокинетические и фармакодинамические характеристики метотрексата.....	14
1.2.1 Фармакокинетика метотрексата .....	14
1.2.2 Метаболизм метотрексата .....	15
1.2.3 Экскреция метотрексата.....	16
1.3 Цитотоксическое и противовоспалительное действие метотрексата при псориазе.....	17
1.4 Нежелательные лекарственные реакции при терапии метотрексатом .....	20
1.4.1 Токсичность метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта .....	21
1.4.2 Гепатотоксическое действие метотрексата .....	22
1.4.2.1 Механизм гепатотоксического действия метотрексата .....	22
1.4.2.2 Факторы риска гепатотоксичности метотрексата.....	23
1.4.2.3 Мониторинг состояния печени при терапии метотрексатом.....	24
1.4.3 Гематологические нарушения при терапии метотрексатом .....	26
1.4.3.1 Факторы риска гематологической токсичности .....	26
1.4.3.2 Мониторинг состояния системы кроветворения при терапии метотрексатом .....	27
1.4.4 Токсическое действие метотрексата на дыхательную систему .....	27
1.4.5 Нефротоксическое действие метотрексата.....	28
1.4.6 Влияние метотрексата на иммунный ответ организма .....	29
1.4.7 Токсическое влияние метотрексата на репродуктивную систему .....	29
1.4.8 Влияние метотрексата на развитие злокачественных новообразований.....	30
1.4.9 Токсическое действие метотрексата на кожу.....	30
1.4.10 Нейротоксичность метотрексата .....	31
1.4.11 Токсическое влияние метотрексата на костную систему .....	32
1.5 Настороженность в отношении токсичности препарата.....	32
1.6 Противопоказания к применению метотрексата .....	33
1.7 Терапевтические подходы к уменьшению риска НЛР .....	34
1.8 Роль фармакогенетики в прогнозировании токсичности метотрексата .....	35
1.9 Влияние генетических полиморфизмов в генах белков-транспортёров метотрексата на безопасность терапии .....	37
1.9.1 Генетический полиморфизм <i>ABCBI</i> и его влияние на профиль безопасности метотрексата ...	38
1.9.2 Генетический полиморфизм <i>SLCO1B1</i> и его влияние на профиль безопасности метотрексата .....	39
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	41
2.1 Обоснование включения и исключения участников в исследование .....	41
2.2 Дизайн клинического исследования .....	42
2.3 Характеристика обследованных групп пациентов .....	43
2.4 Клинические методы исследования .....	46
2.5 Лабораторные методы исследования .....	49
2.5.1 Методика генотипирования. Определение носительства полиморфизмов rs1045642 гена <i>ABCBI</i> , rs4148738 гена <i>ABCBI</i> , rs4149056 гена <i>SLCO1B1</i> .....	49
2.5.1.1 Выделение ДНК из образцов цельной венозной крови.....	50
2.5.1.2 Проведение аллель-специфичной ПЦР .....	51

2.6. Статистические методы.....	54
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>56</b>
3.1 Нежелательные лекарственные реакции, наблюдавшиеся у пациентов с псориазом при терапии метотрексатом.....	56
3.1.1 Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта .....	58
3.1.2 Нефротоксичность метотрексата.....	61
3.1.3 Гепатотоксичность метотрексата .....	61
3.1.4 Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы .....	63
3.1.5 Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата .....	64
3.1.6 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по классификации, применяемой программой ВОЗ по международному мониторингу лекарств .....	65
3.1.7 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по категории вреда, причиненного здоровью пациента.....	66
3.1.8 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по предотвратимости.....	66
3.1.9 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по степени достоверности связи «нежелательная лекарственная реакция – лекарство» .....	67
3.2 Изучение влияния полиморфизмов генов <i>ABCB1</i> (rs1045642, rs4148738) и <i>SLCO1B1</i> (rs4149056) на безопасность терапии метотрексатом.....	67
3.2.1 Анализ частоты распределения аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов <i>ABCB1</i> (rs1045642, rs4148738) и <i>SLCO1B1</i> (rs4149056) у пациентов с псориазом, получавших метотрексат .....	67
3.2.2 Сопоставление распределения полиморфизмов генов <i>ABCB1</i> (rs1045642, rs4148738) и <i>SLCO1B1</i> (rs4149056) в популяции больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза и других популяциях .....	69
3.2.3 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> C3435T rs1045642 на безопасность терапии .....	74
3.2.3.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа <i>ABCB1</i> C3435T rs1045642 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам .....	74
3.2.3.2 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs1045642 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта .....	75
3.2.3.3 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs1045642 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы.....	82
3.2.3.4 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs1045642 на возникновение нефротоксического действия метотрексата.....	87
3.2.3.5 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs1045642 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата.....	88
3.2.3.6 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs1045642 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата .....	89
3.2.4 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs4148738 на безопасность терапии.....	90
3.2.4.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа <i>ABCB1</i> rs4148738 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам .....	90
3.2.4.2 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCB1</i> rs4148738 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта .....	91

3.2.4.3 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCBI</i> rs4148738 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы.....	93
3.2.4.4 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCBI</i> rs4148738 на возникновение нефротоксического действия метотрексата.....	95
3.2.4.5 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCBI</i> rs4148738 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата.....	96
3.2.4.6 Анализ влияния полиморфизма <i>ABCBI</i> rs4148738 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата.....	97
3.2.5 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> 5 rs4149056 на безопасность терапии.....	98
3.2.5.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам.....	98
3.2.5.2 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта.....	99
3.2.5.3 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы.....	101
3.2.5.4 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 на возникновение нефротоксического действия метотрексата.....	102
3.2.5.5 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата.....	103
3.2.5.6 Анализ влияния полиморфизма <i>SLCO1B1</i> *5 rs4149056 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата.....	105
3.3 Изучение влияния внешних факторов на безопасность терапии метотрексатом.....	106
3.3.1 Анализ влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на возникновение нежелательных лекарственных реакций.....	107
3.3.2 Анализ влияния сопутствующей патологии на возникновение нежелательных лекарственных реакций.....	111
3.4 Изучение влияния генетических и клинико-анамнестических факторов на эффективность терапии метотрексатом у пациентов с псориазом.....	117
3.5 Алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования.....	123
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	124
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	132
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	135
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b> .....	136
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	137

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность и степень разработанности темы исследования**

Метотрексат (4-дезоксиглютаминовая кислота) зарекомендовал себя как высокоэффективное лекарственное средство, однако, у многих пациентов на фоне лечения возникают нежелательные лекарственные реакции, в некоторых случаях приводящие к необходимости отмены препарата [Чикин В.В. и др., 2014; Кубанов А.А. и др., 2023]. Именно токсическое действие препарата, а не недостаточная его эффективность у большинства пациентов, является основным фактором, ограничивающим его применение [Grželj, J. et al., 2021]. Несмотря на то, что, как правило, нежелательные лекарственные реакции метотрексата не представляют серьезной угрозы здоровью пациентов, и снижение дозы метотрексата приводит к их устранению, 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 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

В связи с тем, что для терапии псориаза используются низкие дозы метотрексата, использование измерения концентрации метотрексата в плазме крови для прогнозирования токсичности препарата не имеет клинической значимости [Асоскова А.В. и др., 2021; Кубанов А.А. и др., 2023]. В настоящее время не существует алгоритма, способного предсказать индивидуальный ответ пациента на терапию [Redenšek, S. et al., 2017]. На ответ на терапию метотрексатом могут влиять режим дозирования препарата, комплаентность пациента, возраст, пол, индекс массы тела, этническая принадлежность пациента, тяжесть течения псориаза, наличие сопутствующих заболеваний, употребление алкоголя, курение, а также межлекарственные взаимодействия [Romão V. et al., 2016]. Однако в последнее время большое внимание уделяется роли генетических факторов в индивидуальной переносимости терапии псориаза [Ray-Jones H. et al., 2016; Sutherland A. et al., 2016; Redenšek, S. et al., 2017; Camela, E. et al., 2022; Кубанов А.А. и др., 2023].

Установлено, что около половины «неблагоприятных» ответов человеческого организма на лекарственное средство определяется генетическими особенностями пациентов. Фармакогенетические исследования позволяют выявить клинически значимые генетические полиморфизмы, способные оказывать влияние на безопасность лечения метотрексатом, и прогнозировать ответ на терапию и тяжесть токсических явлений при лечении метотрексатом

[Сычѳв Д.А. и соавт., 2011; Camela, E. et al., 2022]. В связи с этим, выявление фармакогенетических предикторов токсичности метотрексата у больных псориазом является актуальным, так как позволяет прогнозировать ответ на терапию и тяжесть токсических явлений при лечении метотрексатом [Кубанов А.А. и др., 2021; Кубанов А.А. и др., 2023].

### **Цель и задачи**

Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования стала 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 *ABCB1*(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 *ABCB1*(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**

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 *ABCB1*(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 *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1*(rs4149056).

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

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

Научные результаты, представленные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно на базе кафедры дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

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.

Автором самостоятельно осуществлялся набор пациентов, динамическое наблюдение за ними. Была самостоятельно проведена подготовка биологического материала пациентов для дальнейшего исследования. Автором самостоятельно проводилось ведение электронной базы данных. Полученные автором результаты систематизированы, проанализированы и статистически обработаны.

Была проведена оценка безопасности терапии метотрексатом, определила частоту 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). Автором разработан алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования. Автором предложены рекомендации по прогнозированию безопасности терапии метотрексатом у пациентов с псориазом.

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.

### **Методология и методы исследования**

В ходе работы проведен клинико-anamnestический анализ пациентов, оценка безопасности терапии метотрексатом, определена частота и выраженность нежелательных лекарственных реакций при помощи актуальных клинических и лабораторных методов, а том числе с применением специализированных шкал и опросников. Молекулярно-генетическое исследование – определение генетических полиморфизмов *ABCBI* rs1045642, rs4148738 и *SLCO1B1* rs4149056 – было осуществлено при помощи методики генотипирования в режиме реального времени. Анализ результатов исследования проводился при помощи современных методов статистической обработки.

### **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 *ABCBI* 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, 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 генов белков-переносчиков, участвующих в процессе биотрансформации метотрексата, перед его назначением.

2. Установлено, что носительство минорного аллеля T по полиморфизму rs1045642 гена *ABCB1* и «дикого» генотипа CC 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 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, а носительство «дикого» аллеля T 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.

#### **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».

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.

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

Достоверность полученных в ходе диссертационного исследования результатов обусловлена применением международных валидизированных шкал, использованные информативных и являются научно обоснованных методы лабораторной диагностики, применением новейших рекомендованных методов генотипирования, а также выбором и использованием адекватных методов медико-биологической статистики (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  $p < 0,05$  (при статистической мощности  $> 80\%$ ); для сравнения двух выборок количественных данных использовали t-тест Стьюдента либо его непараметрический аналог: U-тест Манна-Уитни (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 Джонкхира-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).

Проведение исследования одобрено Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 9 от 13 ноября 2018 года.

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

работников здравоохранения «ЗОНТ: здоровье, образование, наука, технологии» (2022 г.). Аprobация 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.

#### **Публикации по теме диссертации**

Материалы диссертации изложены в 4 научных работах, в том числе – 2 статьях в рецензируемом журнале, входящем 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.

#### **Структура и объем диссертации**

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

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Метотрексат в терапии псориаза

Псориаз – хроническое системное иммуноопосредованное заболевание мультифакториального генеза с доминирующей ролью генетических факторов, характеризующееся ускоренной пролиферацией эпидермоцитов и нарушением их дифференцировки, иммунными реакциями в дерме и синовиальных оболочках, дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами и хемокинами, частыми патологическими изменениями опорно-двигательного аппарата [Кубанов А.А. и др., 2020]. Псориаз относится к числу наиболее распространенных заболеваний кожи. Согласно данным эпидемиологических исследований, распространенность псориаза в мире колеблется от 0,09 до 11,43% [WHO Library, 2016]. По данным официальной государственной статистики в Российской Федерации распространенность псориаза в 2018 году составляет 242,4 заболевания на 100 тысяч населения; заболеваемость – 66,5 на 100 тысяч населения [Кубанов А.А. и др., 2020].

Псориаз является хроническим рецидивирующим заболеванием, и целью терапии псориаза является получение контроля над течением заболевания и сведение к минимуму нежелательных лекарственных реакций за счет применения препаратов, которые обеспечивают поддержание длительной ремиссии и хорошо переносятся пациентами [Lebwohl M., 2005].

Одним из препаратов выбора для системного лечения среднетяжелых и тяжелых форм псориаза: вульгарного псориаза, резистентном к проводимой терапии, пустулезного псориаза, псориазической эритродермии, псориазическом артрите является метотрексат [Чикин В. В. и др., 2014].

Метотрексат (4-дезоксигидро-4-амино-10-метилфолиевая кислота) является высокоэффективным лекарственным средством и уже более 50 лет успешно используется для лечения заболеваний кожи [Edmudson W., 1958]. Его эффективность в лечении псориаза была случайной находкой: в 1951 году ученый Губнер заметил значительный регресс псориазических высыпаний у онкологических пациентов, для лечения которых применялся цитотоксический препарат из группы антиметаболитов аминотрептин- первый антагонист фолиевой кислоты, ингибирующий синтез пуриновых и пиримидиновых оснований в клетке, синтезированный в 1940-х годах. Это стало стимулом для разработки его менее токсичного аналога – метотрексата

[Weinstein G., 1971]. Впервые метотрексат был применен для лечения псориаза в 1972 году. Препарат был показан пациентам с тяжелыми формами псориазом и псориатического артрита, резистентным к наружной терапии и фототерапии, и показал высокую эффективность при лечении псориатической эритродермии и пустулезного псориаза [Асоскова А.В. и др., 2021].

Эффективность метотрексата доказана также для лечения псориатического артрита: при применении препарата наблюдается уменьшение как симптомов периферического артрита [Black R. et al., 1964], так и псориатических высыпаний [Асоскова А.В. и др., 2021]. При этом, для лечения псориатического артрита используется тот же режим дозирования препарата, что и для лечения псориаза [Zachariae H. et al., 1987; Kragballe K. et al., 1983]. Кроме того, применение метотрексата приводит к значительному уменьшению проявлений псориатической ониходистрофии [Nyfors A., 1978].

Для лечения псориаза и псориатического артрита препарат используется как в качестве монотерапии, так и в сочетании с системными иммунобиологическими препаратами [Gottlieb A. et al., 2012]: комбинация препаратов позволяет использовать иммунобиологические препараты и метотрексат в более низких дозировках [Асоскова А.В. и др., 2021].

Таким образом, несмотря на появление новых эффективных препаратов для лечения псориаза, метотрексат остается актуальным средством для лечения различных форм псориаза как в качестве монотерапии, так и в комбинации с другими методами [Yélamos O. et al., 2015].

В настоящее время метотрексат применяется также для лечения других дерматологических заболеваний, к которым относятся васкулиты, буллезные дерматозы и лимфопролиферативные заболевания [Shen S. et al., 2012].

При лечении псориаза метотрексат назначают один раз в неделю перорально или парентерально. Начальная доза препарата составляет 7,5 – 10 мг в неделю и при необходимости может быть увеличена до 30 мг в неделю [Асоскова А.В. и др., 2021].

Парентеральное введение метотрексата, преимущественно в виде подкожных инъекций, является наиболее предпочтительным ввиду лучшей клинической эффективности и переносимости [Menting S. et al., 2016].

Положительная динамика со стороны кожного патологического процесса отмечается спустя несколько недель после начала терапии, а стабильное улучшение отмечается, как правило после 2 – 3 месяцев терапии. При достижении терапевтического эффекта возможна поддерживающая терапия в минимальной эффективной дозе [Кубанов А.А. и др., 2020].

Поскольку пациенты с псориазом часто вынуждены применять метотрексат в течение длительного времени, изучение вопросов безопасности терапии является весьма актуальной задачей [Асоскова А.В. и др., 2021].

## 1.2 Фармакокинетические и фармакодинамические характеристики метотрексата

### 1.2.1 Фармакокинетика метотрексата

При пероральном применении метотрексат абсорбируется в проксимальном отделе тощей кишки за счет протон-сопряженного переносчика фолатов PCFT, кодируемого геном SLC46A1. Биодоступность метотрексата достаточно высока и составляет 64 – 90% [Асоскова А.В. и др., 2021]. Биодоступность метотрексата зависит от индивидуальных особенностей пациента и функционирования белков-переносчиков метотрексата, осуществляющих его всасывание. Результаты некоторых исследований [Hoekstra M. et al., 2004; Schiff M. et al., 2014; Hillson J. et al., 1997], показали более высокую биодоступность метотрексата при внутривенном введении по сравнению с пероральным применением. При пероральном применении биодоступность метотрексата может снижаться с увеличением дозы препарата и демонстрировать эффект плато при применении дозировки препарата выше 15 мг в неделю [Асоскова А.В. и др., 2021]. Более низкая биодоступность метотрексата при пероральном применении может быть объяснена вариабельностью уровня всасывания препарата в кишечнике, а также эффектом «первого прохождения» – пресистемного метаболизма, проявляющегося в инактивации лекарственного средства в кишечнике до его попадания в системный кровоток. Кроме того, показано, что при парентеральном введении препарата концентрация препарата повышается линейно и дозозависимо, а также не наблюдается эффекта плато [Schiff M. et al., 2014]. Биодоступность метотрексата напрямую связана с эффективностью терапии: в основе антифолатного действия препарата лежит связь метотрексата и его активного метаболита с ферментом дегидрофолатредуктазой, однако, эта связь является обратимой, и для ее поддержания необходимо присутствие большого количества молекул метотрексата [Асоскова А.В. и др., 2021]. В случае низкой биодоступности препарата (например, при пероральном применении), связь может быть нарушена, активность дегидрофолатредуктазы восстановлена и эффективность метотрексата может быть недостаточной [Бакулев А., 2017].

Около 50% молекул метотрексата связываются с белками плазмы крови [Paxton J., 1981]. В связи с этим, на эффективность и безопасность терапии может повлиять прием препаратов, для которых характерен такой же вид транспорта, в частности, салицилатами, тетрациклином, фенитоином, оральными контрацептивами [Tracy T. et al., 1994]. Этот факт

следует учитывать при прогнозировании токсичности метотрексата: при одновременном назначении с препаратами, снижающими почечную экскрецию метотрексата, концентрация метотрексата в плазме повышается, что может привести к повышению риска возникновения НЛР [Yélamos O. et al., 2014].

В желудочно-кишечном тракте метотрексат абсорбируется путем активного транспорта при помощи восстановленного переносчика фолатов (RFC) и протон-сопряженного переносчика фолатов PCFT, расположенными на апикальной мембране энтероцитов [Whetstone J. et al., 2001]. Биодоступность метотрексата также зависит от переносчиков семейства ABC, которые транспортируют молекулы метотрексата из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта и в кровь [Inoue K. et al., 2014].

При применении метотрексата вместе с приемом пищи не было обнаружено существенных изменений в биодоступности препарата, однако биодоступность метотрексата может снижаться у пациентов с мальабсорбцией, а также при наличии генетических полиморфизмов в генах, кодирующих белки-переносчики метотрексата [Hayashi H. et al., 2013; Ando Y. et al., 2013].

### 1.2.2 Метаболизм метотрексата

Установлены три основные пути метаболизма метотрексата: менее 5% метаболизируются бактериями кишечника под воздействием 4-амино-4-дезоксиптероевой кислоты, менее 10% трансформируются в 7-гидроксиметотрексат, и большая часть молекул метотрексата и 7-гидроксиметотрексат полимеризуются в полиглутаматную форму [Kremer J. et al., 1986].

В клетке метотрексат с помощью фермента фолилполиглутаматредуктазы переходит в полиглутаматную форму за счет добавления семи глутаматных остатков. При этом с увеличением числа включенных в молекулу остатков глутаминовой кислоты ингибирующая способность полиглутаматной формы метотрексата возрастает многократно. Выведение метотрексата осуществляется переносчиками семейства ABC (преимущественно ABC1-5, ABCG-2) [Hider S. et al., 2007]. Поскольку переносчики семейства ABC обладают способностью выводить из клетки только молекулы, имеющие в своем составе не более трех глутаматных остатков, полиглутаматная форма задерживается в клетке. Именно внутриклеточное накопление полиглутаматов метотрексата дает возможность назначать препарат один раз в

неделю, несмотря на его относительно короткий период полувыведения, который в среднем составляет 4.5 – 10 часов [Brown P. et al., 2016].

Процесс добавления глутаматных остатков уравнивается за счет гидролиза концевых остатков полиглутаматов при помощи фермента гамма-глутамилгидролазы (GGH), также известной как фолилполиглутаматгидролаза (FPGH) [Brown P. et al., 2016]. Таким образом, обеспечивается возможность выведения полиглутаматов из клетки, и концентрация молекул метотрексата и его полиглутаматной формы в клетке остается относительно постоянной. При этом, высокий уровень GGH ассоциирован с клеточной резистентностью к метотрексату [Murakami T. et al., 2012].

### 1.2.3 Экскреция метотрексата

Значительная часть молекул метотрексата выводится почками за счет клубочковой фильтрации при участии транспортера органических анионов-3 (OAT3) [VanWert A. et al., 2007], а также подвергается канальцевой секреции и реабсорбции [Inoue K. et al., 2014]. Роль клубочковой фильтрации в метаболизме метотрексата существенна: при почечной недостаточности клиренс метотрексата может снижаться с 84.6 до 2.8 мл/мин/м<sup>2</sup>. Часть молекул метотрексата (от 10 до 30%) экскретируются в желчь и реабсорбируются в кишечнике в процессе энтерогепатической рециркуляции [Inoue K. et al., 2014; Kremer J. et al., 1995].

Процесс выведения молекул метотрексата обеспечивается белками-переносчиками клеток почечных канальцев, печени, и энтероцитов: его интенсивность зависит от функционирования этих белков [Асоскова А.В. и др., 2021].

Наличие мутаций в генах, кодирующих белки-переносчики метотрексата, ответственные за его всасывание, распределение и выведение из организма, и изменение функций этих белков напрямую сказывается на проявлении эффектов препарата, что может выражаться в изменении как его эффективности, так и безопасности. В связи с этим, фармакогенетические исследования являются весьма перспективными для прогнозирования ответа на терапию метотрексатом [Асоскова А.В. и др., 2021].



### 1.3 Цитотоксическое и противовоспалительное действие метотрексата при псориазе

Многие годы считалось, что основой действия метотрексата при псориазе является его цитотоксический и антифолатный эффект. Однако результаты недавних исследований позволили установить, что основное действие метотрексата осуществляется за счет его активного метаболита – полиглутаматной формы, и расширение знаний об полиглутаматной форме метотрексата позволило установить новые механизмы действия препарата [Асоскова А.В. и др., 2021].

Полиглутаматная форма метотрексата ингибирует ряд ключевых ферментов, задействованных во внутриклеточном метаболизме фолатов: дигидрофолатредуктазу (DHFR), которая является коферментом и играет роль переносчика одноуглеродных групп во многих ферментативных реакциях и необходима для восстановления дигидрофолиевой кислоты до тетрагидрофолиевой кислоты, метилентетрагидрофолатредуктазу (MTHFR), метаболизирующую гомоцистеин в метионин, который необходим в организме для реакций метилирования, включая метилирование ДНК и белков, тимидилатсинтетазу (TYMS), участвующую в биосинтезе пиримидинов, а также аминоксазол-карбоксамил-рибонуклеозид-трансформилазы (AICAR- трансформилазы), участвующую в биосинтезе пуринов. Таким образом реализуется цитостатическое действие метотрексата: нарушается синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов (предшественников ДНК и РНК), необходимых для клеточной пролиферации [Chan E. et al., 2010]. Метотрексат истощает внутриклеточные запасы активированного фолата, тем самым нарушая репликацию клеток, что приводит к уменьшению пролиферации клеток эпидермиса.

Метотрексат оказывает действие только в S-фазе клеточного цикла, что определяет его активность в отношении тканей с высокой скоростью пролиферации клеток. Этот антипролиферативный эффект метотрексата применяется при лечении онкологических заболеваний высокими дозами препарата. Кроме того, установлено, что цитотоксическому действию метотрексата подвержены и клеточные линии макрофагов и лимфоидных клеток [Chan E. et al., 2010]. Так, было доказано, что низкие дозы метотрексата снижают пролиферацию Т-лимфоцитов [Fairbanks L. et al., 1999]. В частности, Genestier и соавторы доказали, что метотрексат ингибирует антиген-опосредованную пролиферацию Т-клеток за счет индукции апоптоза [Genestier L. et al., 1998]. Однако, нарушение пролиферации Т-лимфоцитов было полностью обратимо при назначении тимидина или фолиевой кислоты. Тот факт, что назначение фолиевой кислоты не сказывается на эффективности терапии

метотрексатом, позволяет предположить иные механизмы действия препарата [Prey S. et al., 2009].

Одним из ферментов-мишеней активного метаболита метотрексата является AICAR-трансформилаза. Ингибирование этого фермента приводит к реализации недавно описанного механизма действия метотрексата – противовоспалительного. Ингибирование AICAR-трансформилазы приводит не только к нарушению синтеза пуринов и метилирования ДНК, но и к увеличению содержания в клетке аминоксазол-карбоксамил-рибонуклеозида, что ведет к увеличению внутриклеточного и внеклеточного количества аденозина, обладающего выраженным эндогенным противовоспалительным действием [Montesinos M. et al., 2006].

Аденозин высвобождается в межклеточное пространство и уменьшает оксидативный взрыв нейтрофилов и моноцитов, снижает хемотаксис лейкоцитов и подавляет секрецию медиаторов воспаления и провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$ ) и активность моноцитов, макрофагов и Т-лимфоцитов [Haskó G., 2004].

Кроме того, аденозин снижает экспрессию молекул адгезии, а именно L-селектина, V $\beta$ 2-интегрина и CD11b, тем самым уменьшая хемотаксис и адгезию полиморфно-ядерных лейкоцитов. Рецепторы аденозина были обнаружены в клетках эндотелия, которые могут считаться одними из мишеней действия аденозина [Haskó G., 2004].

Интересно отметить, что кофеин является неселективным антагонистом аденозиновых рецепторов, и на крысиных моделях было доказано, что кофеин снижает эффект метотрексата [Montesinos M. et al., 2000]. Neshet и соавторы подтвердили гипотезу и выявили аналогичную закономерность у пациентов, принимающих метотрексат [Neshet G. et al., 2003]. Однако, этот вопрос все еще остается спорным, так как результаты других исследований не подтвердили влияние кофеина на эффективность и безопасность терапии метотрексатом [Benito-Garcia E. et al., 2006].

Механизм противовоспалительного действия метотрексата является более комплексным и не ограничивается аденозин-опосредованным эффектом. Установлено, что метотрексат также подавляет иммунные реакции, обусловленные активацией c5a-компонента системы комплемента и лейкотриен-B $_4$  опосредованное интраэпидермальное накопление нейтрофильных гранулоцитов [Cronstein B. et al., 1993]. Meephansan и соавторы в недавнем исследовании установили, что метотрексат способен существенно снижать уровень ИЛ-22-цитокина, способствующего пролиферации кератиноцитов и поддержанию воспалительных процессов в дерме при псориазе [Meephansan J. et al., 2011]. Ещё одним недавно описанным механизмом действия метотрексата при псориазе является подавление рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом (PPAR)-активируемых лигандами ядерных транскрипционных факторов из семейства гормональных рецепторов, вовлеченных в патогенез

воспалительных реакций при псориазе: метотрексат снижает уровень мРНК активированного рецептора PPAR  $\beta/\delta$  [El Eishi N. et al., 2011].

Выявлено, что метотрексат оказывает влияние на несколько сигнальных путей, регулирующих экспрессию генов при участии транскрипционных факторов.

В работах, выполненных на мышинных моделях, а также в исследованиях, проведенных с участием пациентов с ревматоидным артритом, было установлено, что метотрексат снижает уровни ФНО- $\alpha$ , IL1  $\beta$ , молекул адгезии (E-селектина и VCAM-1) [Neurath M. et al., 1999].

Согласно данным новейших исследований, метотрексат является блокатором Jak-STAT [Thomas S. et al., 2015] сигнального пути, опосредующего активацию иммунокомпетентных клеток и передачу сигнала от целого ряда провоспалительных цитокинов и интерлейкинов: IL-6, IL-15, IL-21, IL-23, IL-2, IFN $\gamma$ , IL-12, играющих существенную роль в патогенезе псориаза [Torres T. et al., 2015; Ghoreschi K. et al., 2013].

Кроме того, так как предполагается, что несмотря на то, что JAK-STAT сигнальный путь не вовлечен в реализацию действия провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ1 $\alpha/\beta$ , ИЛ17 и некоторых других), играющих фундаментальную роль в иммунопатогенезе псориаза, их регуляция и биологические эффекты [Насонов Е. Л. и др., 2019] могут напрямую или опосредованно быть связаны с JAK-STAT путем, как на молекулярном уровне, так и на клеточном уровне. Доказано, что метотрексат подавляет фосфорилирование JAK1, JAK2, STAT1 и STAT5 [Thomas S. et al., 2015]. Также установлено, что низкие дозы метотрексата снижают уровень фосфорилированной формы STAT5. Важно отметить, что ингибирующий эффект метотрексата на JAK-STAT сигнальный путь не обусловлен его влиянием на метаболизм фолатов: даже в присутствии фолиевой кислоты подавление фосфорилирования STAT5 не было обратимым. Предполагается, что метотрексат оказывает ингибирующее действие только на патологическую гиперактивацию JAK-STAT сигнального пути при аутоиммунных воспалительных процессах и не влияет на физиологическое функционирование пути в отсутствии патологии [Thomas S. et al., 2015; Thomas S. et al., 2014].

Одним из возможных механизмов действия метотрексата является его влияние на окислительно-восстановительные процессы [Herman S. et al., 2005; Phillips D. et al., 2003]: было установлено, что низкие дозы метотрексата могут индуцировать апоптоз Т-клеток за счет высвобождения активных форм кислорода и активации Jun-амино-терминальной киназы (JNK-киназы), которые играют роль не только в гибели клеток, но и в процессах выработки цитокинов и клеточной пролиферации [Herman S. et al., 2005]. В исследованиях *In vitro* на Т-клеточных линиях Jurkat [Spurlock C. et al., 2014] был выявлен метотрексат-индуцированный апоптоз, который был обусловлен увеличенной продукцией активных форм кислорода.

Исследования, проведенные на человеческих клеточных линиях, показали, что метотрексат стимулирует продукцию активных форм кислорода, что приводит к активации, митоген-активированной протеинкиназы (МАР-киназы), JNK-киназы и JNK-опосредованной индукции белка p53, ингибирующего активацию транскрипционного фактора NF-κB, играющего существенную роль в развитии и поддержании аутоиммунного воспаления и пролиферации клеток. Метотрексат-индуцированная активация JNK-киназ приводит к увеличению экспрессии генов белков апоптоза, регулирующих аутовоспалительные процессы [Spurlock C. et al., 2014].

Несмотря на то, что точные механизмы влияния метотрексата на внутриклеточные сигнальные пути до конца не изучены, такое действие препарата может ключом к пониманию противовоспалительного действия низких доз метотрексата при лечении псориаза [Асоскова А.В. и др., 2021].

#### **1.4 Нежелательные лекарственные реакции при терапии метотрексатом**

Метотрексат зарекомендовал себя как высокоэффективное лекарственное средство, однако, у половины пациентов на фоне лечения возникают нежелательные лекарственные реакции (НЛР): в среднем 28.3% пациентов отмечают развитие НЛР [West J. et al., 2016]. У 10 – 30% пациентов токсическое действие метотрексата приводит к необходимости отмены препарата [Pathirana D. et al., 2009]. В исследовании Levin A и соавт. было установлено, что 75% пациентов с псориазом вынуждены прекратить терапию в течение 143 дней лечения вследствие возникновения нежелательных лекарственных реакций [Levin A. et al., 2014]. Именно токсическое действие препарата, а не недостаточная его эффективность у большинства пациентов, является основным фактором, ограничивающим его применение [Romão, V. et al., 2014; Grželj J. et al., 2021].

В основе патогенеза большинства НЛР метотрексата лежит его цитотоксическое влияние на быстроделющиеся клетки организма, а именно, угнетение метаболизма фолатов в тканях с высокой пролиферацией клеток, имеющих высокую потребность в пуринах, тимидине и метионине, в первую очередь, клетки костного мозга, эпителия желудочно-кишечного тракта и гепатоциты [Wang W. et al., 2018] Однако, более глубокое изучение молекулярного механизма действия метотрексата и его новых свойств, в частности, его противовоспалительной

активности, позволило объяснить патогенез ряда НЛР этого препарата [Асоскова А.В. и др., 2021].

#### 1.4.1 Токсичность метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта

Наиболее частыми нежелательными лекарственными реакциями метотрексата являются нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта: у 18.2% пациентов отмечается тошнота и рвота, у 11.1% пациентов обнаруживаются изъязвления слизистой оболочки полости рта и другие мукозиты: гингивиты, язвенные стоматиты, энтериты. 7,5% пациентов отмечают возникновение абдоминальных болей, 6.6% – функциональных расстройств кишечника [West J. et al., 2016]. НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта значительным образом сказываются на качестве жизни пациентов, что в 13-28% случаев приводит к вынужденному прерыванию лечения [Yazici Y. et al., 2005].

Основным механизмом развития нежелательных лекарственных реакций при терапии метотрексатом является угнетение метаболизма фолатов в тканях с высокой пролиферацией клеток, имеющих высокую потребность в пуринах, тимидине и метионине. Поскольку эпителий желудочно-кишечного тракта характеризуется высокой скоростью обновления клеточной популяции, дефицит фолатов является основным механизмом в развитии этой группы нежелательных лекарственных реакций [Van Ede A. et al., 1998].

Однако, тот факт, что парентеральное назначение [Li D. et al., 2016] метотрексата существенно снижает риск НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, позволяет предположить наличие других механизмов, определяющих токсичность препарата. Существует гипотеза о влиянии высокого уровня гомоцистеина в плазме на возникновение этой группы НЛР [Tsukada T. et al., 2013].

На частоту развития НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта могут влиять генетические особенности пациента, а именно наличие полиморфизмов в генах, кодирующих белки-переносчики метотрексата. Согласно данным фармакогенетических исследований, у пациентов, имеющих мутации в генах, кодирующих белки *SLC19A1* и *SLCO1B1* (*SLC19A1* rs7499 GG/GA + *SLC19A1* rs1051266 GG/GA + *SLC19A1* rs2838956 AA/GA + *SLCO1B1* rs4149056 TT/CT) риск возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта возрастает в 9 раз по сравнению с пациентами, не являющихся носителями этих полиморфизмов [Lima A. et al., 2014].

### 1.4.2 Гепатотоксическое действие метотрексата

Гепатотоксичность метотрексата является одним из самых значимых НЛР препарата [Bedoui Y. et al., 2019]. Гепатотоксическое действие метотрексата проявляется, в основном, двумя группами нежелательных лекарственных реакций: повышением уровня печеночных ферментов и развитием структурных изменений печени (гепатозом, фиброзом, циррозом) [Conway R. et al., 2017].

Повышение уровня печеночных ферментов наблюдается в среднем у 10%, всех пациентов, принимающих метотрексат [West J. et al., 2016]. Ранее были опубликованы работы, определявшие риск развития фиброза печени у 25-50% пациентов, однако, согласно данным современных исследований, частота встречаемости таких структурных изменений на фоне приема метотрексата составляет от 0 до 4% [Themido R. et al., 1992; Saporito, F. et al., 2004]. Фиброз печени развивается, как правило, при длительном приеме метотрексата: такие структурные изменения печени наблюдаются у 25% пациентов, принимающих метотрексат более 5 лет [Themido R. et al., 1992].

#### 1.4.2.1 Механизм гепатотоксического действия метотрексата

При исследовании биоптатов печени у пациентов с ревматоидным артритом, получавшим терапию метотрексатом, было обнаружено накопление в клетках полиглутаматных форм метотрексата и дефицит фолатов, что может свидетельствовать о том, что гепатотоксичность метотрексата ассоциирована с истощением фолатов за счет действия полиглутаматных форм препарата [Kremer J. et al., 1986].

Считается, что синтез полиаминов, накопление аденозина и дезоксиаденозина, нарушение метаболизма гомоцистеина и пуринов также играют роль в формировании гепатотоксического действия метотрексата [Van Ede A. et al., 1998].

Поскольку наиболее вероятной причиной повышения уровней ферментов печени является накопление в клетках печени полиглутаматных форм препарата и дефицит фолатов, назначение фолиевой в течение 24-48 часов после приема препарата в дозировке не менее 5 мг в неделю снижает риск этих НЛР [Conway R. et al., 2017].

Причиной метотрексат-индуцированного фиброза печени, по результатам исследований на мышинных моделях, является стимуляция синтеза коллагена под влиянием накопления

аденозина: аденозин связывает аденозиновые A2 рецепторы на жирозапасающих звездчатых клетках печени (клетках Ито), которые являются потенциально фиброгенными и стимулируют выработку коллагена [Aithal, G. et al., 2004; Chan E. et al., 2006]. Ключевую роль аденозиновых A2 рецепторов в развитии фиброза печени подтвердили исследования на мышинных моделях, в которых у мышей с дефектом аденозиновых A2 рецепторов не развивались структурные изменения печени. Интересно отметить, что алкоголь вызывает фиброз печени по аналогичному аденозин-опосредованному механизму [Chan E. et al., 2006].

Стеатоз развивается в результате нарушения метаболизма гомоцистеина (синтеза метионина из гомоцистеина): его избыток запускает процесс накопления липидов клетками печени посредством нарушения функции эндоплазматического ретикулума («стресс» эндоплазматического ретикулума), а также оказывает активирующее влияние на жирозапасающие звездчатые клетки печени и провоспалительные цитокины [Ortega-Alonso A. et al., 2018].

Метотрексат запускает процесс перекисного окисления липидов, что приводит к синтезу активных форм кислорода и повреждению клеток печени: в исследовании на крысиных моделях было показано, что в клетках печени активируется перекисное окисление липидов и снижается уровень антиоксидантных ферментов [Vardi N. et al., 2010].

#### **1.4.2.2 Факторы риска гепатотоксичности метотрексата**

Имеются сообщения о том, что поражения печени на фоне лечения метотрексатом чаще наблюдаются у больных псориазом по сравнению с пациентами с ревматоидным артритом [Hassan, W., 1996].

Риск развития неалкогольного жирового гепатоза выше у пациентов с ожирением, сахарным диабетом и гиперлипидемией, и, соответственно, у этих пациентов выше риск гепатотоксичности метотрексата. Кроме того, важно понимать, что неалкогольный жировой гепатоз является частой коморбидностью псориаза, и применение метотрексата может усугубить его течение или спровоцировать его начало у пациентов, изначально предрасположенных к заболеванию [Langman G. et al., 2001].

Другими факторами риска повышенной гепатотоксичности метотрексата являются стойкое повышение уровня аминотрансфераз, употребление алкоголя, хронические заболевания печени (в частности, гепатиты В и С), прием гепатотоксичных препаратов или воздействие на организм гепатотоксичных веществ в анамнезе, наследственная предрасположенность к

генетически детерминированным заболеваниям печени (например, болезнь Вильсона-Коновалова, дефицит альфа-1-антитрипсина, гемохроматоз [Conway R. et al., 2017])

Были выявлены фармакогенетические предикторы высокого риска гепатотоксичности. Риск гепатотоксичности метотрексата возрастает при наличии у пациента полиморфизма rs34743033 в гене, кодирующем тимидилатсинтазу (фермент фолатного цикла, один из терапевтических мишеней метотрексата). Повышенный риск гепатотоксичности также отмечался чаще у носителей аллеля 80А гена, кодирующего белок SLC19A1 [Campalani E. et al., 2007]. По данным фармакогенетических исследований, проведенных в группах больных с ревматоидным артритом, было установлено, что носительство полиморфизмов в генах *SLCO1B1* и *ABCB1* повышает риск возникновения нежелательных лекарственных реакций, которые проявляются преимущественно нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта, гепатотоксичностью, а также нарушений со стороны кожи и слизистых оболочек [Treviño L. et al., 2009].

#### **1.4.2.3 Мониторирование состояния печени при терапии метотрексатом**

Для прогнозирования гепатотоксичности метотрексата, перед началом терапии необходимыми являются проведение общего анализа крови, определения уровня печеночных ферментов, серологические исследования для выявления биомаркеров гепатитов В и С, а также исключение других факторов риска повышенной гепатотоксичности, в том числе генетических. Поскольку препарат выводится почками и нарушение их функции может повысить риск гепатотоксичности, необходимым является оценка уровней креатинина и мочевины. Пациенты с хроническими заболеваниями печени, гиперлипидемией, сахарным диабетом, ожирением, принимавшие гепатотоксичные препараты, злоупотребляющие алкоголем, наиболее подвержены гепатотоксическому действию метотрексата и их состояние требует более тщательного мониторинга [Pathirana D. et al., 2009].

В первые годы применения метотрексата в дерматологической практике с целью мониторинга НЛР со стороны печени перед назначением препарата пациентам проводили биопсию печени. В 1988 году после одобрения применения метотрексата для лечения ревматоидного артрита Американским институтом ревматологии было рекомендовано отказаться от такого метода контроля безопасности метотрексата. Эти рекомендации были применены и при лечении пациентов с псориазом. Кроме того, многолетние наблюдения за больными, принимающими метотрексат длительно (более 20 лет) позволили исключить



необходимость биопсии печени как скринингового метода для контроля безопасности терапии [Каневская М. З. и др., 2013].

В настоящее время на первых этапах терапии считается достаточным регулярный контроль уровня аминотрансфераз в качестве раннего и надежного маркера поражения печени. В случае наличия факторов риска гепатотоксичности или отклонений в результатах биохимических показателей функций печени, рекомендуется проведение дополнительных специфических исследований, позволяющих оценить состояние печени. К ним относятся серологические функциональные тесты и эластографические исследования. Серологические тесты основаны на определении риска фиброза на основании общих и специфических биохимических показателей (уровня аминотрансфераз, альфа – 2 – макроглобулина, гаптоглобина, аполипопротеина А1, билирубина, гамма-глутамилтранспептидазы, и других лабораторных показателей (количество тромбоцитов) и индивидуальных данных пациента (возраст, вес, пол и других)) [Кубанов А.А. и др., 2020; Menter A. et al., 2020]. Некоторыми мировыми дерматологическими сообществами предлагается использовать в качестве маркера фиброза печени аминотерминальный пептид проколлагена III типа [Chalmers R. et al., 2005]. Считается, что прогностические показатели таких тестов сравнимы с биопсией печени [Thomas J. et al., 2005].

В случае существенных отклонений уровней аминотрансфераз и высокого риска фиброза печени по данным неинвазивных методов диагностики повреждений печени рассматривается вопрос о проведении более точных исследований для оценки эластичности печени: контролируемая импульсной УЗ-контролируемой эластографии [Menter A. et al., 2020] или эластографии под МРТ-контролем (для пациентов с индексом массы тела выше 40 кг/м<sup>2</sup>).

Также проведение этих тестов и исследований рекомендуется при достижении кумулятивной дозы препарата 3,5 – 4 г, поскольку риск гепатотоксичности возрастает у пациентов, получающих длительную терапию метотрексатом. При этом, для пациентов, имеющими факторы риска гепатотоксичности, некоторые мировые сообщества рекомендуют проводить эти исследования [Negrei C. et al., 2017; Thomas J. et al., 2005]. при достижении кумулятивной дозы в 1,0 – 1,5 г.

Только при невозможности исключить поражения печени по результатам этих неинвазивных исследований, рекомендуется решить вопрос о биопсии печени. Важно отметить, что решение о проведении биопсии печени принимается лишь после консультации гастроэнтеролога или гепатолога для исключения рисков самой процедуры [Negrei C. et al., 2017].

Подобный подход и доступность неинвазивных методов диагностики риска фиброза печени позволяет существенно сократить риски, обусловленные частым проведением биопсий в качестве скринингового метода исследования [Menter A. et al., 2020].

Рекомендуется определение уровней трансаминаз один раз в неделю в течение первого месяца применения метотрексата и каждые 2 недели в течение второго и третьего месяца терапии. После четвертого месяца терапии в случае отсутствия НЛР частоту проведения анализов крови возможно снизить до одного раза в 2-3 месяца [Кубанов А.А. и др., 2020]. Важно отметить, что при отсутствии отрицательной динамики со стороны биохимических показателей функции печени, дополнительные специфические исследования для выявления фиброза печени показаны не чаще, чем один раз в год, поскольку фиброз печени представляет собой длительно формирующийся процесс [Menter, A. et al., 2020].

### **1.4.3 Гематологические нарушения при терапии метотрексатом**

У некоторых пациентов возникают гематологические нарушения, такие как миелосупрессия, проявляющаяся в виде макроцитарной анемии, лейкопении, лимфопении, тромбоцитопении, гипогаммаглобулинемии и панцитопении. Частота развития лейкопении составляет в среднем 3.4 % [West J. et al., 2016]. У 2% пациентов лейкопения становится причиной отмены препарата.

Ретроспективное исследование 157 пациентов с псориазом, получавшим метотрексат в дозе 15 мг в неделю, наблюдение за которыми было проведено, показало, что гематологические НЛР выявлялись у 10 – 20% пациентов [Doogen-Greebe R. et al., 1994].

Установлено, что в основе механизма метотрексат-индуцированной тромбоцитопении лежит высвобождение свободных радикалов кислорода, активирующих с-Jun-NH<sub>2</sub>-концевые протеинкиназы (JNK), которые задействованы в инициации апоптоза тромбоцитов [Paul M. et al., 2015].

#### **1.4.3.1 Факторы риска гематологической токсичности**

Особенную настороженность врачу следует проявлять в отношении пациентов, имеющих факторы риска гематологической токсичности метотрексата: людей пожилого возраста, с почечной недостаточностью, гипоальбуминемией, нарушающим режим приема

препарата или фолиевой кислоты, употребляющим алкоголь. У пациентов, имеющих факторы риска, при применении низких доз метотрексата (7,5 мг в неделю) были описаны случаи панцитопении и тромбоцитопении даже после единичной инъекции [Singh A. et al., 2020].

#### **1.4.3.2 Мониторирование состояние системы кроветворения при терапии метотрексатом**

Пациентам без факторов риска рекомендуется мониторинг показателей крови один раз в неделю в течение первого месяца применения метотрексата и каждые 2 недели в течение второго и третьего месяца терапии. После четвертого месяца терапии в случае отсутствия НЛР частоту проведения анализов крови возможно снизить до одного раза в 2-3 месяца [Кубанов А.А. и др., 2020]. Следует учитывать, что спустя 4 – 6 недель после увеличения дозировки метотрексата возрастает риск гематологических НЛР: в этот период необходимо тщательно отслеживать состояние пациента [Кубанов А.А. и др., 2020].

Поскольку нарушение функционирования почек является одним из самых серьезных факторов, предрасполагающих к развитию НЛР, рекомендуется определение скорости клубочковой фильтрации у пациентов пожилого возраста и с пониженной массой тела, даже если показатели креатинина и азота мочевины в крови являются нормальными. В случае, если у пациента имеется нарушение функционирования почек, каждому последующему приему метотрексата и увеличению его дозировки должно предшествовать получение результатов анализов, не выявляющих отрицательной динамики [Кубанов А.А. и др., 2020].

#### **1.4.4 Токсическое действие метотрексата на дыхательную систему**

У пациентов, принимающих метотрексат, повышается риск развития интерстициальной пневмонии, пневмоцистной пневмонии и фиброза легких [Conway R. et al., 2017]. У 6.6% (0.2-17) пациентов выявляются синуситы, у 6.4% (2.2.-7.5) наблюдается кашель, у 0.8% (0-3.9) развивается пневмония [West J. et al., 2016]. Проявления легочной токсичности наблюдались при лечении пациентов как низкими, так и высокими дозами препарата, что свидетельствует о том, что механизм развития токсического действия не обусловлен влиянием метотрексата не только на обмен фолатов [Olsen E. et al., 1991].

Предполагаемыми и изучаемыми механизмами легочной токсичности метотрексата являются реакции гиперчувствительности, прямое цитотоксическое влияние метотрексата на легочную ткань, активация каскада реакций митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ),

иммуносупрессия, а также нарушение экспрессии цитокинов, вызывающее воспалительный ответ в ткани легких и разрушение легочной ткани [Kim Y. et al., 2009].

Бронхоальвеолярный лаваж и гистологическое исследование легочной ткани подтверждают, что в основе патогенеза поражения легких лежит реакция гиперчувствительности [Lateef O. et al., 2005]. Повреждение эпителия альвеоцитов и проявления фиброза позволяют предположить прямой цитотоксический механизм влияния метотрексата [Ohbayashi, M. et al., 2010].

### **1.4.5 Нефротоксическое действие метотрексата**

Токсическое влияние метотрексата на функцию почек является частой НЛР при применении препарата в высоких дозах, однако, в редких случаях метотрексат способен вызывать поражение почек, приводящее к почечной недостаточности, даже при использовании в низких дозах [Kremer J. et al., 1995].

Предполагаются различные механизмы нефротоксичности низких доз метотрексата. Установлено, что метотрексат может вызывать отек и некроз клеток почечных канальцев, вызывая необратимое повреждение ткани почки [Grönroos M. et al., 90]. Препарат выводится преимущественно почками, и, метотрексат и его основной метаболит 17-гидроксиметотрексат, являясь относительно нерастворимыми в кислой среде мочи, могут оказывать прямое токсическое действие на эпителий почечных канальцев, или преципитировать в просвете почечных канальцев, вызывая внутриканальцевую обструкцию. Эти процессы приводят к уменьшению скорости клубочковой фильтрации [Kremer J. et al., 1995]. Стоит отметить, что поражение почек по такому механизму более характерно для терапии высокими дозами метотрексата, однако, подобный механизм был описан и при длительной терапии низкими дозами препарата [Abelson H. et al., 1983].

Метотрексат вызывает поражение клеток почечных клубочков и почечных канальцев за счет повышения оксидативного стресса, роль которого выявлена в патогенезе хронической болезни почек. Этот механизм токсического действия метотрексата предположен в исследовании на крысиной модели: при длительном применении низких доз метотрексата было выявлено повышение маркеров оксидативного стресса: 4-гидроксиноненаля и малонового альдегида [Li X. et al., 2016].

Еще одним предполагаемым механизмом метотрексат-индуцированной нефротоксичности является снижение скорости кровотока в тканях почек и, как следствие,

нарушение функции выведения воды и солей почками за счет повышения концентрации аденозина в плазме крови и межклеточной жидкости, и последующей активации A1-аденозиновых рецепторов [Cronstein B. et al., 1983].

#### **1.4.6 Влияние метотрексата на иммунный ответ организма**

Метотрексат влияет на иммунный ответ организма и повышает риск развития оппортунистических инфекций. Развитие тяжелопротекающих инфекционных заболеваний наблюдается в среднем у 1.5% пациентов, пневмонии – у 0.8% пациентов [West J. et al., 2016]. При лечении метотрексатом были описаны случаи пневмоцистной пневмонии, атипичного актиномикоза, аспергиллеза, криптококкоза, листериозного менингита и герпес-вирусных инфекций, реактивации туберкулеза, обострения хронического гепатита, и некоторые исследователи предполагают, что развитие этих НЛР ассоциировано с приемом метотрексата [Bernatsky S. et al., 2007].

Установлено, что еженедельный прием низких доз метотрексата способен оказывать влияние на активность Т-клеток, однако, существует предположение, что повышенный риск возникновения инфекционных заболеваний может быть вызван дисбалансом иммунной системы вследствие хронического воспаления, обусловленного основным заболеванием, или наличием сопутствующих патологий и коморбидностей псориаза [Genestier L. et al., 1998].

#### **1.4.7 Токсическое влияние метотрексата на репродуктивную систему**

Применение метотрексата запрещено у беременных женщин, а также у женщин, планирующих беременность и их партнеров ввиду тератогенности препарата.

Пороки развития плода наблюдались при приеме метотрексата на всех гестационных сроках, однако наиболее выраженный тератогенный эффект метотрексат имеет при применении в течение первых 6 – 8 недель беременности [Lloyd M., 1999]. Установлено, что для избежания риска тератогенности, беременность необходимо отложить как минимум на один овуляторный цикл после применения метотрексата женщиной [Negrei C. et al., 2017]. Считается, что беременность необходимо отложить как минимум на три месяца после применения

метотрексата мужчиной. Такой срок обусловлен длительностью среднего цикла сперматогенеза, который составляет 74 дня [Menter A. et al., 2020].

Применение метотрексата запрещено также у кормящих женщин, поскольку метотрексат обнаруживается в грудном молоке и может вызвать НЛР у ребенка.

В литературе также описано негативное влияние метотрексата на сперматогенез – олигоспермия [Buckley L. et al., 1997].

#### **1.4.8 Влияние метотрексата на развитие злокачественных новообразований**

Применение метотрексата является фактором риска развития плоскоклеточного рака кожи [Stern R. et al., 1994]. Установлено, что длительная терапия метотрексатом ассоциирована с развитием Эпштейн-Барр вирус-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний, которые спонтанно регрессируют после отмены метотрексата. Кроме того, по результатам исследования степени повышения риска возникновения злокачественных новообразований, установлено, что у пациентов с ревматоидным артритом, получавших терапию метотрексатом, вероятность онкологических заболеваний повышается на 50% по сравнению с общей популяцией, при этом риск возникновения неходжкинских лимфом возрастает пятикратно, а меланомы и рака легких – троекратно [Kamel O. et al., 1994].

#### **1.4.9 Токсическое действие метотрексата на кожу**

У пациентов, принимающих метотрексат описаны НЛР в виде мукозитов, изъязвления псориазических высыпаний, гиперпигментации, алопеции, токсического эпидермального некролиза, нодулеза и развития анафилактических реакций [Kalantzis A. et al., 2005].

Одним из НЛР препарата со стороны кожи является метотрексат-индуцированный нодулез. Формирование подкожных узелков – скоплений мноядерных гигантских клеток, в составе которых обнаруживаются преимущественно мононуклеары (лимфоциты, плазмочиты, макрофаги), при терапии метотрексатом было подтверждено и изучено на моделях *in vitro* [Merrill J. et al., 1997; Motegi S. et al., 2014]. Предполагается, что в основе механизма формирования этих гигантских клеток лежит влияние метотрексата на увеличение синтеза

аденозина и его взаимодействия с A1-аденозиновыми рецепторами: нодулез оказался обратимым при применении антагонистов A1-аденозиновых рецепторов [Merrill J. et al., 1997].

Причинами метотрексат-индуцированной алопеции, предположительно, является дефицит фолатов, поскольку возникает редко при использовании низких дозировок метотрексата и разрешается самостоятельно спустя несколько месяцев после прекращения терапии [Romão V. et al., 2014].

#### **1.4.10 Нейротоксичность метотрексата**

В начале терапии метотрексатом у некоторых пациентов наблюдаются головные боли, головокружение, слабость и эмоциональная лабильность [Wollina U. et al., 2001].

Одним из предполагаемых механизмов метотрексат-индуцированной нейротоксичности является влияние повышенного высвобождения аденозина и его накопления в центральной нервной системе (ЦНС). Роль аденозина в качестве нейротрансмиттера и нейромодулятора в ЦНС подтверждена экспериментально: его повышенное накопление ассоциировано с возникновением головных болей, тошноты и сонливости. Аденозин обладает ингибирующим действием в ЦНС: связываясь с аденозиновыми A1 рецепторами в периферикальной области гипоталамуса, аденозин может регулировать процессы пробуждения и засыпания, что может объяснять слабость и сонливость, которую некоторые пациенты испытывают после приема метотрексата [Thakkar M. et al., 2008]. У детей, получавших высокие дозы метотрексата, нейротоксическое действие метотрексата проявлялось в выраженной сонливости и коматозном состоянии, которые были обратимы при терапии теофиллином – неселективным антагонистом аденозиновых рецепторов. Такие исследования подтверждают аденозиновый механизм метотрексат-индуцированной нейротоксичности [Bernini J. et al., 1995].

Нейротоксическое действие метотрексата также может быть обусловлено эксайтотоксической гибелью нейронов, которую способны вызывать метаболиты гомоцистеина: гомоцистеиновая и цистеинсульфоновые кислоты [Quinn C. et al., 1997]. Еще одним возможным механизмом может быть нарушение метаболизма биоптерина, приводящее к снижению синтеза моноаминовых нейромедиаторов [Millot F. et al., 1995].

#### **1.4.11 Токсическое влияние метотрексата на костную систему**

В редких случаях прием низких доз метотрексата вызывает остеопатии: боли в костях, переломы длинных трубчатых костей, остеопороз. Синдром «метотрексат-индуцированной остеопатии» был впервые описан, как стресс-переломы костей нижних конечностей, диффузную боль в костях и остеопороз у детей в остром лимфобластном лейкозом, получавших длительную терапию низкими дозами метотрексата. В настоящее время, описано несколько случаев метотрексат-индуцированных остеопатий у пациентов с ревматоидным артритом и псориазом, однако, токсичность метотрексата на костную систему: минеральную плотность костей и активность остеобластов – не была доказана в более масштабных исследованиях [Patel, S., 2003]. В исследовании на крысиных моделях было установлено, что длительный прием низких доз метотрексата вызывает выраженную остеопению за счет снижения активности остеобластов и повышения активности остеокластов [May K. et al., 1994].

#### **1.5 Настороженность в отношении токсичности препарата**

Необходимо принимать во внимание, что применение даже единичной дозы метотрексата в некоторых случаях может привести к серьезным и комплексным НЛР: так, был описан случай развития тяжелой панцитопении и нефропатии после единичной инъекции препарата в дозе 15 мг пациенту 48 лет [Uz B. et al., 2019].

Риск фатальных НЛР при терапии метотрексатом не велик: смертность, ассоциированная с приемом препарата составляет 1.2/100000 пациентов в год [Lucas J. et al., 2009].

Токсическое действие метотрексата на систему кроветворения, дыхательную систему и печень являются наиболее жизнеугрожающими. Комитет по безопасности лекарственных препаратов Великобритании проанализировал 164 смерти пациентов, предположительно ассоциированные с приемом метотрексата. Из них 41% смертей были ассоциированы с миелосупрессией, 18% - с токсичностью со стороны дыхательной системы и 3% - с поражением печени на фоне приема метотрексата [MacDonald A. et al., 2005]. Таким образом, необходимым является тщательное выявление факторов риска повышенной токсичности метотрексата и комплексное мониторинговое состояние пациента в отношении этих групп НЛР.



Гепатологические и гематологические НЛР метотрексата могут манифестировать в виде слабости, тошноты, стоматитов, обмороков у пациентов. Следует внимательно относиться к подобным симптомам, развивающимся во время терапии метотрексатом [Асоскова А.В. и др., 2021].

Тщательное монитирование состояния пациента позволяет снизить риск развития НЛР [Асоскова А.В. и др., 2021].

### **1.6 Противопоказания к применению метотрексата**

Основанием для противопоказаний назначения метотрексата, как правило, является его органотоксичность. Применение метотрексата запрещено пациентам с выраженной лейкопенией, анемией или тромбоцитопенией, беременным и кормящим женщинам, пациентам с алкоголизмом, иммунодефицитными состояниями, а также с непереносимостью метотрексата [Асоскова А.В. и др., 2021].

С осторожностью необходимо назначать препарат пациентам с гепатитами, циррозом печени и других заболеваниях, сопровождающихся нарушением функции печени, ввиду потенциального гепатотоксического действия препарата. У таких пациентов необходимо осуществлять тщательное монитирование показателей печени. Несмотря на отсутствие однозначных данных относительно полного или частичного запрета на употребление алкоголя в период терапии метотрексатом, алкоголизм в анамнезе и алкоголь-индуцированные заболевания печени являются относительными противопоказаниями к назначению препарата [Асоскова А.В. и др., 2021].

Применение метотрексата может быть ограничено приемом других препаратов, имеющих токсическое влияние на печень. К ним относятся: нестероидные противовоспалительные препараты (салицилаты, напроксен, ибупрофен, индометацин, фенилбутазон), некоторые антибиотики (триметроприм, сульфаметоксазол, сульфониламиды, пенициллин, миноциклин, цiproфлоксацин), а также барбитураты, колхицин, дипиридамо́л, этанол, фенитоин, сульфонилмочевина, фуросемид и тиазидные диуретики [Menter A. et al., 2009].

Поскольку препарат выводится преимущественно почками (около 85%), метотрексат следует назначать с осторожностью пациентам с нарушением функции почек. При нарушении почечной экскреции метотрексата концентрация препарата в плазме крови повышается, и,

соответственно, возрастает риск проявления его токсического действия. В связи применение метотрексата может быть опасно у пациентов со скоростью клубочковой фильтрации ниже 30 мл/мин [Saag K. et al., 2008].

Пристальное внимание следует уделять состоянию пациентов с иммуносупрессией и хроническими инфекциями, склонными к обострению в результате иммуносупрессивного действия метотрексата. При обострении инфекционного процесса необходимо временно отменить препарат.

Ограничениями к применению метотрексата также являются ожирение (индекс массы тела выше 30), сахарный диабет, недавно проведенная вакцинация (особенно, с использованием живых вакцин).

Перед назначением метотрексата необходимо оценить, способен ли пациент выполнять все предписания ответственно, поскольку успешность терапии и безопасность пациента во многом зависит от тщательного подбора режима дозирования и длительности терапии, а также от регулярного обследования для выявления потенциально возможных НЛР [Асоскова А.В. и др., 2021].

Зачастую потенциальный положительный эффект терапии может превышать возможные риски для пациента, имеющего заболевания или состояния, ограничивающие применение метотрексата. Терапевтические решения должны приниматься врачом индивидуально относительно каждого пациента на основании оценки соотношения риска и пользы [Асоскова А.В. и др., 2021].

### **1.7 Терапевтические подходы к уменьшению риска НЛР**

Для снижения риска метотрексат-индуцированной токсичности, обусловленной дефицитом фолатов, рекомендовано применение 5 – 10 мг фолиевой кислоты еженедельно в течение 24-48 часов после инъекции метотрексата [Кубанов А.А. и др., 2020]. Современные клинические рекомендации мировых сообществ сходятся во мнении относительно того, что пациенты, принимающие более высокие дозы метотрексата, должны получать более высокие дозы фолиевой кислоты, однако, в настоящее время недостаточно доказательств для определения оптимальной дозы фолиевой кислоты для каждого пациента индивидуально [Асоскова А.В. и др., 2021].

Установлено, что при парентеральном пути приема метотрексата снижается выраженность его токсического действия. Считается, что применение метотрексата в вечерние часы перед сном лучше переносится пациентами. Кроме того, некоторые исследователи отмечали лучшую переносимость метотрексата при приеме препарата в течение 36 часов ( $\frac{1}{3}$  дозы каждые 12 часов) [Negrei C. et al., 2017].

## 1.8 Роль фармакогенетики в прогнозировании токсичности метотрексата

Прогнозирование токсического действия метотрексата является актуальной задачей. На ответ на терапию метотрексатом могут влиять режима дозирования препарата, комплаентность пациента, возраст, пол, индекс массы тела, этническая принадлежность пациента, тяжесть течения псориаза, наличие сопутствующих заболеваний, употребление алкоголя, курение, а также межлекарственные взаимодействия [Romão V. et al., 2016]. Однако в последнее время большое внимание уделяется роли генетических факторов в индивидуальной переносимости терапии псориаза метотрексатом [Ray-Jones H. et al., 2016; Sutherland A. et al., 2016].

Установлено, что около половины «неблагоприятных» ответов человеческого организма на лекарственное средство определяется генетическими особенностями пациентов [Сычѳв Д.А. и соавт., 2011].

Приблизиться к пониманию причин вариабельности ответа на терапию позволяет изучение индивидуальных особенностей фармакологического действия метотрексата у разных пациентов. В этом большие возможности предоставляет современная фармакогенетика – наука, изучающая влияние генетических факторов на фармакологический ответ на терапию [Котловский М. и др., 2015]. Эти генетические факторы, как правило, представляют собой полиморфные участки генов, кодирующих белки, участвующие в осуществлении различных фармакокинетических и фармакодинамических процессов [Сычѳв Д.А. и др., 2011]. Ген считается полиморфным, если в популяции выявляются несколько его аллельных вариантов, носительство которых ассоциировано с изменением активности кодируемых им белков по сравнению функционированием белков у носителей наиболее распространенными в популяции «нормальными» аллелями дикого типа [Hider S. et al., 2003]. Установлено, что наличие значимых полиморфизмов генов, кодирующих белки, участвующие в процессах фармакокинетики и фармакодинамики различных препаратов на 15-30%, определяют индивидуальные особенности ответа на фармакотерапию [Eichelbaum M. et al., 2006].

Фармакогенетические исследования выявляют ассоциации тех или иных полиморфизмов генов, вовлеченных в процессы транспорта и метаболизма препаратов, с варибельностью ответов на терапию [Grželj J. et al., 2021].

По данным современных исследований для прогнозирования риска метотрексат-индуцированной токсичности также необходимо учитывать влияние генетических особенностей пациента, определяющих индивидуальные особенности фармакокинетики и фармакодинамики препарата. Фармакогенетические исследования позволяют установить, каким образом индивидуальные особенности генотипа пациентов оказывают влияние на безопасность лечения метотрексатом [Plaza-Plaza J. et al., 2016; Warren R. et al., 2008; Ray-Jones H. et al., 2016; Sutherland A. Et al., 2016; Сычёв Д.А. и соавт., 2011; Lima A. et al., 2014; Bedoui Y. et al., 2020].

Выявление полиморфизмов генов, влияющих на токсичность низких доз метотрексата изучается в терапии пациентов с псориазом и ревматоидным артритом, при этом большее количество клинически значимых для безопасности терапии полиморфизмов изучены у пациентов с ревматоидным артритом [Plaza-Plaza J. et al., 2016]. Выявленные ассоциации полиморфизмов генов, кодирующих белки, вовлечённые в процесс фармакокинетики и фармакодинамики метотрексата с безопасностью терапии ревматоидным артритом нельзя экстраполировать на пациентов с псориазом, несмотря на одинаковые дозировки препарата: результаты метаанализа безопасности терапии пациентов с псориазом и ревматоидным артритом показали, что даже при применении одинаковой дозировки метотрексата, у пациентов с псориазом гепатотоксическое влияние препарата отмечается в 2-2.5 раза чаще [Whiting-O'Keefe Q., 1991]. Выявленные ассоциации хоть и не позволяют применить те же закономерности для оптимизации безопасности терапии псориаза, но все же наводят на мысль о подобных взаимосвязях полиморфизмов с токсичностью терапии, требуя проведения подобных исследований на выборке пациентов с псориазом. Выявление значимых полиморфизмов генов позволит использовать их в качестве биомаркеров-предикторов переносимости терапии метотрексатом и подойти к назначению терапии с точки зрения персонализированной медицины [Асоскова А.В. и др., 2021; Кубанов А.А. и др., 2021].

## 1.9 Влияние генетических полиморфизмов в генах белков-транспортёров метотрексата на безопасность терапии

Крупной группой ферментов, активность которых влияет на индивидуальный ответ на терапию, являются белки-транспортёры. Белки-транспортёры переносят молекулы лекарственных препаратов через биологические мембраны при помощи активных и пассивных механизмов. Однонуклеотидные полиморфизмы генов, кодирующих эти белки, могут влиять на фармакокинетику препаратов, изменяя степень поглощения или выведения из клетки лекарственных средств и их метаболитов. Активность белков-транспортёров оказывает влияние на концентрацию препаратов в плазме крови и периферических тканях, тем самым его токсичность [Кубанов А.А. и др., 2021].

В геноме человека описаны более 400 мембранных транспортёров, которые представляют два основных суперсемейства-транспортёры растворенных веществ (solute carriers, SLC) и АТФ-связывающие (АТФ-binding cassette, ABC) белки [Giacomini K. et al., 2010]. Доказано, что полиморфизмы генов, кодирующих транспортёры метотрексата, участвующие в процессах всасывания, распределения и выведения препарата также оказывают влияние на фармакокинетику метотрексата и определяют индивидуальный ответ на терапию [Котловский М. Ю. и соавт., 2015]. Активность этих белков-транспортёров оказывает влияние на концентрации препаратов в плазме крови и периферических тканях, тем самым его токсичность.

В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) метотрексат абсорбируется путем активного транспорта при помощи переносчика фолиевой кислоты и протон-сопряженного переносчика фолатов PCFT, кодируемых генами *SLC19A1* и *SLC46A1* и расположенными на апикальной мембране энтероцитов. Биодоступность метотрексата также зависит от переносчиков семейства ABC, которые транспортируют молекулы метотрексата из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта (кодируемых генами *ABCC2*, *ABCB1*, и *ABCG2*) и в кровь (кодируемых генами *ABCC1* и *ABCC3*) [Whetstone J. et al., 2001].

Системное выведение метотрексата обеспечивается за счет клубочковой фильтрации и активной секреции из клеток почечных канальцев. В этом процессе участвуют белки, кодируемые генами *SLC22A6*, *SLC22A8*, *SLC19A1*, *ABCG2*, *ABCC2*, и *ABCC4*. Переносчики, кодируемые генами *SLCO1B1* и *SLCO1B3*, осуществляют печеночный захват метотрексата. Большая часть молекул метотрексата возвращается в кровоток за счет белков-переносчиков, кодируемых *ABCC3* и *ABCC4*, расположенных на базолатеральной мембране гепатоцитов, и

лишь незначительная часть молекул метотрексата выводится при помощи переносчиков, кодируемых генами *ABCC2* и *ABCB1* [Whetstone J. et al., 2001].

Связь наличия однонуклеотидных полиморфизмов в генах, кодирующих белки, участвующие в фармакокинетике метотрексата, и разным терапевтическим ответом на лечение метотрексатом установлена в фармакогенетических исследованиях [Camela, E. et al., 2022; Plaza-Plaza J. et al., 2016; Warren R. et al., 2008].

### **1.9.1 Генетические полиморфизм *ABCB1* и его влияние на профиль безопасности метотрексата**

Биодоступность метотрексата зависит от белков-переносчиков семейства ABC, которые транспортируют молекулы метотрексата из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта, а также от гликопротеина-P (белка *ABCB1*) – белка транспортера, который переносит молекулы метотрексата из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта [Кубанов А.А. и др., 2023]. 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 [Whetstone J. et al., 2011]. Частота встречаемости данного полиморфизма отличается в различных этнических группах [Marzolini et al., 2004].

Согласно исследованиями *in vitro*, у носителей генотипа TT снижена экспрессия гена *ABCB1* в двенадцатиперстной кишке [Hoffmeyer S. et al, 2000], CD56+ лейкоцитах [Hitzl M. et al, 2001; Drescher S. et al, 2002], почках [Siegmund M. et al, 2002]. Низкий уровень экспрессии *ABCB1* в кишечнике и почках должен приводить к снижению содержания гликопротеина P в этих органах и, следовательно, к более полному всасыванию и замедленному выведению его субстратов, к которым относится и метотрексат [Застрожин М.С., 2017]. В результате повышается концентрация метотрексата в плазме крови и возрастает вероятность развития НЛР [Застрожин М.С., 2017; Marzolini C. et al., 2004].

Влияние полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* на риск метотрексат-индуцированной токсичности было изучено на выборках пациентов с ревматоидным артритом и результаты исследований оказались неоднозначны [Кубанов А.А. и др., 2023]. 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 носительство 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) [Samaga S. et al., 2014]. В исследовании токсичности метотрексата у испанцев с ревматоидным артритом также было показано, что частота гепатотоксичности (тремякратного повышения уровня ферментов печени) была выше у пациентов с генотипом GG по сравнению с генотипом AG [Plaza-Plaza J. et al., 2016]. При этом, в некоторых исследованиях не было выявлено ассоциации носительства генотипа GG у пациентов с ревматоидным артритом, получавших терапию метотрексатом [Lv S. et al., 2019; Kyvsgaard N. et al., 2019].

### 1.9.2 Генетический полиморфизм *SLCO1B1* и его влияние на профиль безопасности метотрексата

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* [Кубанов А.А. и др., 2021].

Установлено, что у носителей аллеля T отмечается более высокий уровень экспрессии гена *SLCO1B1* в клеточных мембранах, что проявляется в увеличенном захвате и клиренсе молекул метотрексата. Белок OATP1B1 локализован преимущественно в синусоидальной мембране гепатоцитов, однако, мРНК белка обнаруживаются и в других тканях, в частности, в энтероцитах. 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 [Кубанов А.А. и др., 2021], [Grželj, J. et al., 2021].

Носительство (гетерозиготное, и в особенности гомозиготное) аллеля C 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. Таким образом, концентрация препарата в крови возрастает, что и определяет увеличение риска возникновения нежелательных реакций [Кубанов А.А. и др., 2021], [Grželj, J. et al., 2021].

Эта гипотеза была подтверждена в фармакогенетических исследованиях: было показано, что у носителей аллеля C 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 *T* 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 *CT* проявления токсического действия метотрексата возникали чаще. Кроме того, у носителей аллеля *T* отмечался более высокий риск развития неблагоприятных реакций метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта по сравнению с носителями аллеля *C* [Lima A. et al., 2014].

Таким образом, вариабельность ответа пациентов на терапию метотрексатом, неоднозначность данных фармакогенетических исследований и отсутствие алгоритма прогнозирования нежелательных лекарственных реакций определяют необходимость поиска биомаркеров, которые могли бы быть предикторами индивидуального ответа на терапию [Кубанов А.А. и др., 2021; Кубанов А.А. и др., 2023; Camela, E. et al., 2022].

Влияние генетических особенностей пациента, определяющих индивидуальные особенности функционирования белков-ферментов, метаболизирующих лекарственные препараты, на ответ на терапию и развитие у пациентов неблагоприятных лекарственных реакций является общепризнанным фактом. Объем накопленных данных говорит о необходимости фармакогенетического подхода в персонализированной терапии псориаза метотрексатом. Однако поиск стратегий персонализированного подхода к терапии псориаза на данный момент находится на этапе единичных исследований, результаты которых в некоторых случаях противоречат друг другу, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования для более тщательного изучения влияния полиморфизмов генов белков-переносчиков метотрексата на безопасность терапии пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза. Выявление подобных ассоциаций у больных псориазом позволит установить связь безопасности препаратов метотрексата с его фармакогенетическими особенностями и разработать клинично-лабораторный подход к персонализированному выбору фармакотерапии псориаза, позволяющий прогнозировать ответ на терапию и тяжесть токсических явлений при лечении метотрексатом [Кубанов А.А. и др., 2021; Кубанов А.А. и др., 2023].



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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.).

Исследование одобрено Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 9 от 13 ноября 2018 года.

Исследование было проведено в два этапа: на первом этапе осуществлялось динамическое наблюдение за состоянием пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, находящихся на лечении в круглосуточном стационаре отделения дерматологии с целью выявления нежелательных лекарственных реакций, которые могли быть ассоциированы с приемом метотрексата, их частоты и тяжести. На втором этапе исследования было оценено наличие полиморфизмов генов *ABCBI* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) у данной выборки пациентов, и проведен анализ ассоциации наличия генетических полиморфизмов с параметрами безопасности терапии метотрексатом.

### 2.1 Обоснование включения и исключения участников в исследование

В исследование было включено 75 пациентов с диагнозом псориаз. Пациенты находились на стационарном лечении в отделении клинической дерматологии ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и получали терапию препаратом метотрексат в рекомендованных терапевтических дозировках.

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), псориатическая 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.

## 2.2 Дизайн клинического исследования

С момента включения в исследование осуществляли клинико-демографическое и лабораторное обследование пациентов, оценивали тяжесть течения псориаза при помощи Индекса тяжести и распространенности псориаза PASI (Psoriasis Area and Severity Index), собирали данные о нежелательных лекарственных реакциях с помощью специально разработанного структурированного опросника и данных общего и биохимического анализа крови, а также общего анализа мочи, выполняли анализ причинно-следственной связи приема метотрексата и НЛР по шкале Нارانжо и по Ливерпульской шкале оценки причины нежелательных эффектов лекарственных средств. Тяжесть нежелательных лекарственных реакций оценивали при помощи визуальных аналоговых шкал и по шкале выраженности токсичности СТСАЕ (Common Toxicity Criteria for Adverse Event). Определение наличия полиморфизмов генов rs1045642 гена *ABCB1*, rs4148738 гена *ABCB1*, rs4149056 гена *SLCO1B1* путем генотипирования пациентов. Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Дизайн клинического исследования

Вид исследования	При поступлении на стационарное лечение	Перед выпиской из стационара
Скрининг критериев включения/исключения	√	
Разъяснение пациенту информации по исследованию, ознакомление его с протоколом исследования, содержимого информационного листка, после чего подписание информированного согласия	√	
Клиническая оценка тяжести состояния пациента с использованием индекса PASI	√	√
Общий, биохимический анализ крови	√	√
Забор крови для генотипирования	√	
Выявление нежелательных лекарственных реакций в соответствии с алгоритмами оценки причинно-следственной связи «НЛР – лекарство»	Ежедневное мониторингирование	Ежедневное мониторингирование
Оценка выраженности НЛР с использованием визуальных аналоговых шкал	Ежедневное мониторингирование	Ежедневное мониторингирование
Оценка выраженности НЛР с использованием шкалы токсичности СТСАЕ	Ежедневное мониторингирование	Ежедневное мониторингирование

### 2.3 Характеристика обследованных групп пациентов

Из числа 75 пациентов, включенных в исследование, было 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.

У всех пациентов, включенных в исследование, наблюдалась прогрессирующая стадия псориаза: высыпания характеризовались яркой окраской, умеренными и выраженными инфильтрацией и шелушением, до начала терапии наблюдалось увеличение размера элементов кожной сыпи, по периферии отмечался венчик эритемы, свободный от шелушения, выявлялись положительные псориатические феномены, появлялись новые элементы. У больных с диагнозом псориаз обыкновенный (71 пациент, 94,6%) высыпания были представлены папулами и бляшками от розового до ярко-красного цвета, инфильтрацией и шелушением различной

интенсивности, и локализовались на коже волосистой части головы, лица, туловища, верхних и нижних конечностей. У больного с диагнозом генерализованный пустулезный псориаз (1 пациент, 1,33%) на коже волосистой части головы, лица, туловища, верхних и нижних конечностей отмечались многочисленные эритематозные очаги, сливного характера, ярко-красного цвета, очаги с мелкопластинчатым шелушением, а также единичные поверхностные пустулы, расположенные на эритематозном фоне. У больного с диагнозом пустулез ладонный и подошвенный (1 пациент, 1,33%) патологический кожный процесс носил ограниченный характер, локализовался на коже верхних и нижних конечностей: на коже ладонной поверхности кистей в области запястья, на коже подошв, преимущественно в области пяток и медиальных лодыжек и был представлен единичными микропустулами с гнойным содержимым, размером 0,5 см в диаметре, эритематозно-сквамозными очагами эритемы ярко-розового цвета и розового цвета с четкими границами с умеренной инфильтрацией, выраженным гиперкератозом и линейными трещинами. У пациентов с диагнозом псориаз эритродермия (2 пациента, 2,66%) кожный патологический процесс носил распространенный характер, отмечались инфильтрированность и отечность кожи волосистой части головы, туловища, верхних и нижних конечностей, высыпания были представлены эритематозными очагами от ярко-розового цвета до ярко-красного цвета, на поверхности которых определялись линейные трещины. У 26 пациентов (34,6%) отмечалось сопутствующее поражение суставов. Суставной процесс сопровождался отечностью, болезненностью, ограничением подвижности в области тазобедренных, коленных суставов, дистальных межфаланговых суставов кистей и стоп, наличием утренней скованности.

Для удобства анализа и ввиду отсутствия значимой разницы при назначении метотрексата и клиническом ответе на препарат пациенты со всеми описанными клиническими формами заболевания были объединены в одну.

Среднее значение индекса PASI у включенных в исследование пациентов составило  $24,92 \pm 7,64$  (минимальное значение – 10,1, максимальное значение – 50,3). Тяжесть течения псориаза оценивалась по величине индекса PASI: PASI до 10 баллов соответствует легкой степени заболевания, от 10 до 19 баллов – средне-тяжелой, от 20–72 – тяжелой. В исследование были включены пациенты со среднетяжелыми (с индексом PASI от 10 до 19) и тяжелыми формами псориаза (с индексом PASI от 20 до 72). В общей группе пациентов наблюдались 65 (86,7%) пациента со среднетяжелыми формами и 10 (13,3%) пациентов с тяжелыми формами псориаза.

Пациенты получали метотрексат в форме раствора (торговое название: Метотрексат-Эбеве, производитель ЭбевеФарма, Австрия), вводимого внутримышечно один раз в неделю. Подбор терапевтической дозы метотрексата был осуществлен в соответствии с клиническими

рекомендациями Российского общества дерматовенерологов и косметологов (2019 год). 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, которую принимали в дозировке 5 мг через 12-24 часа после каждой инъекции метотрексата.

Помимо метотрексата, все пациенты получали фолиевую кислоту и дезинтоксикационную терапию. Части пациентов ( $n=35$ ) была назначена фототерапия (46,67%). 5 пациентов получали системные глюкокортикостероиды (6,67%). Структура сопутствующей терапии представлена в таблице 2.

**Таблица 2** – Структура сопутствующей терапии пациентов, включенных в исследование

<b>Вид сопутствующей терапии</b>	<b>Количество пациентов</b>
Фолиевая кислота	75 (100%)
Дезинтоксикационная терапия	75 (100%)
Фототерапия	35 (46,67%)
Системные глюкокортикостероиды	5 (6,67%)

Оценивалось также наличие сопутствующих заболеваний у изучаемой выборки пациентов. Результаты обобщены в таблице 3.

**Таблица 3** – Структура сопутствующей патологии у пациентов, включенных в исследование

<b>Вид сопутствующей патологии</b>	<b>Количество пациентов</b>
Пациенты с заболеваниями сердечно-сосудистой системы	40 (53,33%)
Пациенты с офтальмологическими заболеваниями	28 (37,33%)
Пациенты с метаболическими заболеваниями	19 (25,33%)
Пациенты с заболеваниями дыхательной системы	5 (6,67%)
Пациенты с заболеваниями желудочно-кишечного тракта	18 (24%)
Пациенты с заболеваниями мочевыделительной системы	7 (9,33%)
Пациенты с заболеваниями печени	11 (14,67%)

Продолжение Таблицы 3

Вид сопутствующей патологии	Количество пациентов
Пациенты с заболеваниями репродуктивной системы	5 (6,67%)
Пациенты с неврологическими заболеваниями	3 (4%)

## 2.4 Клинические методы исследования

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

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

В отношении каждой анатомической зоны была произведена оценка симптомов по трем показателям: выраженность эритемы, инфильтрации и шелушения – по пятибалльной шкале интенсивности: 0 баллов – нет, 1 – легкие, 2 – средней выраженности, 3 – тяжелые, 4 – очень тяжелые. В отношении каждой анатомической зоны подсчитывался процент пораженного кожным патологическим процессом от общей площади описываемой зоны. В зависимости от процента поражения присваивался балл тяжести поражения: 0% – 0 баллов, 1-9% – 1 балл, 10-29% – 2 балла, 30-49% – 3 балла, 50-69% – 4 балла, 70-89% – 5 баллов, 90-100% – 6 баллов. Значение PASI в отношении каждой зоны оценивается сначала в отношении каждого симптома (эритемы, инфильтрации и шелушения) как произведение балла интенсивности симптомов, балла степени поражения и коэффициента, соответствующего анатомической области (голова – 0,1, туловище – 0,3, верхние конечности – 0,2, нижние конечности – 0,4). Общее значение PASI оценивалось как сумма PASI для каждой анатомической области.

Устанавливалась и фиксировалась сопутствующая терапия, которую пациенты получали для лечения псориаза во время госпитализации: дезинтоксикационная, наружная терапия, а также фототерапия у некоторых пациентов. Учитывалась также терапия, которая была назначена пациентам для лечения нежелательных лекарственных реакций, возникавших на фоне

метотрексата. В ходе исследования фиксировалось наличие сопутствующей патологии, а также лекарственные средства, принимаемые пациентом для терапии сопутствующей патологии.

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. Вопросы о переносимости терапии метотрексатом задавались пациенту ежедневно с момента включения пациента в исследование на протяжении всего периода госпитализации. Опрос был разработан на основании данных 2 тома государственного реестра лекарственных средств – типовой клинико-фармакологической инструкции, и материалов электронной базы данных государственного реестра лекарственных средств: инструкции к применению метотрексата. В основу принципа разработки опросника легла методика адресного выявления нежелательных лекарственных реакций, эффективность которой была доказана в работе В.М. Цветова «Мониторинг неблагоприятных побочных реакций лекарственных препаратов в амбулаторно-поликлиническом учреждении на современном этапе» (2007 год): пациенту задавали вопросы относительно наличия каждой из ожидаемых симптоматических нежелательных лекарственных реакций по всем органам и системам [Цветов В., 2007].

В случае положительного ответа, выраженность НЛР оценивалась пациентом самостоятельно при помощи визуально-аналоговой нумерологической оценочной шкалы с градуировкой от 1 до 10: предлагалось отметить свое восприятие выраженности симптома. Кроме того, выраженность НЛР оценивалась при помощи шкалы выраженности токсичности CTCAE\_v5.0 (Common Toxicity Criteria for Adverse Event, version 5.0, 2017), разработанного Министерством здравоохранения и социального обеспечения, Национальным институтом здоровья и Национальным институтом онкологии (США) [U.S. Department of Health and Human Services, 2017]. Шкала CTCAE предусматривает оценку НЛР по индивидуальным для каждого явления качественным и количественным показателям, которые в результате оценки сводятся к 5 степеням токсичности: уровень 1 – слабая токсичность, слабо или умеренно выраженные симптомы, не требующие терапевтического вмешательства; 2 – умеренная токсичность, 3 – выраженная токсичность, требующая терапии и госпитализации пациента, но не угрожающая жизни, 4 – угрожающая жизни токсичность, требующая неотложной помощи, 5 – летальный исход по причине НЛР.

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]. Опросник включает 15 вопросов, оценивающих дискомфорт пациентов в отношении симптомов боли, рефлюкса, диспепсии, диареи и констипации. Пациент самостоятельно оценивает выраженность совокупности симптомов при помощи адресных вопросов в баллах от 1 до 7. По сумме баллов нами была высчитана токсичность со стороны ЖКТ для каждого пациента.

Нежелательные лекарственные реакции оценивались с точки зрения предотвратимости по шкале J. Hallas и соавт. (1990) как определенно предотвратимые, вероятно предотвратимые, непредотвратимые и не поддающиеся оценке. НЛР также были оценены по классификации, в основу которой положены предложения Wade & Beely, Rawlings & Thomson, модифицированные впоследствии Royer, применяемой программой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по международному мониторингу лекарств: тип А – побочные реакции, зависящие от дозы, обусловлены фармакологическими свойствами и токсичностью самого лекарственного средства или его метаболитов, тип В – побочные реакции, независимые от дозы – иммуноаллергические и генетически детерминированные, тип С – возникающие при длительной терапии, тип D – отсроченные. НЛР были классифицированы по степени вреда здоровью пациента согласно National Coordination Council for Medication Error Reporting and Prevention, NCC MERP Index for Categorizing Medication Errors (2001): тип Е – временный вред здоровью, потребовавший дополнительного лечения, тип F – временный вред здоровью, потребовавший госпитализации или ее продления, тип G – стойкий вред здоровью, тип H – жизнеугрожающее состояние, требующее реанимационных мероприятий, тип I – смерть пациента.

Для оценки причинно-следственной связи приема метотрексата и НЛР использовались шкала Наранжо [Busto U. et al., 1982]. Шкала Наранжо включает десять вопросов, на каждый из которых исследователь дает ответ «да», «нет» и «не известно», каждый из которых оценивается определенным количеством баллов от -1 до +2. Учитываются наличие достоверные сообщения об этой НЛР ранее, возникновение НЛР после введения лекарственного средства, улучшение состояния больного после отмены терапии и возобновление НЛР после повторного введения препарата, наличие других лекарственных средств, способных вызвать подобные симптомы, обнаружение токсических концентраций препарата в крови, зависимость тяжести НЛР от доз препарата, возникновение НЛР после применения плацебо и развитие НЛР ранее при приеме этого лекарственного средства, а также объективное подтверждение токсического действия препарата. Сумма баллов определяла достоверность связи «НЛР-лекарство» как определенную,



вероятную, возможную или сомнительную. В исследовании были рассмотрены только те НЛР, которые имели определенную, вероятную, возможную степень связи.

## 2.5 Лабораторные методы исследования

Нежелательные лекарственные реакции также выявлялись при помощи анализа данных лабораторных исследований: общего и биохимического анализа крови, а также общего анализа мочи. Оценивались абсолютные 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 СТСАЕ\_v5.0.

### 2.5.1 Методика генотипирования. Определение носительства полиморфизмов rs1045642 гена *ABCBI*, rs4148738 гена *ABCBI*, rs4149056 гена *SLCO1B1*

Биологическим материалом, для экстракции геномной ДНК, являлись 4 мл венозной крови, собранные у всех пациентов после подписания информированного согласия на участие в клиническом исследовании в отделении Клинической дерматологии ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации с помощью вакуумной системы VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия) в пробирки с КЗ ЭДТА (этилендиаминтетраацетат). Забор крови осуществлялся независимо от приема пищи и длительности терапии метотрексатом. Биологические образцы цельной крови были заморожены при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ , затем транспортированы в термоконтейнерах в НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва) для проведения генетического анализа.

### 2.5.1.1 Выделение ДНК из образцов цельной венозной крови

Для выделения ДНК из образцов цельной венозной крови был использован набор реагентов «S-Сорб» для выделения геномной ДНК на сорбенте(ООО «Синтол», Россия), в состав которого входил реагент для лизиса клеток (лизирующий раствора), реагенты для отмывки сорбента (отмывочные растворы 1 и 2),реагент для сорбции ДНК (сорбент) и раствор длярастворения ДНК (элюирующий раствор). Дополнительно было использовано оборудование: центрифуга для микропробирок, термостат, отсасыватель вакуумный, встряхиватель для микропробирок, микропипетки переменного объема на 1000, 200 и 20 мкл и наконечники к ним, штатив для пробирок 1,5-2,0 мл, микропробирки объемом 2 мл, перчатки одноразовые медицинские. Для выделения ДНК в боксах микробиологической безопасности «Ламинар-С» (ЗАО «Ламинарные системы», Россия) было последовательно проведено внесение образца, лизис материала, сорбция на сорбенте, отмывка сорбента от ингибиторов и элюция ДНК. Проведенные в ходе каждого этапа манипуляции соответствовали инструкции выделения ДНК на сорбенте (ООО «Синтол», Россия) и описаны в таблице 4.

**Таблица 4** – Этапы выделения ДНК из цельной венозной крови

Этап выделения ДНК	Последовательность действий исследователя
Внесение образца	Внесение 100 мкл цельной крови в пробирку объемом 2 мл.
Лизис материала	Внесение 300 мкл лизирующего раствора, предварительно выдержанного при комнатной температуре 30 минут и перемешанного плавным переворачиванием до полного растворения осадка, перемешивание материала на встряхивателе для пробирок с последующим нагреванием в течение 5 минут при 65°C. Для сбрасывания капель с крышки пробирки было проведено краткосрочное центрифугирование в центрифуге для микропробирок.
Сорбция ДНК на сорбенте	Добавление в пробирку 30 мкл сорбента. Затем дважды проводилось перемешивание на встряхивателе для микропробирок с последующим оставлением на 2 минуты.

Продолжение Таблицы 4

Этап выделения ДНК	Последовательность действий исследователя
Отмывка сорбента от ингибиторов	Центрифугирование пробирки в течение 30 секунд при скорости 5000 оборотов, удаление надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя. Добавление к осадку 300 мкл отмывочного раствора 1 и перемешивание на встряхивателе для микропробирок, центрифугирование в течение 30 секунд при скорости 5000 оборотов с последующим удалением надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя. Добавление 500 мкл отмывочного раствора 2, перемешивание на встряхивателе для микропробирок. Центрифугирование в течение 30 секунд при скорости 5000 оборотов с последующим удалением надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя. Процедура с добавлением отмывочного раствора 2 и последующим встряхиванием повторялась последовательно дважды. Заключительной манипуляцией этого этапа было подсушивание сорбента в термостате при 65°С в течение 15 минут.
Элюция ДНК	Добавление 100 мкл элюирующего раствора, перемешивание, подсушивание в термостате при 65°С в течение 5 минут, центрифугирование в течение 2 минут при 13000 оборотах. Надосадочная жидкость, содержащая ДНК, переносилась в чистую пробирку.

До проведения аллель-специфичной ПЦР, полученная ДНК хранилась при температуре +4°С.

### 2.5.1.2 Проведение аллель-специфичной ПЦР

Следующим этапом было проведено определение носительства однонуклеотидных полиморфизмов. Определение аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов *ABCB1* (C3435T rs1045642) и *SLCO1B1*\*5 (T521C rs4149056) производилось с помощью коммерческих наборов реагентов для определения соответствующих полиморфизмов (ООО «Синтол», Россия), в состав которых входили реакционная смесь, разбавитель и Taq-ДНК-полимераза. Компоненты были смешаны и центрифугированы в центрифуге для микропробирок. 20 мкл смеси реагентов и 5 мкл контрольных и исследуемых образцов были помещены в пробирки для ПЦР. После кратковременного центрифугирования пробирки были помещены в блок детектирующего амплификатора. ПЦР проводилась программным обеспечением

автоматический: использовался метод ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США). В ходе амплификации была выполнена инкубация при 95°C в течение 3 минут, денатурация при 95°C в течение 15 секунд и отжиг при 60°C *SLCO1B1*\*5 и при 63°C для *ABCB1* на протяжении 40 секунд в течение 39 циклов.

Сигнал флуоресценции развивался детектировали по соответствующему каналу: каналу для флуорофора FAM (карбоксифлуоресцеин, флуоресцентный краситель, длина волны поглощения которого составляет 492 нм, а длина волны флуоресценции 520 нм) и каналу для флуорофора HEX (флуоресцентный краситель, длина волны поглощения которого составляет 535 нм, а длина волны флуоресценции 556 нм).

Флуоресцентный сигнал выявляется в определенном канале детекции, что говорит об уровне экспрессии изучаемого полиморфизма и делает возможным определение аллельного варианта. Гидролиз зонда комплементарного ДНК с аллелем Т приводит к флуоресцентному сигналу по каналу FAM, а с аллелем С – по каналу HEX. В случае обнаружения генотипа гетерозиготы сигнал флуоресценции выявляется по двум каналам (FAM+HEX). Каналы детекции аллельных вариантов и интерпретация полученных данных визуализированы в таблицах 5 и 6.

**Таблица 5** – Каналы детекции аллельных вариантов генов *ABCB1* (rs1045642) и *SLCO1B1*\*5 (rs4149056)

Канал детекции	Аллель	Генотип
Аллель 1 (FAM)	Аллель Т	Генотип Т/Т
Гетерозигота (FAM+HEX)	Аллель Т+аллель С	Генотип Т/С
Аллель 2 (HEX)	Аллель С	Генотип С/С

*\*Адаптировано из инструкции по применению набора реагентов для определения соответствующих полиморфизмов (ООО «Синтол», Россия).*

**Таблица 6** – Интерпретация аллельных вариантов генотипов *ABCB1* (rs1045642) и *SLCO1B1*\*5 (rs4149056)\*

Генетический полиморфизм	Гомозигота FAM/ FAM	Гомозигота HEX/ HEX	Гетерозигота FAM/ HEX
<i>ABCB1</i> (С3435Т rs1045642)	ТТ	СС	ТС
<i>SLCO1B1</i> *5 (Т521С rs4149056)	ТТ	СС	ТС

*\*Адаптировано из инструкции по применению набора реагентов для определения соответствующих полиморфизмов (ООО «Синтол», Россия).*

Носительство однонуклеотидного полиморфизма rs4148738 C>T гена *ABCB1* определялось с помощью коммерческих наборов «TaqMan® SNP Genotyping Assays» и TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems, США). К реагентам: 0,5мкл «TaqMan® SNP Genotyping Assays» в 40-кратном разведении в 10 мкл TaqMan Universal Master Mix II, no UNG, добавляли 9,5 мкл воды, свободной от РНКаз, и по 5 мкл ДНК исследуемых образцов. После кратковременного центрифугирования пробирки были помещены в блок детектирующего амплификатора. Аллель-специфическая ПЦР в режиме реального времени проводилась на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США). Программа амплификации включала в себя этап инкубации при 95°C в течение 10 минут, денатурации при 95°C в течение 15 секунд и отжиг при 60°C на протяжении 1 минуты в течение 49 циклов.

Выявление флуоресцентного сигнала происходило с использованием зондов, меченных флуоресцентными красителями FAM и VIC по механизму, аналогичному описанному для детекции носительства однонуклеотидных полиморфизмов *ABCB1* (C3435T rs1045642) и *SLCO1B1*\*5 (T521C rs4149056). Гидролиз зонда комплементарного ДНК с аллелем Т приводит к флуоресцентному сигналу по каналу FAM, а с аллелем С – по каналу VIC. В случае обнаружения генотипа гетерозиготы сигнал флюоресценции выявляется по двум каналам (FAM+ VIC). Каналы детекции аллельных вариантов и интерпретация полученных данных визуализированы в таблицах 7 и 8.

**Таблица 7 – Каналы детекции аллельных вариантов гена *ABCB1* (rs4148738)\***

<b>Каналы детекции</b>	<b>Аллель</b>	<b>Генотип</b>
Аллель 1 (FAM)	Аллель Т	Генотип Т/Т
Гетерозигота (FAM+ VIC)	Аллель Т+аллель С	Генотип Т/С
Аллель 2 (VIC)	Аллель С	Генотип С/С

*\* Адаптировано из инструкции по применению набора реагентов для определения соответствующих полиморфизмов TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, США)*

**Таблица 8** – Интерпретация аллельных вариантов генотипа *ABCB1* (rs4148738)\*

Генетический полиморфизм	Гомозигота FAM/ FAM	Гомозигота VIC/ VIC	Гетерозигота FAM/ VIC
rs4148738 C>T гена <i>ABCB1</i>	ТТ	СС	ТС

\* *Адаптировано из инструкции по применению набора реагентов для определения соответствующих полиморфизмов TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, США)*

Таким образом, в результате проведенного исследования для каждого пациента составлялось заключение по генотипам rs1045642 гена *ABCB1*, rs4148738 гена *ABCB1*, rs4149056 гена *SLCO1B1*.

Заключение по результатам генотипирования по генотипу *ABCB1* (C3435T rs1045642): «нормальная» гомозигота – генотип СС, гетерозигота с полиморфизмом по генотипу СТ, гомозигота по полиморфизму с генотипом ТТ; по генотипу *ABCB1* (C>T rs4148738): «нормальная» гомозигота – генотип СС, гетерозигота с полиморфизмом по генотипу СТ, гомозигота по полиморфизму с генотипом ТТ; по генотипу *SLCO1B1*\*5 (T521C rs4149056): «нормальная» гомозигота – генотип ТТ, гетерозигота с полиморфизмом по генотипу ТС, гомозигота по полиморфизму с генотипом СС.

## 2.6 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  $p < 0,05$  (при статистической мощности  $> 80\%$ ).

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

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.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

В ходе исследования оценивались нежелательные лекарственные реакции со стороны органов кроветворения, со стороны центральной нервной системы, со стороны органов чувств, со стороны дыхательной системы, со стороны желудочно-кишечного тракта, печени, 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, которые возникли у 57 пациентов (76%). Все нежелательные лекарственные реакции, отмечавшихся у исследуемой выборки пациентов, представлены в таблице.

**Таблица 9** – Нежелательные лекарственные реакции, наблюдавшиеся у пациентов с псориазом при терапии метотрексатом

Орган или система органов	Нежелательные лекарственные реакции	Количество пациентов
Желудочно-кишечный тракт	Диспепсия	33 (44%)
	Тошнота	29 (38,67%)
	Диарея	17 (22,67%)
	Боль в животе	12 (16%)
	Стоматит	3 (4%)
	Изжога	2 (2,67%)
	Боль в правом подреберье	4 (5,33%)
	Рвота	2 (2,67%)
Мочевыделительная система	Повышение уровня креатинина	22 (29,33%)
	Протеинурия	4 (5,33%)



## Продолжение Таблицы 9

Орган или система органов	Нежелательные лекарственные реакции	Количество пациентов
Печень	Повышение уровня АЛТ	21 (28%)
	Повышение уровня АСТ	11 (14,67%)
	Повышение уровня щелочной фосфатазы	3 (4%)
Центральная нервная система	Сонливость, повышенная утомляемость	24 (32%)
	Головная боль	4 (5,33%)
	Бессонница	10 (13,33%)
	Головокружение	1 (1,33%)
Органы чувств	Парестезии	1 (1,33%)
Костно-мышечная система	Мышечная боль	1 (1,33%)
Кожные покровы	Зуд	1 (1,33%)
	Макуло-папулезные высыпания	2 (1,33%)
Дыхательная система	Одышка	1 (1,33%)
Всего		57 (76%)

Далее мы сгруппировали НЛР 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 гепатоксичности были 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».

Примечательно, что у пациентов изучаемой выборки не было обнаружено клинически значимых проявлений гематологической токсичности.

Категории НЛР представлены в таблице 10.

**Таблица 10** – Распределение нежелательных лекарственных реакций по органам и системам

<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%)
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	5 (6,67%)
Всего	57 (76%)

### **3.1.1 Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта**

Все пациенты, испытывавшие те или иные НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, были анкетированы по опроснику тяжести симптомов со стороны органов пищеварения GSRS, оценивающему качество жизни пациентов с учетом жалоб на различные нарушения со стороны ЖКТ. Наиболее часто интенсивность симптомов была оценена пациентами от 1 балла (незначительный дискомфорт) до 4 баллов (относительно сильный, но терпимый дискомфорт). Максимальный общий балл по шкале составил 27, минимальный – 3. Среднее значение составило  $7,97 \pm 9,18$  баллов.

Анализ НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта проводился по каждой категории симптомов индивидуально.

Стоматит был выявлен у 3 пациентов (4%). У двух пациентов проявления развивались на 4-5 день после первой инъекции метотрексата, у одного пациента – на третий день после второй инъекции препарата. Средняя длительность существования симптомов составила 10 дней.

Тяжесть проявлений по шкале СТСАЕ у всех пациентов составила 1 балл (слабая токсичность, слабо или умеренно выраженные симптомы, не требующие терапевтического вмешательства), поскольку стоматит проявлялся появлением язв в полости рта и умеренной болезненностью, при этом прием пищи пациента не был нарушен.

Диарея отмечалась у 17 пациентов (22,67%). Симптомы появлялись как правило, через несколько часов после инъекции метотрексата, сохранялись на протяжении 2-3 дней, возникали снова при следующей инъекции. Тяжесть проявлений по шкале СТСАЕ у большинства пациентов составила 1 балл, так как стул у пациентов отмечался не более 4 раз в сутки. У трех пациентов стул отмечался до 6 раз в сутки и тяжесть проявлений по шкале СТСАЕ соответствовала 2 баллам.

Жалобы на тошноту предъявляли 29 пациентов (38,67%). Симптомы возникали спустя в среднем 4,5 часов после инъекции метотрексата и длилась в среднем около трех дней (2,96 дней), возобновляясь после повторных инъекций. Пациенты оценивали выраженность тошноты в баллах при помощи визуальной аналоговой шкалы: средний балл составил  $2,78 \pm 3,55$ . Максимальный балл составил 10, минимальный – 3. У пяти пациентов тошнота нарушала привычный режим приема пищи, и в связи с этим была расценена в 2 балла по шкале СТСАЕ, у остальных 24 пациентов тошнота приводила только к снижению аппетита, и соответствовала 1 баллу. У двух пациентов на фоне приема метотрексата возникала рвота, не потребовавшая специальной регидратационной терапии (СТСАЕ балл = 1).

Двое пациентов отмечали возникновение изжоги спустя 7-12 часов после инъекции метотрексата, длившейся на протяжении 4-6 дней. Изжога проявлялась как неприятное жгучее или жалящее ощущение в области грудной клетки.

12 пациентов (16%) предъявляли жалобы на боли в животе различного характера: распирающие, ноющие, тянущие. Один пациент испытывал боли в правом подреберье. Они развивались в течение 1 – 2 дней после инъекции и были непродолжительны: длительность не превышала 24 часа. Выраженность болей в животе пациенты оценивали по визуальной аналоговой шкале в среднем на  $1,05 \pm 1,54$  балла. По шкале СТСАЕ боль была оценена в 1 балл, так как была умеренной.

Помимо описанных нежелательных лекарственных реакций, 33 пациента (44%) описывали другие симптомы, которые были объединены в категорию «диспепсия». Пациенты предъявляли жалобы на урчание в животе, чувство распирания живота воздухом, отрыжку, которую пациенты описывали как высвобождение воздуха из желудка через рот, метеоризм. Пациенты жаловались на дискомфорт в верхней части живота, дискомфорт в области желудка, ощущение затекания в горло кислой или горькой жидкости из желудка, ощущение неприятной пустоты в желудке. Некоторые пациенты жаловались на сниженную, по сравнению с

нормальной, способность к опорожнению кишечника, другие – на чередование жидкого и слишком твердого стула, с преобладанием жидкого стула, внезапную потребность опорожнить кишечник. Диспептические симптомы возникали в течение первых суток после инъекции метотрексата и сохранялись в течение нескольких дней. После последующих инъекций симптомы возобновлялись. Оценка НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта по шкале GSRS также выявила преобладание диспептического синдрома над синдромом абдоминальной боли, рефлюкс-синдрома, диарейного синдрома и синдрома запора [Кубанов, А.А. и др., 2023].

Структура и выраженность НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта представлена в таблице 11.

**Таблица 11** – Структура и выраженность нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта

Нежелательные лекарственные реакции	Количество пациентов	Метод оценки выраженности	Степень тяжести/средний балл*
Диспепсия	33 (44%)	СТСАЕ	1 – 2
Тошнота	29 (38,67%)	СТСАЕ	1 – 2
		ВАШ	2,78±3,55
Рвота	2 (2,67%)	СТСАЕ	1
Диарея	17 (22,67%)	СТСАЕ	1 – 2
Боль в животе	12 (16%)	СТСАЕ	1
		ВАШ	1,05±1,54
Боль в правом подреберье	4 (5,33%)	СТСАЕ	1
Стоматит	3 (4%)	СТСАЕ	1
Изжога	2 (2,67%)	–	–
Все нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	38 (50,67%)	GSRS	7,97±9,18

\*По шкале СТСАЕ выраженность оценивалась в степенях тяжести, по GSRS и визуальным аналоговым шкалам – в баллах.

### 3.1.2 Нефротоксичность метотрексата

Нефротоксичность метотрексата устанавливалась на основании данных лабораторных исследований, если по результатам биохимического анализа крови и общего анализа были выявлены маркеры поражения почек.

У 22 пациентов (29,33%) уровень креатинина по результатам биохимического анализа крови превышал установленные границы нормы. Превышение не было выше более, чем в 1,5 раза от верхней границы нормы (106 мкмоль/л для мужчин и 90 мкмоль/л для женщин), в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня креатинина было оценено как НЛР первой степени тяжести.

У 4 пациентов (5,33%) была выявлена протеинурия, когда уровень белка в моче по результатам общего анализа мочи превышал верхнюю границу нормы (0,033 г/л). Уровень белка в моче не превышал 1,0 г/л, в связи с этим по шкале СТСАЕ протеинурия была оценена как НЛР первой степени тяжести.

Структура и выраженность проявлений нефротоксичности метотрексата представлена в таблице 12.

**Таблица 12** – Структура и выраженность проявлений нефротоксичности метотрексата

<b>Нежелательные лекарственные реакции</b>	<b>Количество пациентов</b>	<b>Метод оценки выраженности</b>	<b>Степень тяжести</b>
Повышение уровня креатинина	22 (29,33%)	СТСАЕ	1
Протеинурия	4 (5,33%)	СТСАЕ	1
Все проявления нефротоксичности метотрексата	25 (33,33%)	СТСАЕ	1

### 3.1.3 Гепатотоксичность метотрексата

Гепатотоксичность метотрексата устанавливалась на основании данных лабораторных исследований, если по результатам биохимического анализа крови были выявлены маркеры поражения печени.

У 21 пациента (28%) уровень АЛТ по результатам биохимического анализа крови превышал установленные границы нормы. У 17 пациентов превышение не было выше, чем в 3 раза от верхней границы нормы (45 ед/л у мужчин, 35 ед/л у женщин), в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня АЛТ было оценено как НЛР первой степени тяжести. У одного пациента на фоне терапии метотрексатом уровень АЛТ составил 140,9 ед/л при исходном уровне АЛТ 32,4 ед/л. Показатель в 3,13 раз превысил норму, в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня АЛТ было оценено как НЛР второй степени тяжести. У еще одного пациента на фоне терапии метотрексатом уровень АЛТ составил 384,1 ед/л при исходном уровне АЛТ 35,5 ед/л. Показатель в 8,54 раз превысил норму, в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня АЛТ было оценено как НЛР третьей степени тяжести.

У 11 пациентов (14,67%) уровень АСТ по результатам биохимического анализа крови превышал установленные границы нормы. У 10 пациентов превышение не было выше, чем в 3 раза от верхней границы нормы (37 ед/л у мужчин, 31 ед/л у женщин), в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня АСТ было оценено как НЛР первой степени тяжести. У одного пациента на фоне терапии метотрексатом уровень АСТ составил 142,8 ед/л при исходном уровне АСТ 17,6 ед/л. Показатель в 3,85 раз превысил норму, в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня АСТ было оценено как НЛР второй степени тяжести.

У 3 пациентов (4%) по результатам биохимического анализа крови было выявлено повышение уровня щелочной фосфатазы. Превышение не было выше, чем в 2,5 раза от верхней границы нормы (130 ед/л у мужчин и 110 ед/л у женщин), в связи с этим по шкале СТСАЕ повышение уровня щелочной фосфатазы было оценено как НЛР первой степени тяжести.

Структура и выраженность проявлений гепатотоксичности метотрексата представлена в таблице 13.

**Таблица 13** – Структура и выраженность проявлений гепатотоксичности метотрексата

<b>Нежелательные лекарственные реакции</b>	<b>Количество пациентов</b>	<b>Метод оценки выраженности</b>	<b>Степень тяжести</b>
Повышение уровня АЛТ	21 (28%)	СТСАЕ	1 – 3
Повышение уровня АСТ	11 (14,67%)	СТСАЕ	1 – 2
Повышение уровня щелочной фосфатазы	3 (4%)	СТСАЕ	1
Все проявления гепатотоксичности метотрексата	22 (29,3%)	СТСАЕ	1 – 3

### 3.1.4 Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы

24 пациента (32%) предъявляли жалобы на сонливость и повышенную утомляемость, возникавшие после инъекций метотрексата в среднем спустя  $6,5 \pm 1,8$  часов и сохранявшиеся в среднем  $72 \pm 24$  часа. Выраженность сонливости и повышенной утомляемости оценивалась пациентами по визуальной аналоговой шкале в баллах: значения составили от 3 до 8 (в среднем  $5,2 \pm 1,2$  балла). У 14 пациентов отдых помогал снизить выраженность симптомов, в связи с чем НЛР была присвоена 1 степень тяжести по шкале СТСАЕ. У 10 пациентов отдых не влиял на выраженность симптомов, в связи с чем НЛР была присвоена 2 степень тяжести по шкале СТСАЕ.

10 пациентов (13,33%) предъявляли жалобы на бессонницу слабой степени выраженности, возникавшую в течение первых суток после инъекций метотрексата и сохраняющуюся около 48 часов. НЛР была присвоена 1 степень тяжести по шкале СТСАЕ.

4 пациента (5,33%) отмечали головные боли умеренной выраженности, в связи с чем НЛР была присвоена 2 степень тяжести по шкале СТСАЕ. Головные боли появлялись в течение 8 часов после инъекции метотрексата и сохранялись в течение 24 часов. Все пациенты описывали выраженность боли в 4 балла по визуальной аналоговой шкале.

Один пациент отмечал головокружение после инъекций метотрексата, сохранявшееся в течение 6 часов, однако, оно не оказало влияние на устойчивость походки пациента или другие его движения и было классифицировано как НЛР 1 степени тяжести по СТСАЕ.

Структура и выраженность НЛР метотрексата со стороны центральной нервной системы представлена в таблице 14.

**Таблица 14** – Структура и выраженность нежелательных лекарственных реакций метотрексата со стороны центральной нервной системы

Нежелательные лекарственные реакции	Количество пациентов	Метод оценки выраженности	Степень тяжести/средний балл*
Сонливость, повышенная утомляемость	24 (32%)	СТСАЕ	1 – 2
		ВАШ	5,2

## Продолжение Таблицы 14

Нежелательные лекарственные реакции	Количество пациентов	Метод оценки выраженности	Степень тяжести/средний балл*
Бессонница	10 (13,33%)	СТСАЕ	1 – 2
Головная боль	4 (5,33%)	СТСАЕ	1 – 2
		ВАШ	4,0
Головокружение	1 (1,33%)	СТСАЕ	1
Все нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	39 (52%)	–	–

\*По шкале СТСАЕ выраженность оценивалась в степенях тяжести, по визуальным аналоговым шкалам – в баллах.

### 3.1.5 Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата

У одной пациентки (1,33%) были выявлены парестезии: пациентка отмечала нарушение чувствительности в течение 6-8 часов после каждой инъекции метотрексата, которое описывала как «холод позвоночного столба». Выраженность парестезий относилась к легкой степени выраженности, поэтому была классифицирована как НЛР 1 степени тяжести по шкале СТСАЕ.

Один пациент (1,33%) предъявлял жалобы на боли в мышцах после инъекций метотрексата. Мышечные боли характеризовались легкой выраженностью, поэтому были классифицированы как НЛР 1 степени тяжести по шкале СТСАЕ.

Один пациент (1,33%) предъявлял жалобы на генерализованный зуд, не имеющий отношения к псориазическим высыпаниям, не сопровождавшийся появлением каких-либо высыпаний на коже, появившийся спустя 24 часа после инъекции метотрексата. Умеренная выраженность зуда у пациента была оценена как НЛР 2 степени тяжести по шкале СТСАЕ.

Две пациентки отмечали появление высыпаний на коже, сопровождавшихся зудом. Высыпания появлялись на 2 сутки после инъекции метотрексата. У одной пациентки на коже тыльных поверхностей ладоней наблюдались единичные макуло-папулезные высыпания размером до 0,5 см в диаметре, полиморфного характера, с гладкой поверхностью, располагавшиеся на эритематозном фоне, сопровождающиеся умеренным зудом. Кроме того,



на коже тыльных поверхностей ладоней наблюдались эксфолиации. У другой пациентки на коже груди наблюдались единичные макуло-папулезные высыпания полиморфного характера размером до 0,3 см в диаметре, с гладкой поверхностью, располагавшиеся на эритематозном фоне, сопровождающиеся выраженным зудом. Некоторые элементы сливались между собой и формировали очаги диаметром до 0,5 см в диаметре. Кроме того, на коже груди наблюдались линейные эксфолиации. НЛР метотрексата со стороны кожи были классифицированы как НЛР 1 степени тяжести по шкале СТСАЕ, так как поражение не превышало 20% поверхности тела.

Структура и выраженность иных НЛР метотрексата представлена в таблице 15.

**Таблица 15** – Структура и выраженность иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата

<b>Нежелательные лекарственные реакции</b>	<b>Количество пациентов</b>	<b>Метод оценки выраженности</b>	<b>Степень тяжести</b>
Парестезии	1 (1,33%)	СТСАЕ	1
Мышечная боль	1 (1,33%)	СТСАЕ	1
Зуд	1 (1,33%)	СТСАЕ	2
Мелкопапулезные высыпания	2 (2,67%)	СТСАЕ	1
Все иные нежелательные лекарственные реакции	5 (6,67%)	СТСАЕ	1 – 2

### **3.1.6 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по классификации, применяемой программой ВОЗ по международному мониторингу лекарств**

Согласно анализу нежелательных лекарственных реакций метотрексата по классификации, в основу которой положены предложения Wade & Beely, Rawlings & Thomson, модифицированные впоследствии Royer, применяемая программой ВОЗ по международному мониторингу лекарств, большинство НЛР (возникшие у 55 пациентов) были классифицированы как НЛР типа А, так как были обусловлены фармакологическими свойствами и фармакодинамически обусловленной токсичностью. Появление макуло-папулезных высыпаний

у двух пациентов было классифицировано как НЛР типа В, так как был предположен иммуноаллергический механизм их развития.

### **3.1.7 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по категории вреда, причиненного здоровью пациента**

По категории вреда, причиненного здоровью пациента, все нежелательные лекарственные реакции относились к типу Е – временный вред здоровью, потребовавший дополнительного лечения. По данным медицинской документации, в некоторых случаях, пациенты получали дополнительное лечение в связи с возникшими НЛР (таблица 16).

**Таблица 16** – Терапия нежелательных лекарственных реакций, возникших при лечении метотрексатом

<b>Вид терапии</b>	<b>Количество пациентов</b>
Фосфолипиды	14 (18,6%)
Ингибиторы протонного насоса	8 (10,6)
Анксиолитические средства	11 (14,6%)
Энтеросорбенты	1 (1,3%)
Противорвотный препарат	1 (1,3%)

### **3.1.8 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по предотвратимости**

Анализ предотвратимости НЛР по шкале J. Hallas и соавт. (1990) показал, что большинство НЛР относились к «непредотвратимым», так как возникали при применении стандартных схем лечения и отмечались у пациентов впервые. «Непредотвратимые» НЛР возникали у 46 пациентов (61,3%). Часть НЛР была классифицирована как «вероятно предотвратимые»: в том случае, если пациент указывал, что подобные симптомы возникали ранее при терапии метотрексатом. «Вероятно предотвратимые» НЛР отмечались у 11 пациентов (14,6 %).

### **3.1.9 Характеристика нежелательных лекарственных реакций по степени достоверности связи «нежелательная лекарственная реакция – лекарство»**

Нами были 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 балл, что соответствовало «возможной» степени достоверности связи.

### **3.2 Изучение влияния полиморфизмов генов *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) на безопасность терапии метотрексатом**

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

Проанализировано распределение аллельных вариантов полиморфизмов генов *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) и соответствие их распределения закону Харди-Вайнберга у пациентов с псориазом, получавших метотрексат.

По результатам генотипирования *ABCB1* по полиморфному маркеру С3435Т (rs1045642) у 75 пациентов с псориазом, получавших метотрексат, были получены следующие данные:

- Количество пациентов, являющихся носителем не мутантного гена *ABCB1* rs1045642 (генотип СС) составило – 14 (18,67%);
- Количество пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма С3435Т гена *ABCB1* (генотип СТ) составило – 34 (45,33%);
- Количество пациентов, являющихся гомозиготными носителями полиморфизма С3435Т гена *ABCB1* (генотип ТТ) составило – 27 (36,00%).

Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 0,32$ ;  $p = 0,572$ ).

По результатам генотипирования *ABCB1* по полиморфному маркеру rs4148738 (С>Т) у 75 пациентов, с псориазом, получавших метотрексат, были получены следующие данные:

- Количество пациентов, являющихся носителем не мутантного гена *ABCB1* rs4148738 C>T (генотип CC) составило – 22 (29,33%);
- Количество пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма rs4148738 C>T *ABCB1* (генотип СТ) составило – 38 (50,67%);
- Количество пациентов, являющихся гомозиготными носителями полиморфизма rs4148738 C>T *ABCB1* (генотип ТТ) составило – 15 (20%).

Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 0,037$ ;  $p = 0,847$ ).

По результатам генотипирования *SLCO1B1* по полиморфному маркеру *SLCO1B1*\*5 rs4149056 (T521C) у 75 пациентов, с псориазом, получавших метотрексат, были получены следующие данные:

- Количество пациентов, являющихся носителем не мутантного гена *SLCO1B1*\*5 (генотип ТТ) составило – 49 (65,33%);
- Количество пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма *SLCO1B1*\*5 T521C (генотип ТС) составило – 20 (26,67%);
- Количество пациентов, являющихся гомозиготными носителями полиморфизма *SLCO1B1*\*5 T521C (генотип CC) составило – 6 (8%).

Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 3,17$ ;  $p = 0,847$ ).

Данные о распределении аллельных вариантов полиморфизмов генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) обобщены в таблице 17.

**Таблица 17** – Распределение аллельных вариантов полиморфизмов генов *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056)

Выборка	Полиморфизм	Генотип			Частота аллеля	$\chi^2$	$\chi^2$ p-value
		CC	СТ	ТТ			
Пациенты с псориазом, получавшие метотрексат	<i>ABCB1</i> rs1045642	CC	СТ	ТТ	0,59	0,32	0,572
		14 (18,67%)	34 (45,33%)	27 (36,00%)			
	<i>SLCO1B1</i> rs4149056	ТТ	ТС	CC	0,21	3,17	0,075
		49 (65,33%)	20 (26,67%)	6 (8%)			
	<i>ABCB1</i> rs4148738	CC	СТ	ТТ	0,45	0,037	0,847
		22 (29,33%)	38 (50,67%)	15 (20%)			

### **3.2.2 Сопоставление распределения полиморфизмов генов *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) в популяции больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза и других популяциях**

Для сопоставления частот встречаемости полиморфизмов изучаемых генов у больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза и других пациентов было проведено сравнение с частотой встречаемости генотипов у представителей популяций, принимавших участие в других исследованиях.

Информация о встречаемости полиморфизмов у других популяций была получена из данных литературы. При этом, мы отдавали предпочтение группам здоровых добровольцев, однако, ввиду ограниченности литературных данных по распространенности изучаемых полиморфизмов у этой группы, в сравнение были включены также частоты встречаемости генотипов у пациентов российской популяции с различными нозологиями, где не было отклонений от распределения в законе Харди-Вайнберга. Во включенных в сравнение выборках из фармакогенетических и этнофармакогенетических исследований этнически неоднородная выборка была расценена как «общая популяция», а этническая принадлежность пациентов определялась на основе их самоидентификации.

В сравнение частот встречаемости полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* были включены выборки здоровых добровольцев из общей популяции Московского региона (n=141), здоровых добровольцев русской этнической группы (n=136) и здоровых добровольцев-бурят (n=114), а также выборки русских пациентов-представителей Московского региона с фибрилляцией предсердий (n=50), представителей Московского региона с гипертонической болезнью (n=100), представителей общей популяции Воронежской области с колоректальным раком (n=285) и пациентов Воронежской области без диагноза колоректальный рак (n=275), представителей Московского региона с язвенной болезнью желудка (n=68). Несмотря на то, что часть популяции, с которой проводилось сравнение, была представлена пациентами бурятской этнической группы, это не отразилось на результате анализа, так как в приведенном этнофармакогенетическом исследовании для гена *ABCB1* статистически значимых различий между исследуемыми этническими группами не было обнаружено: у русских частота Т-аллеля составила 48,9%, у бурят – 44,7% (p=0,369). Результаты сравнения отражены в таблицах 18, 19.

**Таблица 18** – Сравнение частоты встречаемости полиморфизма rs1045642 гена *ABCBI* отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

Характеристика выборки	Количество пациентов	<i>ABCBI</i> rs1045642 CC	<i>ABCBI</i> rs1045642 CT	<i>ABCBI</i> rs1045642 TT	Частота аллеля T	$\chi^2$ p-value	p*
Пациенты с псориазом, получающие метотрексат (общая популяция)	75	14 (18,67%)	34 (45,33%)	27 (36,00%)	0,59	0,57	
Пациенты с фибрилляцией предсердий (Москва, русская популяция)	50	10 (20,00%)	25 (50,00%)	15 (30,00%)	0,55	0,94	0,784
Пациенты с фибрилляцией предсердий (Москва, общая популяция)	17	5 (29,41%)	9 (52,94%)	3 (17,65%)	0,44	0,76	0,305
Здоровые добровольцы (Москва, общая популяция)	141	47 (33,33%)	63 (44,68%)	31 (21,99%)	0,44	0,26	0,026
Пациенты с гипертонической болезнью (Москва, общая популяция)	100	17 (17,00%)	53 (53,00%)	30 (30,00%)	0,57	0,43	0,593
Пациенты с гипертонической болезнью (Москва, общая популяция)	100	17 (17,00%)	53 (53,00%)	30 (30,00%)	0,57	0,43	0,593
Пациенты с колоректальным раком (Воронеж, общая популяция)	285	86 (30,18%)	129 (45,26%)	70 (24,56%)	0,47	0,12	0,058

## Продолжение Таблицы 18

Характеристика выборки	Количество пациентов	<i>ABCB1</i> rs1045642 CC	<i>ABCB1</i> rs1045642 CT	<i>ABCB1</i> rs1045642 TT	Частота аллеля Т	$\chi^2$ p-value	p*
Пациенты без колоректального рака (Воронеж, общая популяция)	275	57 (20,73%)	140 (50,91%)	78 (28,36%)	0,54	0,69	0,442
Пациенты с язвенной болезнью желудка (Москва, общая популяция)	68	15	35	18	0,52	0,79	0,471

*p\** – сравнение частоты встречаемости генотипов отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат.

**Таблица 19** – Сравнение частоты встречаемости полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

Характеристика выборки	Количество пациентов	<i>ABCB1</i> rs1045642 CC	<i>ABCB1</i> rs1045642 CT+TT	$\chi^2$ p-value	p*
Пациенты с псориазом, получающие метотрексат (общая популяция)	75	14 (18,67%)	61 (81,33%)	0,57	
Здоровые добровольцы русской этнической группы (n=136) и здоровые добровольцы-буряты (n=114)	250	69 (27,6%)	181 (72,4%)	0,06 (русские) 0,11 (буряты)	0,12

*p\** – сравнение частоты встречаемости генотипов отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

В сравнение частот распространённости полиморфизма rs4148738 гена *ABCB1* были включены выборки представители Московского региона с язвенной болезнью желудка (n=68 и

представители Московского и Ярославльского регионов, перенесших пластику коленного сустава (n=60). Результаты сравнения отражены в таблице 20.

**Таблица 20** – Сравнение частоты встречаемости полиморфизма rs4148738 гена *ABCB1* отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

Характеристика выборки	Кол-во пациентов	<i>ABCB1</i> rs4148738 CC	<i>ABCB1</i> rs4148738 CT	<i>ABCB1</i> rs4148738 TT	Частота аллеля Т	$\chi^2$ p-value	p*
Пациенты с псориазом, получающие метотрексат	75	22 (29,33%)	38 (50,67%)	15 (20%)	0,45	0,85	
Пациенты с язвенной болезнью желудка (Москва, общая популяция)	68	12 (17,65%)	37 (54,41%)	19 (27,94%)	0,55	0,41	0,21
Пациенты, перенесшие пластику коленного сустава (Москва, Ярославль, общая популяция)	60	20 (33.3)	25 (41.7)	15 (25)	0,46	0,21	0,57

p\* – сравнение частоты встречаемости генотипов отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

В сравнение частот распространённости полиморфизма rs4149056 *SLCO1B1* были включены выборки пациентов русской этнической группы с гиперхолестеринемией (n=1071), пациентов из общей популяции Ярославльского (n=81) и Рязанского (n=121) региона, принимающих статины. Результаты сравнения отражены в таблице 21.

**Таблица 21** – Сравнение частоты встречаемости полиморфизма rs4148738 гена *ABCB1* отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

Характеристика выборки	Количество пациентов	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TT	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TC	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 CC	Частота аллеля Т	$\chi^2$ p-value	p*
Общая популяция псориаз метотрексат	75	49 (65,33%)	20 (26,67%)	6 (8%)	0,21	0,075116	



Продолжение Таблицы 21

Характеристика выборки	Количество пациентов	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TT	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TC	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 CC	Частота аллеля T	$\chi^2$ p-value	p*
Пациенты с гиперхолестеринемией (русская популяция)	1071	665 (62,09%)	346 (32,31%)	60 (5,60%)	0,22	0,094678	0,47
Пациенты, принимающие статины (Ярославль, общая популяция)	81	52 (64,20%)	27 (33,33%)	2 (2,47%)	0,19	0,487888	0,23
Пациенты, принимающие статины (Рязань, общая популяция)	121	67 (55,37%)	46 (38,02%)	8 (6,61%)	0,26	0,977982	0,26
Пациенты с гиперхолестеринемией (русская популяция)	1071	665 (62,09%)	346 (32,31%)	60 (5,60%)	0,22	0,094678	0,47
Пациенты, принимающие статины (Ярославль, общая популяция)	81	52 (64,20%)	27 (33,33%)	2 (2,47%)	0,19	0,487888	0,23
Пациенты, принимающие статины (Рязань, общая популяция)	121	67 (55,37%)	46 (38,02%)	8 (6,61%)	0,26	0,977982	0,26

*p\** – сравнение частоты встречаемости генотипов отдельных популяций с популяцией пациентов с псориазом, получающих метотрексат

Частоты аллелей у всех проанализированных популяций соответствовала распределению по закону Харди–Вайнберга. 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 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

### 3.2.3 Анализ влияния полиморфизма *ABCBI* C3435T rs1045642 на безопасность терапии

#### 3.2.3.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCBI* C3435T rs1045642 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Генотип СС был выявлен у 14 (18,67%) пациентов, генотип СТ – у 34 (45,33%) пациентов, генотип ТТ – у 27 (36,00%) пациентов. Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 0,32$ ;  $p = 0,572$ ).

Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCBI* C3435T rs1045642 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам представлена в таблице 22.

**Таблица 22** – Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCBI* C3435T rs1045642 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Показатель	<i>ABCBI</i> rs1045642 СС	<i>ABCBI</i> rs1045642 ТС	<i>ABCBI</i> rs1045642 ТТ	Достоверность различий (p- value)
N (%)	14 (18,67%)	34 (45,33%)	27 (36,00%)	
Возраст, лет	43,23 ± 14,71	49,79 ± 16,61	52,30 ± 14,54	0,231
Масса, кг	81,65 ± 10,37	81,00 [73,25; 88,75]	79,07 ± 10,27	0,483
Женщины	6 (42,9%)	12 (35,3%)	10 (37,0%)	0,885
Мужчины	8 (57,1%)	22 (64,7%)	17 (63,0%)	0,885
Рост, см	168,43 ± 6,50	170,50 ± 6,38	169,81 ± 5,92	0,581
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	23,01 ± 4,65	23,40 [20,33; 25,50]	26,50 [22,05; 29,60]	0,095
Динамика индекса PASI (%)	39,89 [32,24; 54,55]	37,41 [24,23; 51,78]	39,25 [32,49; 49,35]	0,556
Псориатический артрит	3 (21,4%)	16 (47,1%)	7 (25,9%)	0,117
Количество инъекций метотрексата, шт.	2,64 ± 1,15	3,00 [3,00; 4,00]	3,00 [3,00; 4,00]	0,149

**Продолжение Таблицы 22**

Сопутствующая фототерапии	5 (35,7%)	18 (52,9%)	12 (44,4%)	0,531
Сопутствующая терапия преднизолоном	2 (14,3%)	1 (2,9%)	2 (7,4%)	0,352
Средняя доза метотрексата, мг	14,20 ± 3,18	14,30 ± 3,86	13,33 [10,00; 15,62]	0,558

Из полученных данных следует, что группы носителей генотипов СС, СТ и ТТ сопоставимы по всем демографическим, анамнестическим и клиническим характеристикам.

### 3.2.3.2 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта

Был 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 23.

**Таблица 23** – 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%)	0,064
Рвота	0 (0,0%)	2 (5,9%)	0 (0,0%)	0,290
Изжога	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (7,4%)	0,161

## Продолжение Таблицы 23

Показатель	СС (абс., %), N=14	ТС (абс., %), N=34	ТТ (абс., %), N=27	Достоверность различий (p-value)
Боль в животе	1 (7,1%)	11 (32,4%)	14 (51,9%)	0,016
Боль в правом подреберье	0 (0,0%)	2 (5,9%)	2 (7,4%)	0,595
Диспепсия	1 (7,1%)	17 (50,0%)	15 (55,6%)	0,008

Кроме того, мы объединили в одну группу носителей аллеля Т: гетерозигот и гомозигот и провели сравнение между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 24.

**Таблица 24** – 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 (достоверные) различия между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ: проявления токсического действия метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта значимо чаще встречались у носителей генотипов СТ и ТТ ( $p=0,006$ ). При этом, при сравнении групп СС и СТ+ТТ сила связи 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, сила связи возросла при сравнении групп СС и СТ+ТТ ( $p=0,053$ ). При сравнении групп СС и СТ+ТТ сила связи 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,  $p = 0,013$ .

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

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,  $p = 0,04$ .

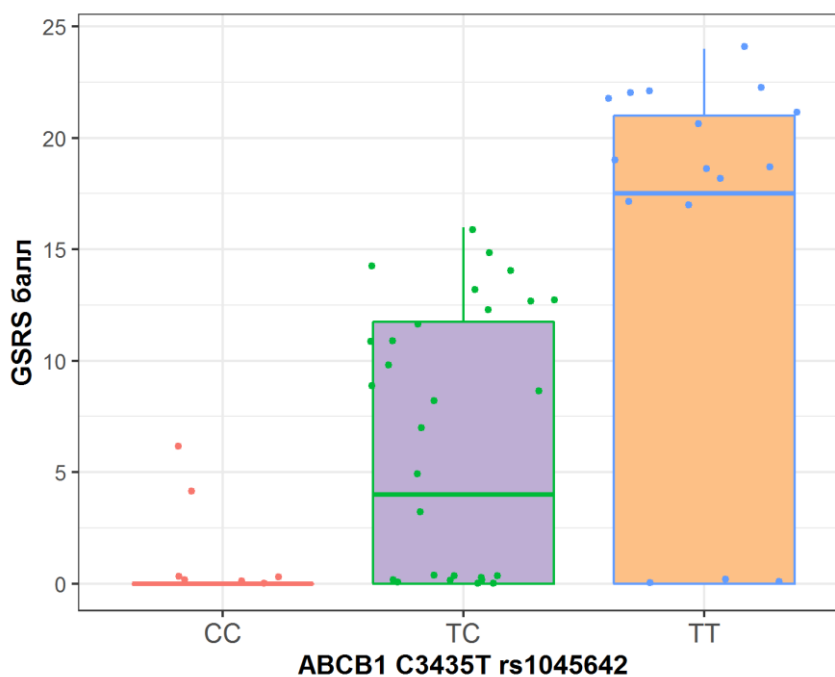
Анализ таких симптомов, как стоматит, рвота, изжога, боль в правом подреберье также не показал наличия статистически значимых различий у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру ABCB1 rs1045642 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

Нами был проведен анализ различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ.

Был проведен анализ различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику тяжести симптомов со стороны органов пищеварения GRSR между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 25 и на рисунке 1.

**Таблица 25** – Результат анализа различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику GRSR со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
СС	<0,05	14	0,00 [0,00; 0,00]	0,71 ± 1,86	0,00	6,00
СТ	<0,05	34	4,00 [0,00; 11,75]	5,74 ± 6,03	0,00	16,00
ТТ	<0,05	26	19,00 [0,00; 22,00]	14,19 ± 10,87	0,00	27,00



**p-value < 0,001 (Тест Крускала-Уоллиса)**

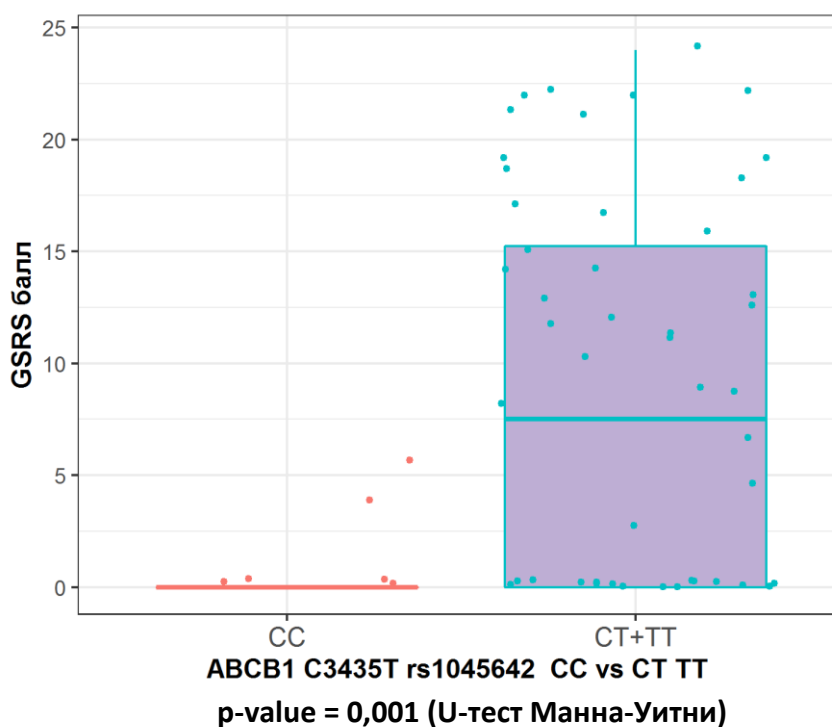
**Рисунок 1** – Результат анализа различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику GRSR со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Результаты демонстрируют, что у носителей генотипов СТ и ТТ балл выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику тяжести симптомов со стороны органов пищеварения GRSR достоверно выше, чем у носителей генотипа СС ( $p < 0,001$ ).

Кроме того, мы провели анализ различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику тяжести симптомов со стороны органов пищеварения GRSR между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 26 и на рисунке 2.

**Таблица 26** – Результат анализа различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику GRSR со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
СТ+ТТ	<0,05	60	9,00 [0,00; 17,25]	9,40 ± 9,40	0,00	27,00
СС	<0,05	14	0,00 [0,00; 0,00]	0,71 ± 1,86	0,00	6,00



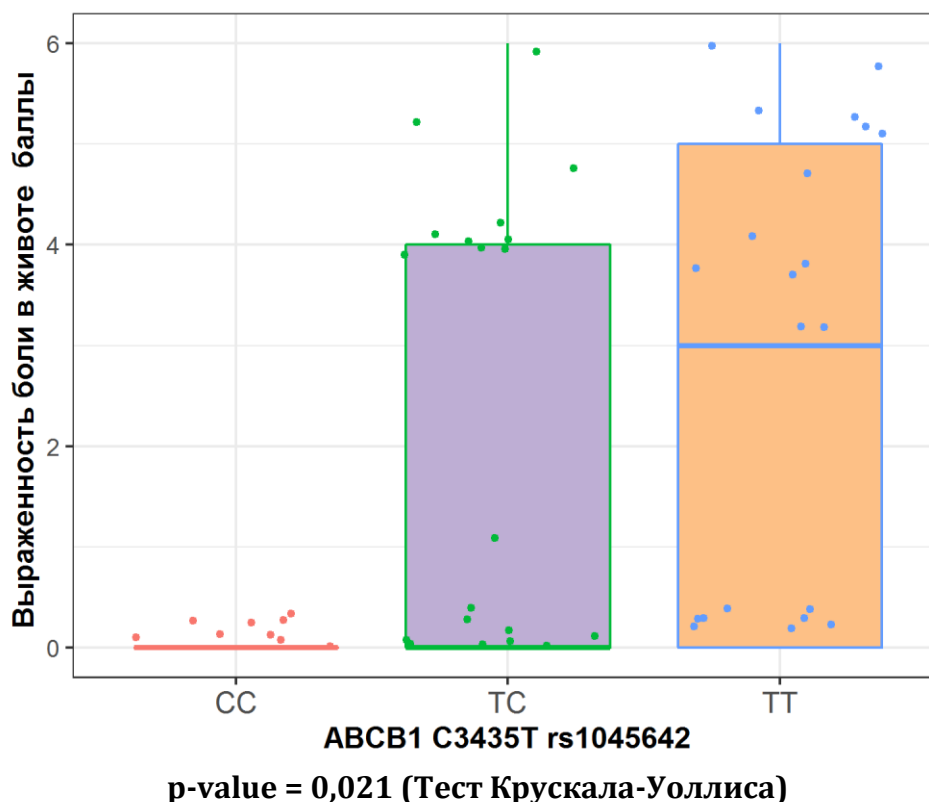
**Рисунок 2** – Результат анализа различий выраженности нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта по опроснику GRSR со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Данные подтверждают наличие статистически значимой разницы по изучаемому показателю в сравниваемых группах.

Был проведен анализ различий выраженности боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ и СС и СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 27, 28 и на рисунках 3, 4.

**Таблица 27** – Результат анализа различий выраженности боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
ТТ	<0,05	27	3.00 [0.00; 5.00]	2,41 ± 2,47	0,00	6,00
СС	<0,05	14	0.00 [0.00; 0.00]	0,50 ± 1,87	0,00	7,00
ТС	<0,05	34	0.00 [0.00; 4.00]	1,32 ± 2,06	0,00	6,00

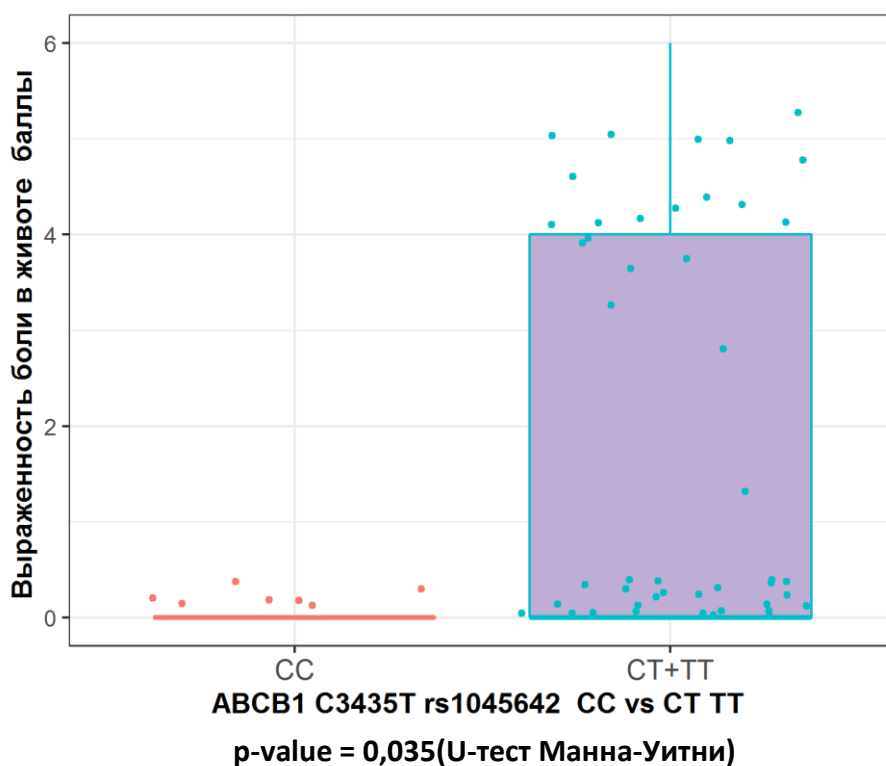


**Рисунок 3** – Результат анализа различий выраженности боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ



**Таблица 28** – Результат анализа различий выраженности боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 CC и CT+TT

Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
CT+TT	<0,05	61	0,00 [0,00; 4,00]	1,80 ± 2,29	0,00	6,00
CC	<0,05	14	0,00 [0,00; 0,00]	0,50 ± 1,87	0,00	7,00



**Рисунок 4** – Результат анализа различий выраженности боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 CC и CT+TT

Анализ показал, что выраженность боли в животе по данным визуальных аналоговых шкал выше у пациентов с генотипами CT и TT по сравнению с пациентами с генотипом CC ( $p = 0,021$ ).

При сравнении групп пациентов с генотипом CC и генотипами CT+TT 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 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

### 3.2.3.3 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы

Был проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 29.

**Таблица 29** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы 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 центральной нервной системы	2 (14,3%)	10 (29,4%)	16 (59,3%)	<b>0,008</b>
Бессонница	0 (0,0%)	1 (2,9%)	8 (29,6%)	<b>0,002</b>
Слабость	2 (14,3%)	9 (26,5%)	13 (48,1%)	<b>0,057</b>
Головная боль	2 (14,3%)	1 (2,9%)	1 (3,7%)	0,253
Головокружение	2 (14,3%)	1 (2,9%)	1 (3,7%)	0,253

Мы объединили в одну группу гетерозигот и гомозигот по аллелю Т и провели сравнение между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 30.

**Таблица 30** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 ТТ и СТ+СС

Показатель	ТТ (абс., %), N=27	СТ+СС (абс., %), N=48	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	16 (59,3%)	12 (25%)	<b>0,004</b>

Результаты анализа демонстрируют, что проявления токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы различаются у носителей разных генотипов и чаще отмечаются у носителей 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 %).

При анализе частоты встречаемости отдельных типов НЛР со стороны центральной нервной системы, статистически значимая разница была установлена в возникновении бессонницы: у носителей аллеля Т бессонница возникала значимо чаще ( $p=0,002$ ). Частота жалоб пациентов на слабость и повышенную утомляемость чаще отмечалась у пациентов с генотипами СТ и ТТ по сравнению с гомозиготами СС, но сила связи оставалась лишь на уровне тенденции к достоверности ( $p=0,057$ ).

Статистически значимых различий в частоте возникновения головной боли и головокружения между пациентами с различными генотипами выявлено не было ( $p=0,253$  для обоих симптомов).

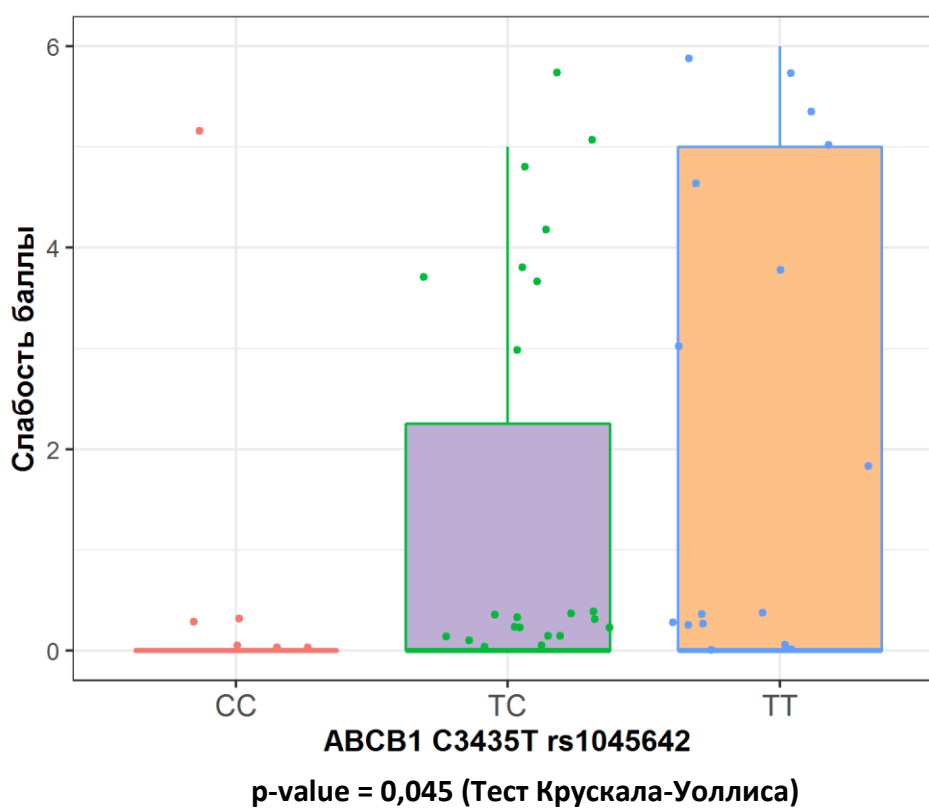
Нами был проведен анализ различий **выраженности** нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ.

Был проведен анализ различий выраженности слабости у пациентов на основании субъективной оценки пациентов при помощи визуальных аналоговых шкал между группами

пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 31 и на рисунке 5.

**Таблица 31** – Результат анализа различий выраженности слабости между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
ТТ	<0,05	27	0,00 [0,00; 5,50]	2,59 ± 2,98	0,00	8,00
СС	<0,05	14	0,00 [0,00; 0,00]	0,86 ± 2,21	0,00	7,00
ТС	<0,05	34	0,00 [0,00; 2,25]	1,21 ± 2,10	0,00	6,00



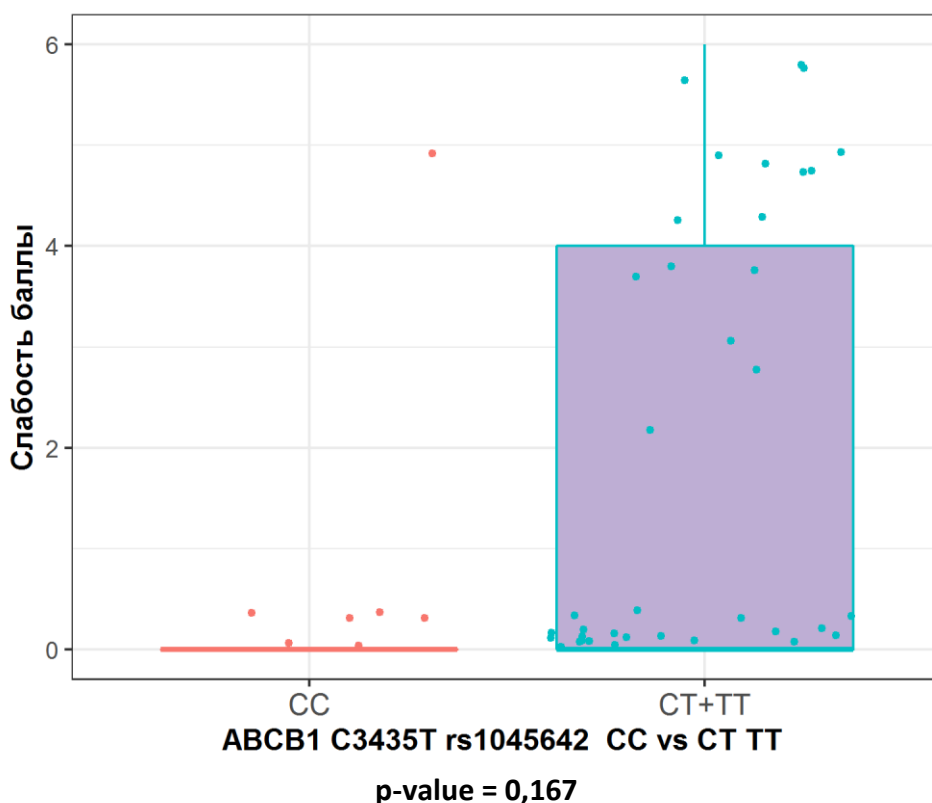
**Рисунок 5** – Результат анализа различий выраженности слабости между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ

Анализ показал, что у носителей генотипов СТ и ТТ балл выраженности слабости был достоверно выше, чем у носителей генотипа СС ( $p=0,045$ ).

Кроме того, мы провели анализ различий выраженности слабости между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 32 и на рисунке 6.

**Таблица 32** – Результат анализа различий выраженности слабости между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

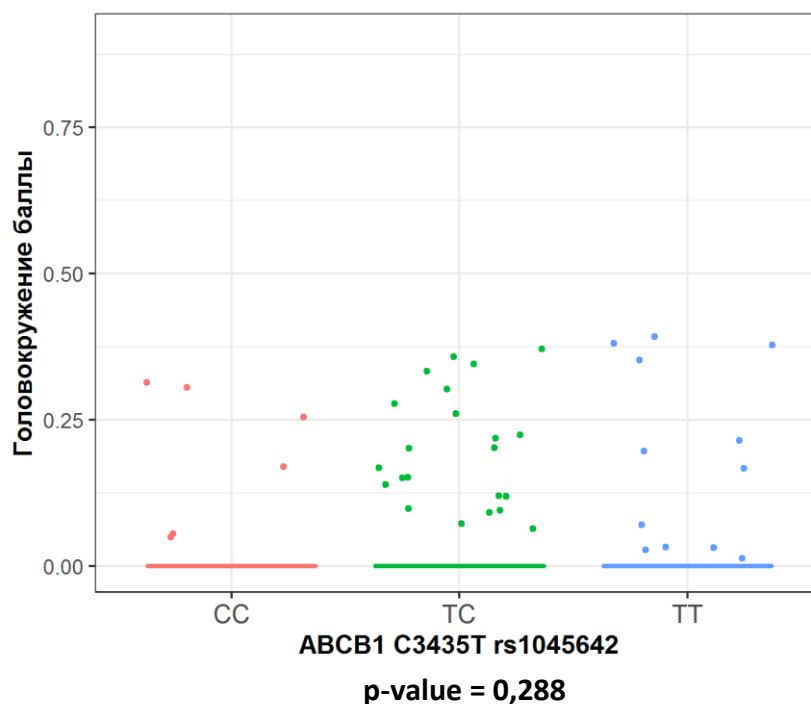
Название подгруппы	p-value (тест Шапиро-Уилка)	N	Медиана [Квартиль 1; Квартиль 3]	Среднее значение ± Стандартное отклонение	Минимум	Максимум
СТ+ТТ	<0,05	61	0,00 [0,00; 4,00]	1,82 ± 2,60	0,00	8,00
СС	<0,05	14	0,00 [0,00; 0,00]	0,86 ± 2,21	0,00	7,00



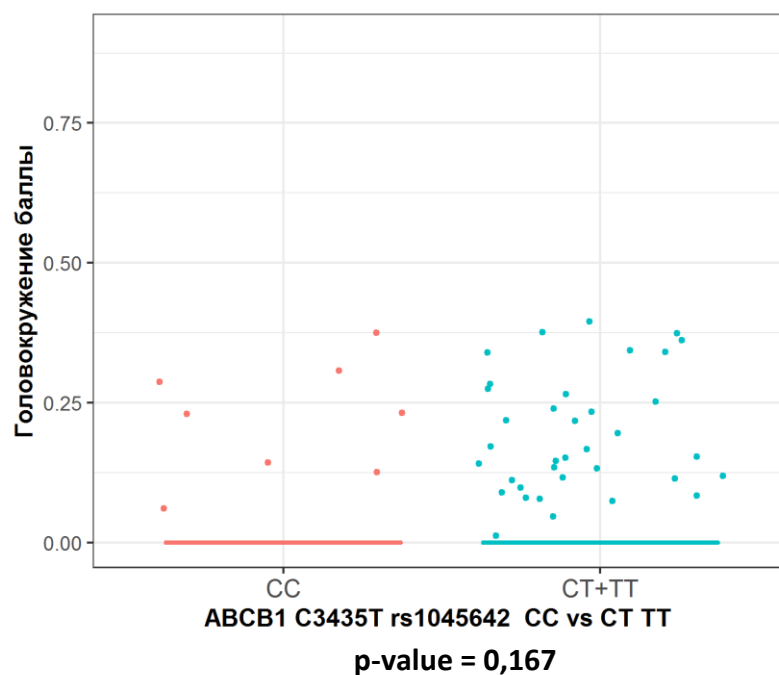
**Рисунок 6** – Результат анализа различий выраженности слабости между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Мы видим, что достоверности разницы между выраженностью слабости при сравнении трех групп пациентов с разными генотипами утрачивается при объединении носителей аллеля Т в одну группу.

Мы рассмотрели различия выраженности головокружения у пациентов с разными генотипами на основании баллов по визуальным аналоговым шкалам, однако статистически значимой разницы не было выявлено при сравнении головокружения ни у носителей генотипов СС, СТ, ТТ, ни у носителей генотипа СС и группы пациентов СТ+ТТ ( $p=0,288$  и  $p=0,167$ , соответственно). Результаты анализа графически представлены на рисунках 7, 8.



**Рисунок 7** – Результат анализа различий выраженности головокружения между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС, СТ и ТТ



**Рисунок 8** – Результат анализа различий выраженности головокружения между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

### 3.2.3.4 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 на возникновение нефротоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 33.

**Таблица 33** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического действия метотрексата 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)
Нефротоксическое действие	4 (28,6%)	9 (26,5%)	12 (44,4%)	0,307
Повышение уровня креатинина	3 (21,4%)	8 (23,5%)	11 (40,7%)	0,263
Протеинурия	13 (92,9%)	33 (97,1%)	25 (92,6%)	0,703

Статистически значимых различий по изучаемым показателями выявлено не было.

Мы объединили носителей аллеля Т в группу СТ+ТТ и сравнили частоту возникновения нефротоксичности между этих групп. Результаты анализа представлены в таблице 34.

**Таблица 34** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=14	СТ+ТТ (абс., %), N=34	Достоверность различий (p-value)
Нефротоксическое действие	4 (28,6%)	21 (34,4%)	0,763
Повышение уровня креатинина	3 (21,4%)	19 (31,1%)	0,746
Протеинурия	1 (7,1%)	3 (4,9%)	0,571

Достоверных различий в частоте развития нефротоксического действия метотрексата, а именно проявляющегося повышением уровня креатинина и протеинурией, у носителей разных генотипов по *ABCB1* rs1045642 обнаружено не было.

### 3.2.3.5 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами СС и СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 35, 36.

**Таблица 35** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата 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)
Гепатотоксическое действие	3 (21,4%)	10 (29,4%)	9 (33,3%)	0,730
Повышение уровня АСТ	1 (7,1%)	5 (14,7%)	5 (18,5%)	0,621
Повышение уровня АЛТ	3 (21,4%)	9 (26,5%)	9 (33,3%)	0,698
Повышение уровня щелочной фосфатазы	0 (0,0%)	3 (8,8%)	0 (0,0%)	0,152

**Таблица 36** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата 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)
Гепатотоксическое действие	3 (21,4%)	19 (31,1%)	0,472
Повышение уровня АСТ	1 (7,1%)	10 (16,4%)	0,678
Повышение уровня АЛТ	3 (21,4%)	18 (29,5%)	0,745
Повышение уровня щелочной фосфатазы	0 (0,0%)	3 (4,9%)	1,000

Достоверной взаимосвязи между генотипами пациентов и гепатотоксическим действием метотрексата, в частности, повышения уровней ферментов печени и щелочной фосфатазы, обнаружено не было.



### 3.2.3.6 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения парестезий, мышечной боли, зуда и макуло-папулезных высыпаний метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами СС и СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 37, 38.

**Таблица 37** – Результаты анализа различий частоты иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата 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)
Иные нежелательные лекарственные реакции	1 (7,1%)	5 (14,7%)	3 (11,1%)	0,752
Парестезии	0 (0,0%)	1 (2,9%)	0 (0,0%)	0,543
Мышечная боль	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,7%)	0,414
Зуд	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,7%)	0,414
Мелкопапулезные высыпания	2 (14,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,011

**Таблица 38** – Результаты анализа различий иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs1045642 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=14	СТ+ТТ (абс., %), N=34	Достоверность различий (p-value)
Иные нежелательные лекарственные реакции	1 (7,1%)	8 (13,1%)	1,000
Парестезии	0 (0,0%)	1 (1,6%)	1,000
Мышечная боль	0 (0,0%)	1 (1,7%)	1,000
Зуд	0 (0,0%)	1 (1,6%)	1,000
Мелкопапулезные высыпания	2 (14,3%)	0 (0,0%)	0,033

Достоверной взаимосвязи между генотипами пациентов и возникновением парестезий, зуда и боли в мышцах, ассоциированных с приемом метотрексата обнаружено не было, однако, следует принимать во внимание то, что подобные НЛР отмечались в единичных случаях.

Появление мелко-папулезных высыпаний отметили лишь двое пациентов, однако, была установлена достоверная связь между носительством генотипа СС и более частым возникновением этой группы НЛР как при сравнении с НЛР у пациентов с тремя разными генотипами, так и при объединении носителей генотипов СТ и ТТ ( $p=0,011$  и  $p=0,033$ , соответственно).

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

#### 3.2.4.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCB1* rs4148738 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Генотип СС был выявлен у 22 (29,33%) пациентов, генотип СТ – у 38 (50,67%); пациентов, генотип ТТ – у 15 (20%) пациентов. Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 0,037$ ;  $p = 0,847$ ).

Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCB1* rs4148738 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам представлена в таблице 39.

**Таблица 39** – Общая характеристика выборки с учетом генотипа *ABCB1* rs4148738 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Показатель	<i>ABCB1</i> rs4148738 СС	<i>ABCB1</i> rs4148738 ТС	<i>ABCB1</i> rs4148738 ТТ	Достоверность различий (p- value)
N (%)	22 (29,33%)	38 (50,67%)	15 (20%)	
Возраст, лет	49,00 ± 15,51	49,89 ± 16,06	49,50 ± 15,99	0,978
Масса, кг	82,00 [71,00; 88,00	81,00 [73,25; 91,00]	81,00 [71,00; 88,50]	0,693

## Продолжение Таблицы 39

Показатель	АВСВ1 rs4148738 СС	АВСВ1 rs4148738 ТС	АВСВ1 rs4148738 ТТ	Достоверность различий (p- value)
Женщины	8 (36,4%)	15 (39,5%)	5 (33,3%)	0,911
Мужчины	14 (63,6%)	23 (60,5%)	10 (66,7%)	0,911
Рост, см	169,41 ± 6,11	170,66 ± 6,44	168,53 ± 5,82	0,471
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	25,40 [23,03; 28,90]	23,10 [20,33; 26,93]	22,20 [20,95; 26,25]	0,143
Динамика индекса PASI (%)	39,19 [32,07; 50,28]	37,70 [26,93; 54,12]	37,83 [30,60; 42,35]	0,825
Псориатический артрит	7 (31,8%)	13 (34,2%)	6 (40,0%)	0,873
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,00 [3,00; 4,00]	3,00 [3,00; 4,00]	3,00 [1,50; 4,00]	0,816
Сопутствующая фототерапии	11 (50,0%)	20 (52,6%)	4 (26,7%)	0,217
Сопутствующая терапия преднизолоном	2 (9,1%)	1 (2,6%)	2 (13,3%)	0,321
Средняя доза метотрексата, мг	13,88 [10,00; 15,94]	13,54 [10,42; 15,00]	16,25 [12,92; 19,00]	0,558

Из полученных данных следует, что группы носителей генотипов СС, СТ и ТТ сопоставимы по всем демографическим, анамнестическим и клиническим характеристикам.

### 3.2.4.2 Анализ влияния полиморфизма АВСВ1 rs4148738 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта

Был проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Также в одну группу носителей аллеля Т были объединены гетерозигот и гомозигот, и было проведено сравнение показателей между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ.

Результаты анализа представлены в таблицах 40, 41.

**Таблица 40** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	13 (59,1%)	21 (55,3%)	4 (26,7%)	0,111
Стоматит	0 (0,0%)	2 (5,3%)	1 (6,7%)	0,509
Диарея	4 (18,2%)	10 (26,3%)	3 (20,0%)	0,740
Тошнота	11 (50,0%)	14 (36,8%)	4 (26,7%)	0,340
Рвота	0 (0,0%)	1 (2,6%)	1 (6,7%)	0,466
Изжога	1 (4,5%)	1 (2,6%)	0 (0,0%)	0,701
Диспепсия	11 (50,0%)	17 (44,7%)	5 (33,3%)	0,600
Боль в животе	9 (40,9%)	13 (34,2%)	4 (26,7%)	0,668
Боль в правом подреберье	2 (9,1%)	2 (5,3%)	0 (0,0%)	0,482

**Таблица 41** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=14	СТ+ТТ (абс., %), N=34	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	13 (59,1%)	25 (47,2%)	0,492
Стоматит	1 (7,1%)	2 (3,3%)	0,551
Диарея	4 (18,2%)	13 (24,5%)	0,763
Тошнота	11 (50,0%)	18 (34,0%)	0,299
Рвота	0 (0,0%)	2 (3,8%)	1,000

## Продолжение Таблицы 41

Показатель	СС (абс., %), N=14	СТ+ТТ (абс., %), N=34	Достоверность различий (p-value)
Диспепсия	11 (50,0%)	22 (41,5%)	0,675
Боль в животе	9 (40,9%)	17 (32,1%)	0,642
Боль в правом подреберье	1 (4,5%)	2 (3,8%)	1,000
Изжога	1 (7,1%)	1 (2,9%)	1,000

Анализ частоты возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта не выявил значимые различия между частотой возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта в целом, и, в частности, стоматита, диареи, тошноты, рвоты, изжоги, диспепсии, боли в животе у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру rs4148738 гена ABCB1.

### 3.2.4.3 Анализ влияния полиморфизма ABCB1 rs4148738 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы

Был проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 42.

**Таблица 42** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами ABCB1 rs4148738 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	12 (54,5%)	13 (34,2%)	3 (20,0%)	<b>0,088</b>
Бессонница	3 (13,6%)	5 (13,2%)	1 (6,7%)	0,776

Продолжение Таблицы 42

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Головная боль	1 (4,5%)	3 (7,9%)	0 (0,0%)	0,505
Головокружение	1 (4,5%)	3 (7,9%)	0 (0,0%)	0,505
Слабость	10 (45,5%)	12 (31,6%)	2 (13,3%)	0,120

Было проведено объединение в одну группу гетерозигот и гомозигот по аллелю Т и сравнение частоты НЛР между группой пациентов с генотипом СС и группой пациентов с генотипами СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 43.

**Таблица 43** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами *ABCBI* rs4148738 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ+ТТ (абс., %), N=53	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	12 (54,5%)	16 (30,2%)	<b>0,085</b>
Бессонница	3 (13,6%)	6 (11,3%)	0,716
Слабость	10 (45,5%)	14 (26,4%)	0,181
Головная боль	1 (4,5%)	3 (5,7%)	1,000
Головокружение	1 (4,5%)	3 (5,7%)	1,000

Результаты анализа демонстрируют, что проявления токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы, а именно бессонница, слабость, головная боль, головокружение не различались по частоте встречаемости у носителей разных генотипов. Была обнаружена лишь тенденция к достоверности в ассоциации носительства генотипа СС и более частым возникновением НЛР со стороны ЦНС ( $p = 0,085$ ).

### 3.2.4.4 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs4148738 на возникновение нефротоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 44.

**Таблица 44** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Нефротоксическое действие	9 (40,9%)	13 (34,2%)	3 (20,0%)	0,410
Повышение уровня креатинина	9 (40,9%)	10 (26,3%)	3 (20,0%)	0,330
Протеинурия	1 (4,5%)	3 (7,9%)	0 (0,0%)	0,505

Статистически значимых различий по изучаемым показателями выявлено не было.

Мы объединили носителей аллеля Т в группу СТ+ТТ и сравнили частоту возникновения нефротоксичности между этих групп. Результаты анализа представлены в таблице 45.

**Таблица 45** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ+ТТ (абс., %), N=53	Достоверность различий (p-value)
Нефротоксическое действие	9 (40,9%)	16 (30,2%)	0,530
Повышение уровня креатинина	9 (40,9%)	13 (24,5%)	0,254
Протеинурия	1 (4,5%)	3 (5,7%)	1,000

Достоверных различий в частоте развития нефротоксического действия метотрексата, а именно проявляющегося повышением уровня креатинина и протеинурией, у носителей разных генотипов по *ABCB1* rs4148738 обнаружено не было.

### 3.2.4.5 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs4148738 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами СС и СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 46, 47.

**Таблица 46** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Гепатотоксическое действие	7 (31,8%)	12 (31,6%)	3 (20,0%)	0,675
Повышение уровня АСТ	4 (18,2%)	6 (15,8%)	1 (6,7%)	0,600
Повышение уровня АЛТ	7 (31,8%)	11 (28,9%)	3 (20,0%)	0,722
Повышение уровня щелочной фосфатазы	0 (0,0%)	3 (7,9%)	0 (0,0%)	0,218

**Таблица 47** – Результаты анализа различий частоты гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ+ТТ (абс., %), N=53	Достоверность различий (p-value)
Гепатотоксическое действие	5 (22,7%)	15 (28,3%)	0,620
Повышение уровня АСТ	4 (18,2%)	7 (13,2%)	0,721
Повышение уровня АЛТ	7 (31,8%)	14 (26,4%)	0,848
Повышение уровня щелочной фосфатазы	0 (0,0%)	3 (5,7%)	0,551

Достоверной взаимосвязи между генотипами пациентов и гепатотоксическим действием метотрексата, в частности, повышения уровней ферментов печени и щелочной фосфатазы, обнаружено не было.



### 3.2.4.6 Анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs4148738 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения парестезий, мышечной боли, зуда и макуло-папулезных высыпаний метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами СС и СТ+ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 48, 49.

**Таблица 48** – Результаты анализа различий частоты иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС, СТ и ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ (абс., %), N=38	ТТ (абс., %), N=15	Достоверность различий (p-value)
Иные нежелательные лекарственные реакции	1 (4,5%)	6 (15,8%)	2 (13,3%)	0,427
Парестезии	0 (0,0%)	1 (2,6%)	0 (0,0%)	0,611
Мышечная боль	1 (4,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,302
Зуд	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (6,7%)	0,132
Мелкопапулезные высыпания	0 (0,0%)	1 (2,6%)	1 (6,7%)	0,466

**Таблица 49** – Результаты анализа различий иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата между группами пациентов с генотипами *ABCB1* rs4148738 СС и СТ+ТТ

Показатель	СС (абс., %), N=22	СТ+ТТ (абс., %), N=53	Достоверность различий (p-value)
Иные нежелательные лекарственные реакции	1 (4,5%)	8 (15,1%)	0,268
Парестезии	0 (0,0%)	1 (1,9%)	1,000
Мышечная боль	1 (4,5%)	0 (0,0%)	0,297
Зуд	0 (0,0%)	1 (1,9%)	1,000
Мелкопапулезные высыпания	0 (0,0%)	2 (3,8%)	1,000

Достоверной взаимосвязи между генотипами пациентов и возникновением парестезий, высыпаний на коже, зуда и боли в мышцах, ассоциированных с приемом метотрексата обнаружено не было.

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

#### 3.2.5.1 Общая характеристика выборки с учетом генотипа *SLCO1B1*\*5 rs4149056 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Генотип ТТ был выявлен у 49 (65,33%) пациентов, генотип ТС – у 20 (26,67%); пациентов, генотип СС – 6 (8%) пациентов. Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции (точный критерий Фишера  $\chi^2 = 0,037$ ;  $p = 0,847$ ).

Общая характеристика выборки с учетом генотипа *SLCO1B1*\*5 rs4149056 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам представлена в таблице 50.

**Таблица 50** – Общая характеристика выборки с учетом генотипа *SLCO1B1* 5 rs4149056 по демографическим, анамнестическим, клиническим параметрам

Показатель	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 СС	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 ТС	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 ТТ	Достоверность различий (p- value)
N (%)	6 (8%)	20 (26,67%)	49 (65,33%)	
Возраст, лет	42,50 ± 18,61	49,15 ± 14,60	50,60 ± 15,84	0,492
Масса, кг	85,00 [74,25; 94,25]	74,00 [70,00; 87,25]	82,00 [74,00; 91,00]	0,315
Женщины	1 (16,7%)	6 (30,0%)	21 (42,9%)	0,334
Мужчины	5 (83,3%)	14 (70,0%)	28 (57,1%)	0,334
Рост, см	171,60 ± 6,75	168,83 ± 6,05	169,29 ± 5,98	0,393
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	22,90 [19,47; 27,98]	24,90 [20,62; 27,68]	23,70 [20,80; 27,00]	0,954

## Продолжение Таблицы 50

Показатель	SLCO1B1 rs4149056 CC	SLCO1B1 rs4149056 TC	SLCO1B1 rs4149056 TT	Достоверность различий (p- value)
Динамика индекса PASI (%)	37.70 [22.96; 39.03]	39.19 [33.16; 48.96]	38.60 [30.59; 56.67]	0,506
Псориатический артрит	1 (16,7%)	9 (45,0%)	16 (32,7%)	0,389
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,50 [3,00; 4,00]	3,00 [3,00; 4,00]	3,00 [2,00; 4,00]	0,883
Сопутствующая фототерапии	1 (16,7%)	13 (65,0%)	21 (42,9%)	0,076
Сопутствующая терапия преднизолоном	0 (0,0%)	2 (10,0%)	3 (6,1%)	0,667
Средняя доза метотрексата, мг	15,00 [13,44; 18,12]	15,00 [11,25; 17,71]	13,75 [10,00; 15,00]	0,232

Из полученных данных следует, что группы носителей генотипов CC, CT и TT сопоставимы по всем демографическим, анамнестическим и клиническим характеристикам.

### 3.2.5.2 Анализ влияния полиморфизма SLCO1B1\* 5 rs4149056 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта

Был проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами CC, CT и TT. Также в одну группу носителей аллеля C были объединены гетерозигот и гомозигот, и было проведено сравнение показателей между группой пациентов с генотипом TT и группой пациентов с генотипами TC+CC. Результаты анализа представлены в таблицах 51, 52.

**Таблица 51** - Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами SLCO1B1\*5 rs4149056 CC, CT и TT

Показатель	CC (абс., %), N=6	TC (абс., %), N=20	TT (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	2 (33,3%)	11 (55,0%)	25 (51,0%)	0,646

Продолжение Таблицы 51

Показатель	СС (абс., %), N=6	ТС (абс., %), N=20	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Стоматит	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (6,1%)	0,436
Диарея	2 (33,3%)	3 (15,0%)	12 (24,5%)	0,562
Тошнота	2 (33,3%)	9 (45,0%)	18 (36,7%)	0,784
Рвота	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	<b>0,076</b>
Изжога	6 (100,0%)	20 (100,0%)	47 (95,9%)	0,580
Диспепсия	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (4,1%)	0,580
Боль в животе	2 (33,3%)	8 (40,0%)	23 (46,9%)	0,749
Боль в правом подреберье	2 (33,3%)	6 (30,0%)	18 (36,7%)	0,865

Была обнаружена лишь тенденция к достоверности в ассоциации носительства генотипа СС с более частым возникновением рвоты ( $p = 0,076$ ).

**Таблица 52** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта между группами пациентов с генотипами *SLCO1B1*\*5 rs4149056 ТТ и ТС+ТТ

Показатель	ТС+СС (абс., %), N=26	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта	13 (50,0%)	25 (51,0%)	1,000
Стоматит	0 (0,0%)	3 (6,1%)	0,547
Диарея	5 (19,2%)	12 (24,5%)	0,820
Тошнота	11 (42,3%)	18 (36,7%)	0,824
Рвота	1	1	1,000
Изжога	0 (0,0%)	2 (4,1%)	0,541
Диспепсия	10 (38,5%)	23 (46,9%)	0,646
Боль в животе	8 (30,8%)	18 (36,7%)	0,794
Боль в правом подреберье	2	2	1,000

Анализ частоты возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта не выявил значимые различия между частотой возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта в целом, и, в частности, стоматита, диареи, тошноты, рвоты, изжоги, диспепсии, боли в животе у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру rs4149056 гена *SLCO1B1*\*5.

### 3.2.5.3 Анализ влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы

Был проведен анализ различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ. Результаты анализа представлены в таблице 53.

**Таблица 53** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы 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)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	2 (33,3%)	9 (45,0%)	17 (34,7%)	0,708
Бессонница	1 (16,7%)	2 (10,0%)	6 (12,2%)	0,904
Слабость	1 (16,7%)	7 (35,0%)	16 (32,7%)	0,691
Головная боль	0 (0,0%)	3 (15,0%)	1 (2,0%)	0,078
Головокружение	1 (16,7%)	1 (5,0%)	2 (4,1%)	0,431

Было проведено объединение в одну группу гетерозигот и гомозигот по аллелю С и сравнение частоты НЛР между группой пациентов с генотипом ТТ и группой пациентов с генотипами ТС+СС.

Результаты анализа представлены в таблице 54.

**Таблица 54** – Результаты анализа различий частоты возникновения нежелательных лекарственных реакций со центральной нервной системы между группами пациентов с генотипами *SLCO1B1*\*5 rs4149056 TC+CC и TT

Показатель	ТС+СС (абс., %), N=26	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции со стороны центральной нервной системы	11 (42,3%)	17 (34,7%)	0,691
Бессонница	3 (11,5%)	6 (12,2%)	1,000
Слабость	8 (30,8%)	16 (32,7%)	1,000
Головная боль	3 (11,5%)	1 (2,0%)	0,117
Головокружение	2	2	1,000

Результаты анализа демонстрируют, что проявления токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы, а именно бессонница, слабость, головная боль, головокружение не различались по частоте встречаемости у носителей разных генотипов.

#### 3.2.5.4 Анализ влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на возникновение нефротоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами CC, CT и TT.

Результаты анализа представлены в таблице 55.

**Таблица 55** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами *SLCO1B1*\*5 rs4149056 CC, CT и TT

Показатель	CC (абс., %), N=6	ТС (абс., %), N=20	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Нефротоксическое действие	1 (16,7%)	10 (50,0%)	14 (28,6%)	0,153

## Продолжение Таблицы 55

Показатель	СС (абс., %), N=6	ТС (абс., %), N=20	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Повышение уровня креатинина	1 (16,7%)	9 (45,0%)	12 (24,5%)	0,184
Протеинурия	0 (0,0%)	1 (5,0%)	3 (6,1%)	0,818

Статистически значимых различий по изучаемым показателями выявлено не было.

Мы объединили носителей аллеля С в группу ТС+СС и сравнили частоту возникновения нефротоксичности между этих групп. Результаты анализа представлены в таблице 56.

**Таблица 56** – Результаты анализа различий частоты нефротоксического 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)
Нефротоксическое действие	11 (42,3%)	14 (28,6%)	0,345
Повышение уровня креатинина	10 (38,5%)	12 (24,5%)	0,318
Протеинурия	1 (3,8%)	3 (6,1%)	1,000

Достоверных различий в частоте развития нефротоксического действия метотрексата, а именно проявляющегося повышением уровня креатинина и протеинурией, у носителей разных генотипов по *SLCO1B1*\*5 rs4149056 обнаружено не было.

### 3.2.5.5 Анализ влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на возникновение гепатотоксического действия метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения гепатотоксического действия метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами СТ+СС и СС.

Результаты анализа представлены в таблицах 57, 58.

**Таблица 57** – 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 58** – 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 была 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.

### 3.2.5.6 Анализ влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на возникновение иных нежелательных лекарственных реакций метотрексата

Был проведен анализ различий частоты возникновения парестезий, мышечной боли, зуда и макуло-папулезных высыпаний метотрексата между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ, а также между группами ТС+СС и ТТ. Результаты анализа представлены в таблицах 59, 60.

**Таблица 59** – Результаты анализа различий частоты иных нежелательных лекарственных реакций 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)
Иные нежелательные лекарственные реакции	1 (16,7%)	3 (15,0%)	5 (10,2%)	0,801
Парестезии	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	0,764
Мышечная боль	0 (0,0%)	1 (5,0%)	0 (0,0%)	0,254

## Продолжение Таблицы 59

Показатель	СС (абс., %), N=6	ТС (абс., %), N=20	ТТ (абс., %), N=49	Достоверность различий (p-value)
Зуд	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	0,764
Мелкопапулезные высыпания	0 (0,0%)	1 (5,0%)	1 (2,0%)	0,720

**Таблица 60** – Результаты анализа различий иных нежелательных лекарственных реакций 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)
Иные нежелательные лекарственные реакции	4 (15,4%)	5 (10,2%)	0,711
Парестезии	0 (0,0%)	1 (2,0%)	1,000
Мышечная боль	0 (0,0%)	1 (2,0%)	1,000
Зуд	0 (0,0%)	1 (2,0%)	1,000
Мелкопапулезные высыпания	1	1	1,000

Достоверной взаимосвязи между генотипами пациентов и возникновением парестезий, высыпаний на коже, зуда и боли в мышцах, ассоциированных с приемом метотрексата обнаружено не было.

### 3.3 Изучение влияния внешних факторов на безопасность терапии метотрексатом

С целью выявления других причин, которые потенциально могли бы определять развитие НЛР метотрексата при терапии изучаемой выборки пациентов, был проведен анализ влияния ряда внешних факторов, а именно, клинико-демографических факторов, получаемой терапии и сопутствующих заболеваний, на безопасность терапии метотрексатом.

### 3.3.1 Анализ влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на возникновение нежелательных лекарственных реакций

Был проведен анализ взаимосвязи демографических характеристик пациентов, индекса тяжести псориаза (PASI) до лечения, количества инъекций и средней дозы метотрексата, а также комбинированной терапии псориаза на безопасность терапии метотрексатом.

Результаты анализа влияния этих факторов на возникновение НЛР метотрексата в целом представлены в таблице 61.

**Таблица 61** – Результаты анализа влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на возникновение нежелательных лекарственных реакций

Показатель	Пациенты с нежелательными лекарственными реакциями метотрексата	Пациенты без нежелательных лекарственных реакций метотрексата	Достоверность различий (p-value)
N (%)	57 (76,0)	18 (24,0)	
Возраст, лет	47,19 ± 14,05	57,47 ± 18,54	0,146
Масса, кг	79,72 ± 9,15	82,06 ± 11,13	0,426
Мужчины	37 (64,9%)	10 (55,6%)	0,663
Женщины	20 (35,1%)	8 (44,4%)	0,663
Рост, см	169,88 ± 6,34	169,67 ± 6,92	0,867
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	25,07 ± 8,78	22,91 ± 3,55	0,514
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,16 ± 1,01	3,00 ± 1,03	0,519
Средняя доза метотрексата, мг	13,94 ± 3,42	14,12 ± 3,74	0,670
Сопутствующая фототерапия	31 (54,4%)	4 (22,2%)	0,035
Сопутствующая терапия преднизолоном	3 (5,3%)	2 (11,1%)	0,588

Результаты анализа показали наличие статистически значимой разницы в частоте возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата у пациентов, которым

была проведена фототерапия и не была проведена фототерапия: из 35 пациентов, получавших фототерапию, НЛР отметили 31 (54,4%) пациент, и у 4 (22,2%) не выявлялись побочные реакции ( $p=0,035$ ).

Для более детального анализа и оценки влияния фототерапии в составе комбинированно терапии псориаза, а также других факторов на безопасность лечения, был проведен анализ влияния демографических характеристик пациентов, индекса тяжести псориаза (PASI) до лечения, количества инъекций и средней дозы метотрексата, а также комбинированной терапии псориаза на возникновение различных групп НЛР, а именно токсичности со стороны ЖКТ, гепатотоксичности, нефротоксичности. Результаты анализа представлены в таблицах 62, 63, 64.

**Таблица 62** – Результаты анализа влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на возникновение нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта

Показатель	Пациенты с нежелательными лекарственными реакциями метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	Пациенты без нежелательных лекарственных реакций метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	Достоверность различий (p-value)
N (%)	37	38	
Возраст, лет	47,00 [34,00; 59,75]	52,50 [36,50; 65,50]	0,333
Масса, кг	79,00 [69,00; 88,00]	82,00 [75,00; 91,00]	0,261
Мужчины	24 (64,9%)	23 (60,5%)	0,881
Женщины	13 (35,1%)	15 (39,5%)	0,881
Рост, см	170,50 [166,00; 175,75]	168,00 [164,00; 175,00]	0,216
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	23,85 [20,92; 27,45]	23,85 [20,92; 27,45]	0,581
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,50 [3,00; 4,00]	3,50 [3,00; 4,00]	0,197
Сопутствующая фототерапии	12 (32,4%)	15 (39,5%)	0,693
Сопутствующая терапия преднизолоном	2 (5,40%)	3 (7,89%)	1,000
Средняя доза метотрексата, мг	13,75 [10,00; 16,50]	13,75 [10,00; 16,50]	1,000

Демографические характеристики пациентов, тяжесть течения псориаза, доза метотрексата, количество инъекций, получение фототерапии или преднизолона не оказывают статистически значимого влияния на частоту возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта.

**Таблица 63** – Результаты анализа влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на нефротоксичность метотрексата

Показатель	Пациенты с нефротоксичностью метотрексата	Пациенты без нефротоксичности	Достоверность различий (p-value)
N (%)	25 (33,33%)	50 (66,67%)	
Возраст, лет	46,00 [33,00; 55,00]	53,00 [41,00; 67,00]	0,034
Масса, кг	75,00 [70,00; 85,00]	83,50 [74,50; 91,00]	0,050
Мужчины	23 (92,0%)	24 (48,0%)	0,001
Женщины	2 (8,0%)	26 (52,0%)	0,001
Рост, см	168,00 [163,00; 175,00]	171,50 [165,00; 175,00]	0,258
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	23,70 [21,00; 27,00]	23,85 [20,45; 27,98]	1,000
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,00 [3,00; 4,00]	3,00 [2,25; 4,00]	0,944
Сопутствующая фототерапии	14 (56,0%)	21 (42,0%)	0,368
Сопутствующая терапия преднизолоном	2 (8,0%)	3 (6,0%)	1,000
Средняя доза метотрексата, мг	15,00 [13,33; 16,67]	13,33 [10,00; 15,00]	<b>0,034</b>

Нефротоксичность метотрексата статистически значимо чаще отмечается у мужчин ( $p < 0,001$ ), а также у пациентов с более низкой массой тела ( $p = 0,05$ ). Средняя доза метотрексата также оказывает статистически значимое влияние на возникновение нефротоксичности. НЛР со стороны мочевыделительной системы чаще отмечаются у пациентов, получавших более высокие дозировки 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 этой группы ( $p = 0,034$ ). Выявленная закономерность объясняется, предположительно, повышением концентрации метотрексата в

крови и повышенным риском проявлением его токсического действия. Другие демографические характеристики пациентов, тяжесть течения псориаза, количество инъекций, получение фототерапии или преднизолона не оказывают статистически значимого влияния на частоту возникновения нефротоксичности.

**Таблица 64** – Результаты анализа влияния демографических характеристик пациентов и комбинированной терапии псориаза на гепатотоксичность метотрексата

Показатель	Пациенты с гепатотоксичностью метотрексата	Пациенты без гепатотоксичности метотрексата	p
N (%)	20 (26,7%)	55 (73,3%)	
Возраст, лет	46,05 ± 13,69	50,85 ± 16,27	0,211
Масса, кг	80,50 [69,00; 86,50]	81,00 [72,00; 90,00]	0,561
Мужчины	34 (61,8%)	13 (65,0%)	1,000
Женщины	21 (38,2%)	7 (35,0%)	1,000
Рост, см	169,50 [162,00; 175,00]	170,00 [165,00; 175,00]	0,296
Индекс тяжести псориаза (PASI) до лечения, N	23,40 [20,75; 25,00]	24,30 [20,65; 27,60]	0,619
Количество инъекций метотрексата, шт.	3,00 [2,75; 4,00]	3,00 [3,00; 4,00]	0,501
Сопутствующая фототерапии	14 (70,0%)	21 (38,2%)	0,029
Сопутствующая терапия преднизолоном	4 (7,3%)	1 (5,0%)	1,000
Средняя доза метотрексата, мг	13,67 [11,25; 16,25]	13,75 [10,00; 16,25]	0,870

Была выявлена статистически значимая закономерность в возникновении НЛР со стороны печени и сопутствующей фототерапией: 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).

### 3.3.2 Анализ влияния сопутствующей патологии на возникновение нежелательных лекарственных реакций

Для выявления факторов, влияющих на безопасность терапии метотрексатом, был проведен анализ влияния сопутствующей патологии на возникновение нежелательных лекарственных реакций.

Было оценено влияние наличия сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 65.

**Таблица 65** – Результаты анализа влияния заболеваний сердечно-сосудистой системы на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без заболеваний сердечно-сосудистой системы (абс., %), N=35	Пациенты с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, N=40	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	27 (77,1%)	30 (75,0%)	1,000
Гепатотоксичность метотрексата	10 (28,5%)	10 (25,0%)	1,000
Нефротоксичность метотрексата	13 (37,1%)	12 (30,0%)	0,682
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	16 (45,7%)	22 (55,0%)	0,568
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	11 (31,4%)	17 (42,5%)	0,453
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	4 (12,9%)	5 (13,2%)	1,000

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих заболеваний со стороны сердечно-сосудистой системы и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих офтальмологических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 66.

**Таблица 66** – Результаты анализа влияния офтальмологических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без офтальмологических заболеваний, N=47	Пациенты с офтальмологическими заболеваниями, (абс., %), N=28	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	34 (72,3%)	23 (82,1%)	0,495
Гепатотоксичность метотрексата	9 (19,1%)	11 (39,3%)	0,102
Нефротоксичность метотрексата	15 (31,9%)	10 (35,7%)	0,933
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	26 (55,3%)	12 (42,9%)	0,421
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	19 (40,4%)	9 (32,1%)	0,638
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	3 (7,1%)	6 (22,2%)	0,139

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих офтальмологических заболеваний и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих метаболических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 67.

**Таблица 67** – Результаты анализа влияния метаболических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без метаболических заболеваний, (абс., %), N=53	Пациенты с метаболическими заболеваниями, (абс., %), N=22	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	38 (71,7%)	19 (86,4%)	0,290
Гепатотоксичность метотрексата	13 (24,5%)	7 (31,8%)	0,716
Нефротоксичность метотрексата	19 (35,8%)	6 (27,3%)	0,654



Продолжение Таблицы 67

Показатель	Пациенты без метаболических заболеваний, (абс., %), N=53	Пациенты с метаболическими заболеваниями, (абс., %), N=22	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	26 (49,1%)	12 (54,5%)	0,858
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	21 (39,6%)	7 (31,8%)	0,708
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	6 (12,2%)	3 (15,0%)	0,712

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих метаболических заболеваний и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих заболеваний дыхательной системы на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 68.

**Таблица 68** – Результаты анализа влияния заболеваний дыхательной системы на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без заболеваний дыхательной системы, (абс., %), N=70	Пациенты с заболеваниями дыхательной системы, (абс., %), N=5	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	53 (75,7%)	4 (80,0%)	1,000
Гепатотоксичность метотрексата	19 (27,1%)	1 (20,0%)	1,000
Нефротоксичность метотрексата	24 (34,3%)	1 (20,0%)	0,659
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	34 (48,6%)	4 (80,0%)	0,358
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	25 (35,7%)	3 (60,0%)	0,356
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	8 (12,5%)	1 (20,0%)	0,514

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих заболеваний со стороны дыхательной системы и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих заболеваний желудочно-кишечного тракта на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 69.

**Таблица 69** – Результаты анализа влияния заболеваний желудочно-кишечного тракта на безопасность терапии метотрексатом

<b>Показатель</b>	<b>Пациенты с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, (абс., %), N=57</b>	<b>Пациенты с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, (абс., %), N=18</b>	<b>Достоверность различий (p-value)</b>
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	44 (77,2%)	13 (72,2%)	0,754
Гепатотоксичность метотрексата	16 (28,1%)	4 (22,2%)	0,765
Нефротоксичность метотрексата	22 (38,6%)	3 (16,7%)	0,152
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	28 (49,1%)	10 (55,6%)	0,837
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	22 (38,6%)	6 (33,3%)	0,902
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	7 (13,7%)	2 (11,1%)	1,000

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих заболеваний со стороны желудочно-кишечного и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих заболеваний мочевыделительной системы на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 70.

**Таблица 70** – Результаты анализа влияния заболеваний мочевыделительной системы на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без заболеваний мочевыделительной системы, (абс., %), N=68	Пациенты с заболеваниями мочевыделительной системы, (абс., %), N=7	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	51 (75,0%)	6 (85,7%)	1,000
Гепатотоксичность метотрексата	18 (26,5%)	2 (28,6%)	1,000
Нефротоксичность метотрексата	23 (33,8%)	2 (28,6%)	1,000
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	35 (51,5%)	3 (42,9%)	0,711
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	27 (39,7%)	1 (14,3%)	0,246
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	9 (14,5%)	0 (0,0%)	0,582

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих заболеваний мочевыделительной системы и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих заболеваний печени на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 71.

**Таблица 71** – Результаты анализа влияния заболеваний печени на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без заболеваний печени, (абс., %), N=64	Пациенты с заболеваниями печени, (абс., %), N=11	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	48 (75,0%)	9 (81,8%)	1,000
Гепатотоксичность метотрексата	16 (25,0%)	4 (36,4%)	0,470
Нефротоксичность метотрексата	23 (35,9%)	2 (18,2%)	0,318
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	35 (54,7%)	3 (27,3%)	0,176

## Продолжение Таблицы 71

Показатель	Пациенты без заболеваний печени, (абс., %), N=64	Пациенты с заболеваниями печени, (абс., %), N=11	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	24 (37,5%)	4 (36,4%)	1,000
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	8 (13,6%)	1 (10,0%)	1,000

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих заболеваний печени и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Было оценено влияние наличия сопутствующих неврологических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом. Результаты анализа представлены в таблице 72.

**Таблица 72** – Результаты анализа влияния неврологических заболеваний на безопасность терапии метотрексатом

Показатель	Пациенты без неврологических заболеваний, (абс., %), N=67	Пациенты с неврологическими заболеваниями, (абс., %), N=3	Достоверность различий (p-value)
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата	51 (76,1%)	1 (33,3%)	0,160
Гепатотоксичность метотрексата	32 (47,8%)	1 (33,3%)	1,000
Нефротоксичность метотрексата	22 (32,8%)	2 (66,7%)	0,269
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта	33 (49,3%)	1 (33,3%)	1,000
Нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны центральной нервной системы	25 (37,3%)	1 (33,3%)	1,000
Иные нежелательные лекарственные реакции метотрексата	8 (12,9%)	0 (0,0%)	1,000

По результатам анализа не было выявлено статистически значимых закономерностей в наличии сопутствующих неврологических заболеваний и возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата, а именно, НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, печени, почек, и группы «иных НЛР».

Таким образом, не было обнаружено достоверно значимого влияния ни одной из групп сопутствующих заболеваний, наблюдавшихся у пациентов изучаемой выборки, и развития нежелательных лекарственных реакций метотрексата, что говорит о сопоставимости для исследования различных групп пациентов в независимости от наличия или отсутствия у них сопутствующей патологии.

### **3.4 Изучение влияния генетических и клинико-anamнестических факторов на эффективность терапии метотрексатом у пациентов с псориазом**

Эффективность терапии метотрексатом была оценена по динамике кожного патологического процесса, а именно, по изменению эритемы, инфильтрации, шелушения высыпаний и площади поражения кожи. Для объективной оценки эффективности проводимой терапии применяли подсчет индекса PASI до начала терапии и перед выпиской пациента и высчитывали процент изменения индекса (динамика индекса PASI (%)).

В среднем, индекс PASI у пациентов при поступлении составлял  $24,92 \pm 7,64$  (минимальное значение – 10,1, максимальное значение – 50,3).

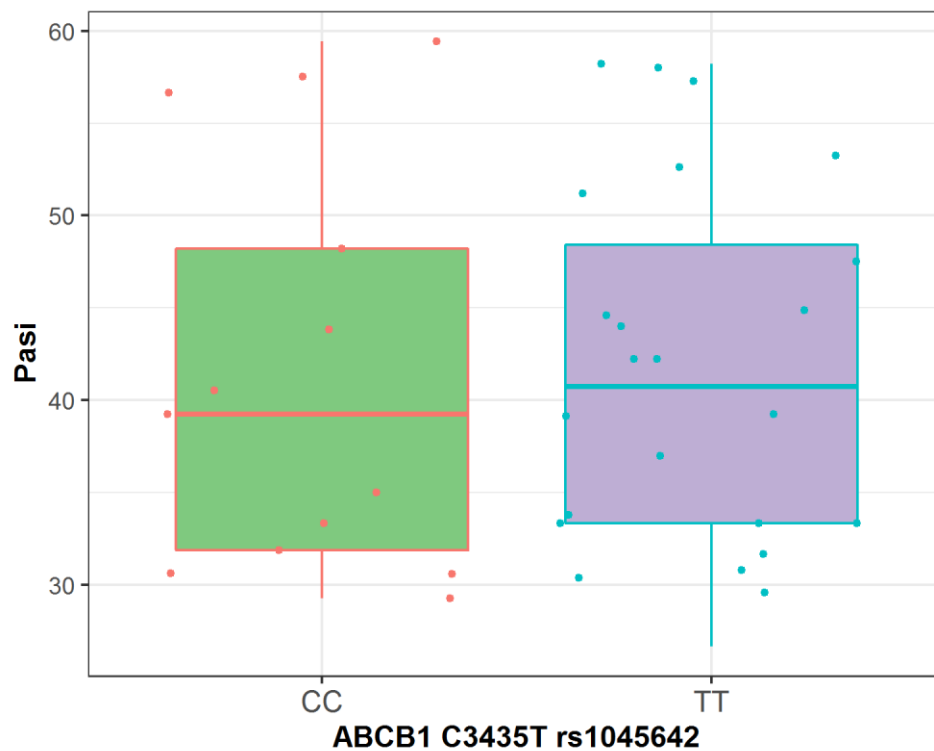
При выписке из стационара средний показатель индекса PASI составлял в среднем  $14,7 \pm 6,34$  (минимальное значение – 5,2, максимальное значение – 41,1).

Процент снижения индекса PASI в среднем составил  $40,49 \pm 16,3\%$  (минимальное значение – 4,95%, максимальное значение – 93,42%).

Был проведен анализ влияния носительства разных аллельных вариантов генов *ABCB1* (rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1* (rs4149056) на динамику индекса PASI (таблицы 73, 74, 75, рисунки 9, 10, 11).

**Таблица 73** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *ABCB1* rs1045642 CC, CT и TT

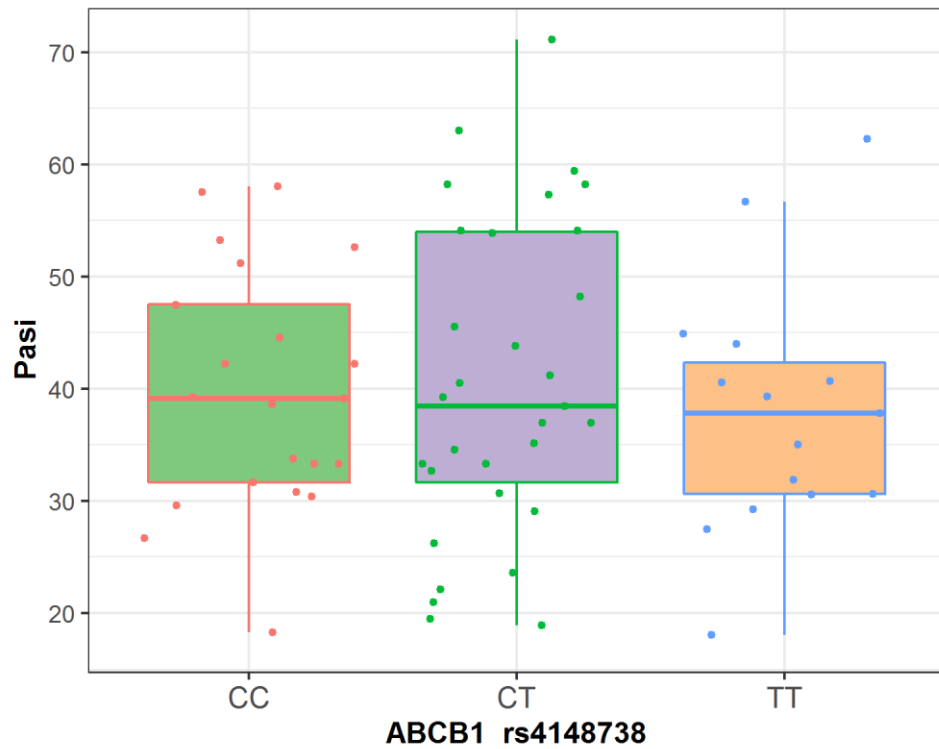
Показатель	<i>ABCB1</i> rs1045642 CC	<i>ABCB1</i> rs1045642 TC	<i>ABCB1</i> rs1045642 TT	Достоверность различий (p- value)
Динамика индекса PASI (%)	39,89 [32.24; 54.55]	37,41 [24.23; 51.78]	39,25 [32.49; 49.35]	0,556



**Рисунок 9** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *ABCB1* rs1045642 CC, CT и TT

**Таблица 74** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *ABCB1* rs4148738 CC, CT и TT

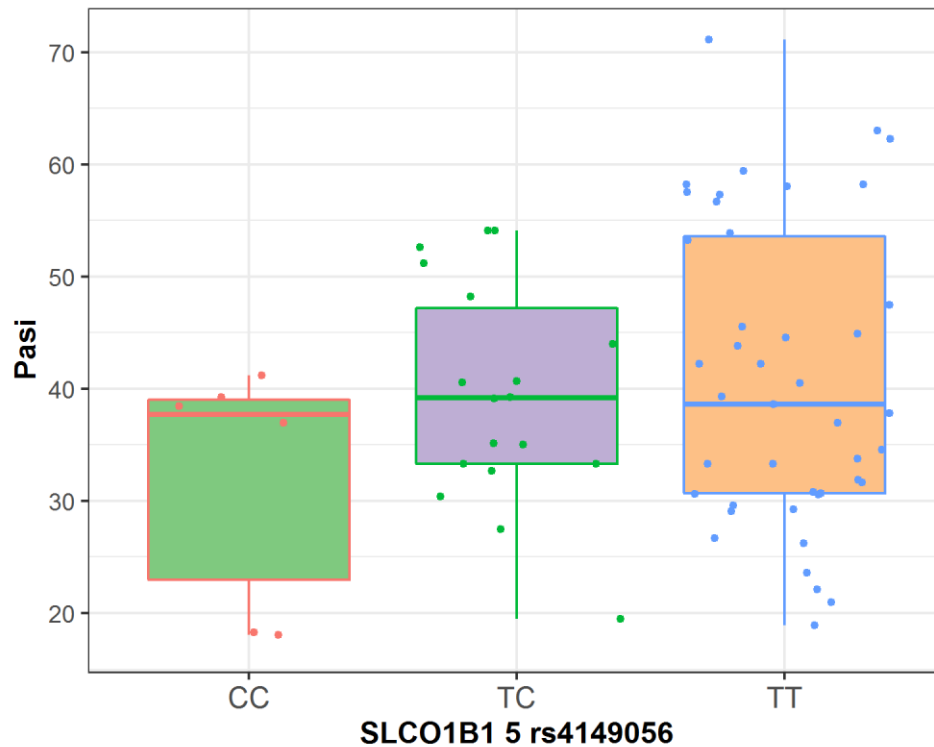
Показатель	<i>ABCB1</i> rs4148738 CC	<i>ABCB1</i> rs4148738 TC	<i>ABCB1</i> rs4148738 TT	Достоверность различий (p- value)
Динамика индекса PASI (%)	39,19 [32.07; 50.28]	37,70 [26.93; 54.12]	37,83 [30.60; 42.35]	0,825



**Рисунок 10** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *ABCB1* rs4148738 CC, CT и TT

**Таблица 75** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *SLCO1B1* rs4149056 CC, TC и TT

Показатель	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 CC	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TC	<i>SLCO1B1</i> rs4149056 TT	Достоверность различий (p-value)
Динамика индекса PASI (%)	37.70 [22.96; 39.03]	39.19 [33.16; 48.96]	38.60 [30.59; 56.67]	0,506



**Рисунок 11** – Результаты анализа различий эффективности терапии метотрексатом между группами пациентов с *SLCO1B1* rs4149056 CC, TC и TT

Анализ не выявил статистически значимого влияния носительства ни одного из изучаемых полиморфизмов на эффективность терапии.

Кроме того, был проведен анализ влияния других факторов на динамику эффективности терапии: демографических (пол, возраст, рост, вес), получаемой терапии (количество инъекций метотрексата, средняя доза метотрексата, фототерапии и терапии глюкокортикостероидами в составе комбинированной терапии), возникших нежелательных лекарственных реакций.

Влияния пола на эффективность терапии (процент снижения индекса PASI) обнаружено не было (у мужчин: динамика индекса PASI (%) = 38,42 [30,09; 47,86], у женщин – 38,96 [32,14; 54,76],  $p = 0,618$ ).

На эффективность терапии также не оказывали влияния возраст ( $p = 0,75$ ), рост ( $p = 0,106$ ), вес пациентов ( $p = 0,279$ ). Также не было выявлено взаимосвязи между исходным значением индекса PASI и динамикой индекса ( $p = 0,33$ ).

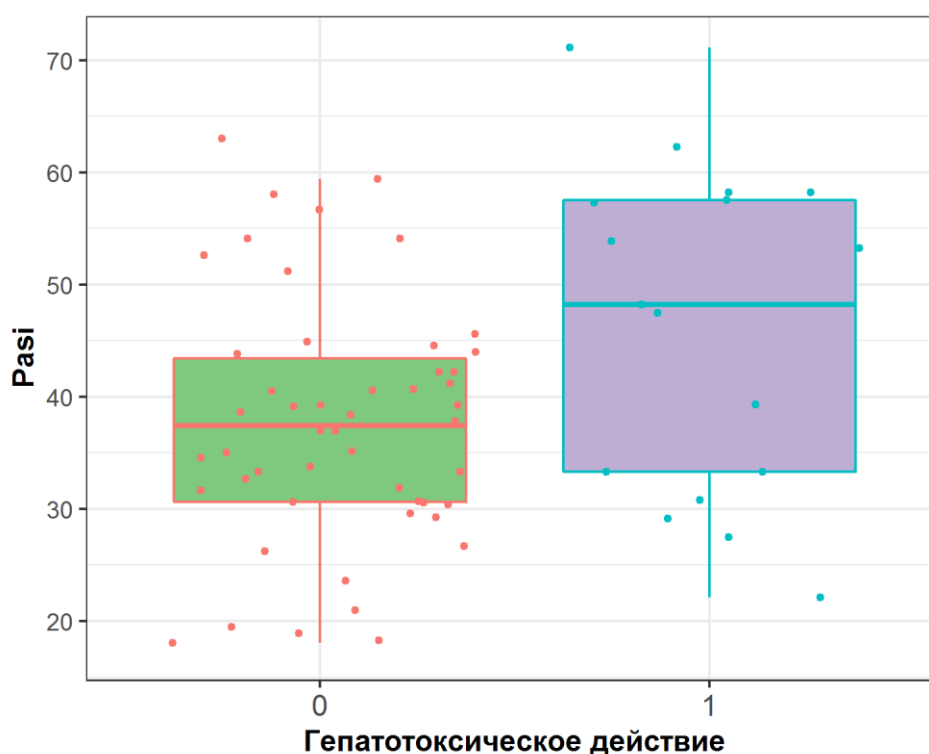
Количество инъекций метотрексата и средняя доза метотрексата также не оказали статистически значимого влияния на эффективность терапии у изучаемой выборки пациентов ( $p = 0,28$  и  $p = 0,28$ ). Результаты анализа продемонстрированы на рисунках.

Отсутствие достоверной связи может быть объяснено тем, что изучаемая выборка была гомогенна: в нее вошли пациенты, клинически сопоставимые по перечисленным выше характеристикам.



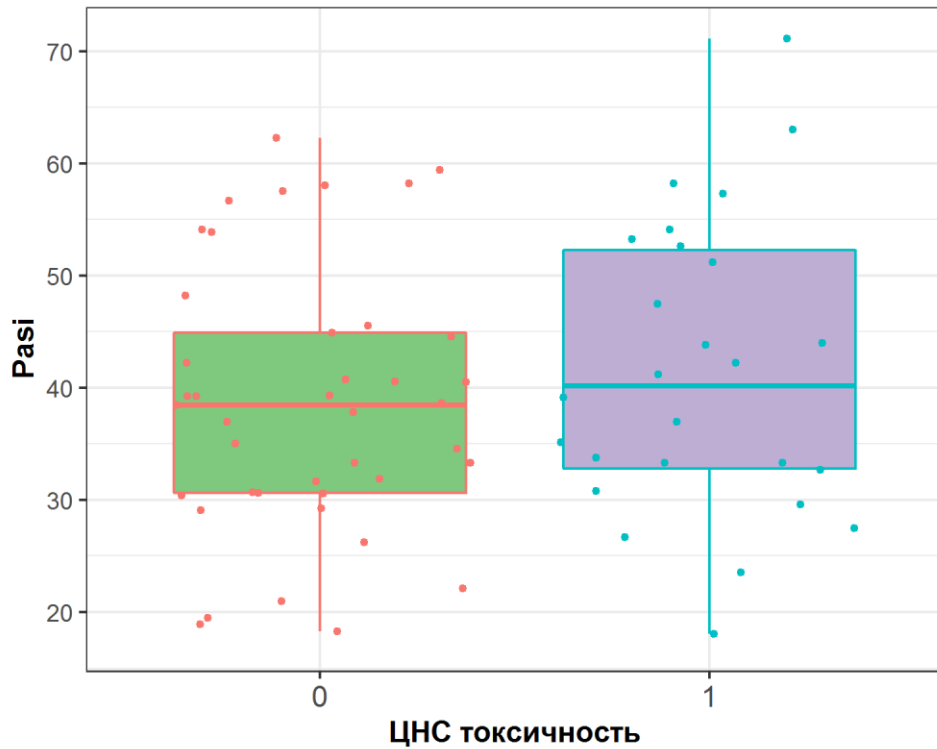
Не было обнаружено достоверной взаимосвязи между возникновением НЛР метотрексата и эффективностью терапии: у пациентов, отмечавших НЛР динамика индекса PASI (%) составляла  $40,95 \pm 17,37$ , у пациентов, не отмечавших НЛР –  $38,38 \pm 11,61$  ( $p = 0,476$ ).

Однако, при анализе категорий НЛР было выявлено, 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,  $p = 0,004$  (рисунок 12).



**Рисунок 12** – Результаты анализа взаимосвязи эффективности терапии и гепатотоксичности метотрексата

Кроме того, тенденция к достоверности была достигнута при анализе взаимосвязи между возникновением НЛР со стороны центральной нервной системы и эффективностью терапии: эффективность была выше у тех пациентов, кто отмечал НЛР (динамика индекса PASI (%) =  $41,70 [33,16; 53,48]$ ), чем у пациентов без НЛР со стороны ЦНС (динамика индекса PASI (%) =  $37,83 [29,82; 45,22]$ ),  $p = 0,092$  (рисунок 13).

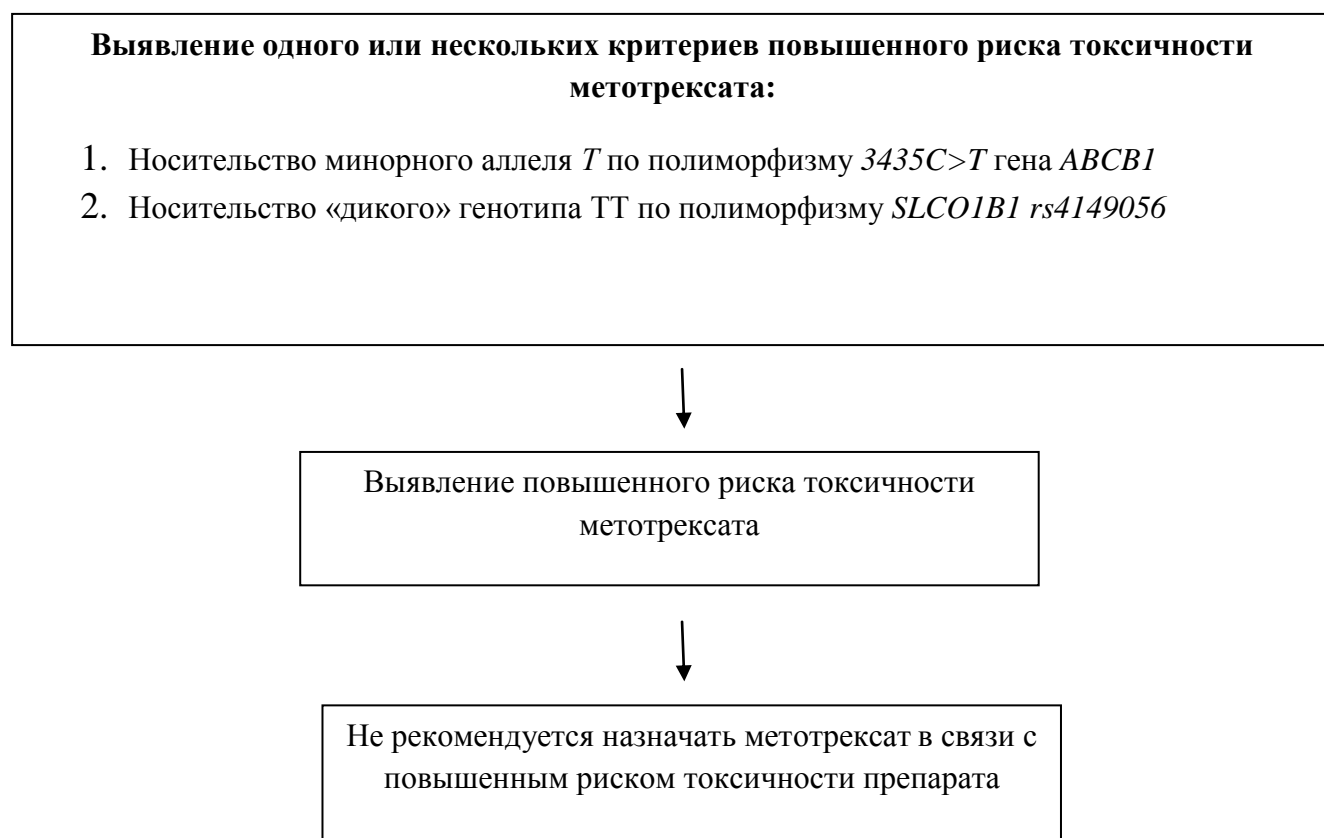


**Рисунок 13** – Результаты анализа взаимосвязи эффективности терапии и токсичности метотрексата со стороны центральной нервной системы

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.

### 3.5 Алгоритм 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 был проведен анализ влияния фармакогенетических факторов, которые, предполагаемо, могут оказывать влияние на безопасность терапии, а именно: полиморфизмов *ABCB1*(rs1045642, rs4148738) и *SLCO1B1*(rs4149056). На основании выявленных закономерностей были разработаны рекомендации по персонализированному подходу к терапии псориаза метотрексатом (рисунок 14).



**Рисунок 14** – Алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая эффективность метотрексата и возможность долговременной терапии позволяют считать метотрексат одним из лекарственных средств выбора при лечении тяжелых форм псориаза, однако его токсическое действие зачастую ограничивает его применение. Несмотря на то, что как правило нежелательные лекарственные реакции метотрексата не представляют серьезной угрозы здоровью пациентов, и снижение дозы метотрексата приводит к их устранению, в некоторых случаях тяжелые проявления токсического действия препарата возникают непредсказуемо. Развитие нежелательных лекарственных реакций существенно снижает качество жизни пациентов и приверженность к лечению. Эти факты объясняют необходимость тщательного мониторинга состояния пациентов и выявления потенциальных факторов риска токсичности лекарственного средства со стороны разных органов и функциональных систем. В настоящее время не существует единого алгоритма, способного предсказать индивидуальный ответ пациента на терапию. Современные исследования указывают на значимую роль в индивидуальном ответе на лечение метотрексатом генетических особенностей пациента, а именно, наличия полиморфизмов генов, кодирующих белки-переносчики метотрексата и определяющие индивидуальные особенности его фармакокинетики.

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

В исследование было 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%) пациента со среднетяжелыми формами и 10 (13,3%) пациентов с тяжелыми формами псориаза. Пациенты получали метотрексат в форме раствора, вводимого 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. Средняя продолжительность госпитализации составила  $24,6 \pm 8,2$  дней.

В ходе исследования была проанализирована частота и выраженность нежелательных лекарственных реакций, возникающих при лечении пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат.

Данные о нежелательных лекарственных реакциях были собраны с помощью специально разработанного структурированного адресного опросника, данных общего и биохимического

анализа крови, а также общего анализа мочи. Нежелательные лекарственные реакции были выявлены у 57 пациентов (76%): 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.

Тяжесть нежелательных лекарственных реакций оценивали при помощи визуальных аналоговых шкал, по шкале выраженности токсичности CTCAE (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 CTCAE, 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 CTCAE, в отличие от гепатотоксичности, степень тяжести которой у некоторых пациентов была средней и высокой (2 и 3 степень тяжести по шкале CTCAE), 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 CTCAE), в частности, выраженность головной боли по ВАШ составила  $0,3 \pm 0,8$  балла, сонливости –  $5,2 \pm 1,2$  балла.

По категории вреда, причиненного здоровью пациента, все нежелательные лекарственные реакции относились к типу E, то есть характеризовались, как временный вред здоровью, потребовавший дополнительного лечения, и, соответственно, пациентам проводилась терапия возникших нежелательных лекарственных реакций. Таким образом, выявленные проявления токсического действия метотрексата характеризовались различными степенями выраженности, однако, все нежелательные лекарственные реакции приводили к снижению качества жизни и дискомфорту пациентов. Важно отметить, что в 61,3% случае НЛР относились к категории непредотвратимых, так как отмечались у пациентов впервые и стали результатом терапии метотрексатом в стандартных терапевтических дозировках. Этот факт, а также то, что практически  $\frac{3}{4}$  пациентов, получавших терапию метотрексатом, испытывали токсическое действие метотрексата, подтверждает актуальность прогнозирования безопасности терапии.

Первым этапом изучения влияния полиморфизмов генов *ABCB1* (*rs1045642*, *rs4148738*) и *SLCO1B1* (*rs4149056*) на безопасность терапии метотрексатом стало определение носительства

этих однонуклеотидных полиморфизмов у пациентов изучаемой выборки с помощью аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени. 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.

Мы оценивали влияние каждого изучаемого полиморфизма на частоту и выраженность нежелательных лекарственных реакций со стороны различных систем органов.

Был проведен анализ влияния полиморфизма *ABCB1* rs1045642 (3435C>T) на безопасность терапии. Анализ частоты возникновения НЛР со стороны желудочно-кишечного тракта выявил достоверные различия между группами пациентов с генотипами СС, СТ и ТТ: проявления токсического действия метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта значительно чаще встречались у носителей генотипов СТ и ТТ (СС – 2 (14,3%), СТ – 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%)) сила связи осталась неизменной ( $p=0,006$ ). Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния полиморфизма 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,  $p = 0,008$  [Кубанов, А.А. и др., 2023].

При анализе частоты встречаемости отдельных типов нежелательных лекарственных реакций также были выявлены статистически значимые закономерности. Диспепсия достоверно чаще выявлялась у носителей генотипов СТ и ТТ (СС – 1 (7,1%), СТ – 17 (50,0%), ТТ – 15 (55,6%),  $p = 0,008$ ). Тошнота чаще выявлялась у носителей генотипов СТ и ТТ, однако, достигнута только тенденция к достоверности (СС – 2 (14,3%), СТ – 13 (38,2%), ТТ – 14 (51,9%),  $p=0,064$ ). При этом, при сравнении групп СС и СТ+ТТ сила связи носительства генотипов СТ+ТТ и возникновения диспептических явлений стала выше (СС – 1 (7,1%),

СТ+ТТ – 32 (52,5%),  $p=0,005$ ), как и носительства генотипов СТ+ТТ и возникновения тошноты ((СС – 2 (14,3%), СТ+ТТ – 27 (44,3%),  $p=0,05$ )). Результат построения биномиальной регрессии продемонстрировал наличие статистически значимого влияния полиморфизма rs1045642 гена *ABCB1* на частоту развития тошноты: estimation -1,56, OR = 4,76, 95% CI OR: 0,98 – 23,13,  $p = 0,05$ , а также 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 была 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%),  $p=0,059$ ).

Была 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],  $p = 0,021$ ), однако ожидаемого усиления связи при сравнении групп пациентов носителей и не носителей аллеля Т (СС и СТ+ТТ) обнаружено не было ( $p = 0,035$ ).

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 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

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 анализе частоты встречаемости отдельных типов НЛР со стороны центральной нервной системы, статистически значимая разница была установлена в возникновении бессонницы: у носителей аллеля Т бессонница возникала значимо чаще (СС – 0 (0,0%), СТ – 1 (2,9%), ТТ – 8 (29,6%),  $p=0,002$ ). Была 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*). Предположительно, это обусловлено влиянием полиморфизма гена на функционирование кодируемого им белка. Ген *ABCB1* кодирует гликопротеин-Р: вероятно, что у носителей минорного аллеля Т снижается активность гликопротеина Р, субстратом которого является метотрексат. Это может приводить к тому, что метотрексат начинает медленнее выводиться 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 [Кубанов, А.А. и др., 2023].

В ходе исследования не было получено разницы 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, разницы в частоте нежелательных реакций обнаружено не было.

При изучении влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 *rs4149056* на безопасность терапии было выявлено статистически значимое влияние носительства дикого аллеля Т на частоту встречаемости клинически значимого повышения уровня АЛТ (СС - 3 (11,5%), ТС+ТТ – 8 (36,7%),  $p=0,03$ ). Результат построения биномиальной регрессии также 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: 1.084 - 1.804,  $p= 0.028$ .

Несмотря на то, что наблюдалась лишь тенденция к достоверности между частотой возникновения гепатотоксичности в целом и носительством аллеля Т ( $p=0,054$ ), и также наблюдалась лишь тенденция к достоверной связи более частого клинически значимого



повышения уровня АСТ и носительства генотипа ТТ ( $p=0,085$ ), можно сделать вывод о наличии влияния полиморфизма *SLCO1B1*\*5 rs4149056 на гепатотоксичность метотрексата.

Такая взаимосвязь может быть объяснена влиянием возникновения мутации на функционирование белка-транспортёра. Ген *SLCO1B1* кодирует транспортный белок-переносчик органических анионов ОАТР1В1, который локализуется преимущественно на базолатеральной мембране гепатоцитов и осуществляет захват молекул метотрексата клетками печени. Вероятно, что замена аллеля Т на аллель С (*SLCO1B1*\*5 rs4149056 (T521C)), то есть носительство генотипов *SLCO1B1* rs4149056 СТ и СС, 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 (А. Lima et al. (2014), J. Roszkiewicz et al. (2020)), показывают, что у носителей дикого аллеля Т в сравнении с носителями минорного аллеля С 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 Т 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.

Анализ других причин, помимо генетических особенностей пациентов, которые потенциально могли бы определять развитие нежелательные лекарственные реакции метотрексата пациентов с псориазом, показал, что статистически значимая взаимосвязь клинико-демографических характеристик пациентов (возраста, роста, тяжести течения псориаза), наличия сопутствующих заболеваний, получения пациентами преднизолона, и возникновения всех изученных групп проявлений токсического действия метотрексата выявлена не была. Количество инъекций метотрексата статистически значимо не влияли на безопасность терапии: не было выявлено статистически значимой разницы в показателе количества инъекций и дозировке метотрексата у пациентов с и без нежелательных лекарственных реакций. Объяснением этому может являться однородность исследуемой выборки пациентов, а также полученные данные подтверждают гипотезу о влиянии генетических факторов на безопасность терапии метотрексатом.

При этом, показано, что нефротоксичность метотрексата чаще отмечалась у мужчин (нефротоксичность у мужчин: 23 пациента (92,0%), нефротоксичность у женщин: 2 (8,0%),  $p=0,001$ ). Также было показано, что частота возникновения нефротоксичности на уровне тенденции к достоверности выше у пациентов с более низкой массой тела: у пациентов с выявленной нефротоксичностью она составляла 75,00 [70,00; 85,00], у пациентов без нефротоксичности: 83,50 [74,50; 91,00],  $p=0,050$ . 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 этой группы ( $p=0,034$ ), что предположительно, объясняется повышением концентрации метотрексата в крови и повышенным риском проявлением его токсического действия.

Была выявлена статистически значимая разница в частоте возникновения нежелательных лекарственных реакций метотрексата со стороны печени и сопутствующей фототерапией: 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 ( $p = 0,029$ ). Вероятно, это может быть обусловлено сочетанием гепатотоксического влияния фототерапии и метотрексата, в связи с чем, состояние печени пациентов, получающих такую комбинированную терапию, требует особенного мониторинга.

В исследовании было оценено влияние генетических и клиничко-анамнестических факторов на эффективность терапии метотрексатом у пациентов с псориазом. Анализ не выявил статистически значимого влияния на эффективность терапии носительства ни одного из изучаемых полиморфизмов, а также демографических характеристик пациента и дозы и количества инъекций метотрексата. Отсутствие достоверной связи может быть объяснено тем, что изучаемая выборка была гомогенна: в нее вошли пациенты, клиничко сопоставимые по перечисленным выше характеристикам.

Выявлена взаимосвязь между эффективностью терапии и гепатотоксическим действием метотрексата: 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,  $p = 0,004$ . Предположительно, этот факт объясняется тем, что в случаях большей эффективности наблюдалась большая биодоступность метотрексата и достигалась более высокая концентрация лекарственного средства в плазме крови, за счет чего возрастал риск развития токсического влияния метотрексата на печень.

При изучении ассоциации эффективности и безопасности терапии метотрексатом у пациентов с псориазом 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.

Установленные закономерности можно использовать для повышения безопасности терапии пациентов с псориазом, получающих метотрексат: носителям минорного аллеля T по полиморфизму *3435C>T ABCB1* необходимо тщательнее мониторировать возникновение нежелательных лекарственных реакций, а у гомозигот TT по полиморфизму *SLCO1B1 rs4149056* – развитие гепатотоксичности, в связи с имеющимся у них повышенным риском возникновения токсичности метотрексата. При этом, повышенный контроль за безопасностью у носителей минорного аллеля по полиморфизму *ABCB1 (rs4148738)* не требуется, так как по результатам исследования было показано отсутствие статистически значимого влияния на безопасность метотрексата у пациентов с псориазом. Помимо этого, более тщательное мониторирование гепатотоксического влияния метотрексата рекомендовано пациентам, получающим фототерапию и метотрексат в составе комбинированной терапии псориаза.

## 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 *ABCBI* rs1045642:  $\chi^2 = 0,32$ ,  $p = 0,572$ ; для *SLCO1B1* rs4149056:  $\chi^2 = 3,17$ ,  $p=0,075$ ; для *ABCBI* rs4148738:  $\chi^2 = 0,037$ ,  $p=0,847$ ). Ассоциация изучаемых полиморфизмов с псориазом не выявлена: достоверных различий в частоте полиморфизмов генов *ABCBI* (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 *ABCBI* 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 *ABCBI* (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 генотип 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

НЛР – нежелательные лекарственные реакции

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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. Ассоциация полиморфизма гена *ABCB1*, кодирующего гликопротеин р, с профилем эффективности и безопасности галоперидола у пациентов, страдающих патологическим влечением к алкоголю / М.С. Застрожин, К.А. Рыжикова, К.Б. Мирзаев [и др.] // Вестник РУДН. Серия: Медицина – 2017. Т. 21 – С. 42 – 50
3. Бакулев, А. Л. Метотрексат: к вопросу об эффективности и безопасности применения препарата у больных псориазом / А. Л. Бакулев // Вестник дерматологии и венерологии – 2017. № 1 – С. 38 – 45
4. Влияние полиморфизма 3435C>T гена *ABCB1* на безопасность терапии метотрексатом пациентов с псориазом / А.А. Кубанов, А.В. Асоскова, М.С. Застрожин [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии – 2023. Т. 99 (1) – С. 25 – 33
5. Ген *SLCO1B1* в аспекте фармакогенетики / М.Ю. Котловский, А.А. Покровский, О.С. Котловская [и др.] // Сибирское медицинское обозрение – 2015. Т. 1 – С. 5 – 15
6. Каневская, М. З. Метотрексат в лечении ревматических заболеваний / М. З. Каневская, С. В. Гурская // Современная ревматология – 2013. Т. 4
7. Клинические рекомендации. Псориаз / А. А. Кубанов, А. Л. Бакулев, А. Э. Карамова [и др.] // Рубрикатор клинических рекомендаций – 2020. – URL: <https://cr.minzdrav.gov.ru/> – Текст: электронный
8. 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
9. Насонов, Е. Л. Ингибиторы Янус-киназ при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: новые возможности и перспективы / Е. Л. Насонов, А. М. Лиля // Научно-практическая ревматология – 2019. № 57 – С. 7 – 11
10. Сычев, Д. А. Рекомендации по применению фармакогенетического тестирования в клинической практике / Д. А. Сычев // Качественная клиническая практика – 2011. Т. 1 – С. 3 – 10
11. Цветов, В. М. Мониторинг неблагоприятных побочных реакций лекарственных препаратов в амбулаторно-поликлиническом учреждении на современном этапе: дис. ... канд. мед. наук: 14 00 25 / Цветов Виталий Михайлович – Челябинск, 2007. – 130 с.

12. Чикин, В. Патогенетические аспекты лечения больных псориазом / В. В. Чикин, Л. Ф. Знаменская, А. А. Минеева // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. № 5. – С. 86 – 90
13. A randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the addition of methotrexate to etanercept in patients with moderate to severe plaque psoriasis / A. Gottlieb, R. Langley, B. Strober [et al.] // *British Journal of Dermatology* – 2012. V. 167(3) – P. 649 – 657
14. A Single Nucleotide Polymorphism of Reduced Folate Carrier 1 Predicts Methotrexate Efficacy in Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis / H. Hayashi, Y. Tazoe, S. Tsuboi [et al.] // *Drug Metab Pharmacokinet* – 2013. V. 28(2) – P. 164 – 168
15. Acute Severe Methotrexate Toxicity in Patients with Psoriasis: A Case Series and Discussion / O. Yélamos, A. Català, E. Vilarrasa [et al.] // *Dermatology* – 2014. V. 229(4) – P. 306 – 309
16. Adenosine A1 receptor promotion of multinucleated giant cell formation by human monocytes. A mechanism for methotrexate-induced nodulosis in rheumatoid arthritis / J. Merrill, C. Shen, D. Schreiber [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 1997. V. 40 (7) – P. 1308 – 1315
17. Adenosine A2A receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis / E. Chan, M. Montesinos, P. Fernandez [et al.] // *Br J Pharmacol* – 2006. V. 148 (8) – P. 1144 – 1155
18. Adenosine and the homeostatic control of sleep: Effects of A1 receptor blockade in the perifornical lateral hypothalamus on sleep–wakefulness / M. Thakkar, S. Engemann, K. Walsh [et al.] // *Neuroscience* – 2008. V. 153 (4) – P. 875 – 880
19. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis / K. Saag, G. Teng, N. Patkar [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 2008. V. 59 (6) – P. 762 – 784
20. Aminophylline for methotrexate-induced neurotoxicity / J. Bernini, D. Fort, J. Griener [et al.] // *The Lancet* – 1995. V. 345 (8949) – P. 544 – 547
21. Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients / S. Samara, Y. Irshaid, K. Mustafa [et al.] // *Int J Clin Pharmacol Ther* – 2014. V. 52 (9) – P. 746 – 55
22. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(C3435T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors / M. Siegsmond, U. Brinkmann, E. Schaffeler [et al.] // *J Am Soc Nephrol* – 2002. V. 13 – P. 1847 – 1854
23. Bernatsky, S. Anti-rheumatic drug use and risk of serious infections in rheumatoid arthritis / S. Bernatsky, M. Hudson, S. Suissa // *Rheumatology* – 2007. V. 46 (7) – P. 1157 – 1160

24. Bioavailability of higher dose methotrexate comparing oral and subcutaneous administration in patients with rheumatoid arthritis / M. Hoekstra, C. Haagsma, C. Neef [et al.] // *The Journal of Rheumatology* – 2004. V. 31 – P. 645 – 648
25. Brown, P. Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers / P. Brown, A. Pratt, J. Isaacs // *Nature Reviews Rheumatology* – 2016. V. 12(12) – P. 731 – 742
26. Busto, U. Comparison of two recently published algorithms for assessing the probability of adverse drug reactions / U. Busto, C. Naranjo, E. Sellers // *British journal of clinical pharmacology* – 1982. V. 2 (13) – P. 223 – 227
27. Campalani, E. Polymorphisms in Folate, Pyrimidine, and Purine Metabolism Are Associated with Efficacy and Toxicity of Methotrexate in Psoriasis / E. Campalani, M. Arenas, A. Marinaki // *Journal of Investigative Dermatology* – 2007. V. 127 (8) – P. 1860 – 1867
28. Chan, E. Methotrexate—how does it really work? / E. Chan, B. Cronstein // *Nature Reviews Rheumatology* – 2010. V. 6(3) – P. 175 – 178
29. Changes of Cerebral Biopterin and Biogenic Amine Metabolism in Leukemic Children Receiving 5 g/m<sup>2</sup> Intravenous Methotrexate / F. Millot, J. Dhondt, F. Mazingue [et al.] // *Pediatr Res* – 1995. V. 37 (2) – P. 151 – 154
30. Conway, R. Risk of liver disease in methotrexate treated patients / R. Conway, J. Carey // *World J Hepatol* – 2017. V. 9 (26)– P. 1092
31. Dietary caffeine intake does not affect methotrexate efficacy in patients with rheumatoid arthritis / E. Benito-Garcia, J. Heller, L. Chibnik [et al.] // *The Journal of rheumatology* – 2006. V. 33 (7) – P. 1275 – 1281
32. Dietary caffeine intake does not affect methotrexate efficacy in patients with rheumatoid arthritis / B. Cronstein, D. Naime, E. Ostad [et al.] // *Journal of Clinical Investigation* – 1993. V. 92 (6) – P. 2675 – 2682
33. Edmudson, W. Treatment of Psoriasis with Folic Acid Antagonists / W. Edmudson // *Archives of Dermatology* – 1958. V.78(2) – P. 200
34. Effect of caffeine consumption on efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis / G. Neshar, M. Mates, S. Zevin [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 2003. V. 48 (2) – P. 571 – 572
35. Effect of methotrexate on serum levels of IL-22 in patients with psoriasis / J. Meehansan, K. Ruchusatsawat, W. Sindhupak [et al.] // *European Journal of Dermatology* – 2011. V. 21 (4) – P. 501 – 504
36. Elevation of homocysteine and excitatory amino acid neurotransmitters in the CSF of children who receive methotrexate for the treatment of cancer / C. Quinn, J. Griener, T. Bottiglieri [et al.] // *Journal of Clinical Oncology* – 1997. V. 15 (8) – P. 2800 – 2806

37. European S3-guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris / D. Pathirana, A. Ormerod, P. Saiag [et al.] // PLoS One – 2009 – P. 5 – 70
38. Fredriksson, T. Severe psoriasis oral therapy with a new retinoid / T. Fredriksson, U. Pettersson // Dermatologica – 1978. V. 157 (4) – P. 238 – 244
39. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo / S. Hoffmeyer, O. Burk, O. von Richter [et al.] // Proc Natl Acad Sci – 2000. V. 97 (7) – P. 3473 – 3478
40. Genetic variation in efflux transporters influences outcome to methotrexate therapy in patients with psoriasis / R. Warren, R. Smith, E. Campalani [et al.] // J Invest Dermatol – 2008. V. 128 (8) – P. 1925 – 1929
41. Genome-wide study of methotrexate clearance replicates *SLCO1B1* / K. Giacomini M., S. Huang, D. Tweedie [et al.] // Nature Reviews Drug Discovery – 2010. V. 9 (3) – P. 215 – 236
42. Genome-wide study of methotrexate clearance replicates *SLCO1B1* / K. Goričar, V. Kovač, J. Jazbec [et al.] // Pharmacogenet Genomics – 2014. V. 10 – P. 514 – 521
43. Genome-wide study of methotrexate clearance replicates *SLCO1B1* / L. Ramsey, J. Panetta, C. Smith [et al.] // Blood – 2013. V. 121 (6) – P. 898 – 904
44. Germline genetic variation in an organic anion transporter polypeptide associated with methotrexate pharmacokinetics and clinical effects / L. Treviño, N. Shimasaki, W. Yang [et al.] // J Clin Oncol – 2004. V. 75 (1) – P. 13 – 33
45. Ghoreschi, K. Small Molecules in the Treatment of Psoriasis / K. Ghoreschi, M. Gadina // Drug Dev Res – 2013. V. 23 (1) – P. 7 – 11
46. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis / A. Menter, N. Korman, C. Elmets [et al.] // J Am Acad Dermatol – 2009. V. 61(3) – P. 451 – 485
47. Haskó, G. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity / G. Haskó // Trends Immunol – 2004. V. 25 (1) – P. 33 – 39
48. Hassan, W. Methotrexate and liver toxicity: role of surveillance liver biopsy. Conflict between guidelines for rheumatologists and dermatologists / W. Hassan // Ann Rheum Dis – 1996. V. 55 (5) – P. 273 – 275
49. Hider, S. The pharmacogenetics of methotrexate / S. Hider, I. Bruce, W. Thomson // Arthritis & Rheumatism – 2007. V. 46(10) – P. 1520 – 1524
50. Hillson, J. Pharmacology and pharmacokinetics of methotrexate in rheumatic disease. Practical issues in treatment and design / J. Hillson, D. Furst // Rheumatic Disease Clinics of North America – 1997. V. 23(4) – P. 757 – 778

51. Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells / L. Genestier, R. Paillot, S. Fournel [et al.] // *Journal of Clinical Investigation* – 1998. V. 102 (2) – P. 322 – 328
52. Induction of pulmonary fibrosis by methotrexate treatment in mice lung in vivo and in vitro / M. Ohbayashi, M. Suzuki, Y. Yashiro [et al.] // *J Toxicol Sci* – 2010. V. 35 (5) – P. 653 – 661
53. Inflammation in methotrexate-induced pulmonary toxicity occurs via the p38 MAPK pathway / Y. Kim, M. Song, J. Ryu [et al.] // *Toxicology* – 2009. V. 256 (3) – P. 183 – 190
54. Inoue, K. Molecular Basis for Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Methotrexate in Rheumatoid Arthritis Therapy / K. Inoue, H. Yuasa // *Drug Metab Pharmacokinet* – 2014. V. 29(1) – P. 12 – 29
55. Joint American Academy of Dermatology-National Psoriasis Foundation guidelines of care for the management and treatment of psoriasis in pediatric patients / A. Menter, K. Cordoro, D. Davis [et al.] // *J Am Acad Dermatol* – 2020. V. 82 (3) – P. 574
56. Kragballe, K. Methotrexate in psoriatic arthritis: a retrospective study / K. Kragballe, E. Zachariae, H. Zachariae // *Acta Dermato-Venereologica* – 1983. V. 63: 165–7
57. Kremer, J. Impaired Clearance of Methotrexate in Organic Anion Transporter 3 (Slc22a8) Knockout Mice: A Gender Specific Impact of Reduced Folates / J. Kremer, G. Petrillo, R. Hamilton // *J Rheumatol* – 1995. V. 22 – P. 38 – 40
58. Langman, G. Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury / G. Langman, P. Hall, G. Todd // *J Gastroenterol Hepatol* – 2001. V. 16 (12) – P. 1395 – 1401
59. Lebwohl, M. A clinician's paradigm in the treatment of psoriasis / M. Lebwohl // *Journal of the American Academy of Dermatology* – 2005. V.53 (1 Suppl 1) – P. 59 – 69
60. Levin, A. A comparison of psoriasis drug failure rates and reasons for discontinuation in biologics vs conventional systemic therapies / A. Levin, A. Gottlieb, S. Au // *J Drugs Dermatol* – 2014. V. 13 (7)– P. 848 – 853
61. Li, X. Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high-dose leucovorin and thymidine / X. Li, E. Abe, Y. Yamakawa // *J Kidney* – 2016. V. 2 (3)
62. Life-Threatening Gastrointestinal Mucosal Necrosis during Methotrexate Treatment for Rheumatoid Arthritis / T. Tsukada, T. Nakano, T. Miyata [et al.] // *Case Rep Gastroenterol* – 2013. V. 7 (3) – P. 470 – 475
63. Lloyd, M. The effects of methotrexate on pregnancy, fertility and lactation / M. Lloyd // *QJM* – 1999. V. 92 (10) – P. 551 – 563

64. Long term safety of methotrexate in routine clinical care: discontinuation is unusual and rarely the result of laboratory abnormalities / Y. Yazici, T. Sokka, H. Kautiainen [et al.] // *Ann Rheum Dis* – 2005. V. 64 (2) – P. 207 – 211
65. Low dose methotrexate induces apoptosis with reactive oxygen species involvement in T lymphocytic cell lines to a greater extent than in monocytic lines / S. Herman, N. Zurgil, M. Deutsch [et al.] // *Inflammation Research* – 2005. V. 54 (7) – P. 273 – 280
66. Lymphoid neoplasms in patients with rheumatoid arthritis and dermatomyositis: Frequency of Epstein-Barr virus and other features associated with immunosuppression / O. Kamel, M. van de Rijn, D. LeBrun [et al.] // *Hum Pathol* – 1994. V. 25 (7) – P. 638 – 643
67. MacDonald, A. Noninvasive monitoring for methotrexate hepatotoxicity / A. MacDonald, A. Burden // *British Journal of Dermatology* – 2005. V. 152 (3) – P. 405 – 408
68. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine / S. Drescher, E. Schaeffeler, M. Hitzl [et al.] // *Br J Clin Pharmacol* – 2002. V. 53 (5) – P. 526 – 534
69. Membrane-Spanning Protein Genetic Polymorphisms Related to Methotrexate Therapeutic Outcomes in a Chinese Rheumatoid Arthritis Population / S. Lv, H. Fan, H. Yang [et al.] // *J Clin Pharmacol* – 2019. V. 59 (11) – P. 1471 – 1476
70. Methotrexate an Old Drug with New Tricks / Y. Bedoui, X. Guillot, J. Sélambarom [et al.] // *Int J Mol Sci* – 2019. V. 20 (20) – P. 5023
71. Methotrexate disposition following concomitant administration of ketoprofen, piroxicam and flurbiprofen in patients with rheumatoid arthritis / T. Tracy, T. Worster, J. Bradley [et al.] // *Br J Clin Pharmacol* – 1994. V. 37(5)– P. 453 – 456
72. Methotrexate Dosing Regimen for Plaque-type Psoriasis: A Systematic Review of the Use of Test-dose, Start-dose, Dosing Scheme, Dose Adjustments, Maximum Dose and Folic Acid Supplementation / S. Menting, P. Dekker, J. Limpens [et al.] // *Acta Dermato Venereologica* – 2016. V. 96(1) – P. 23 – 28
73. Methotrexate hepatotoxicity in psoriatic patients submitted to long-term therapy / R. Themido, M. Loureiro, M. Pecegueiro [et al.] // *Acta Derm Venereol* – 1992. V. 72 – P. 361 – 364
74. Methotrexate in rheumatoid arthritis: An update with focus on mechanisms involved in toxicity / A. van Ede, R. Laan, H. Blom [et al.] // *Semin Arthritis Rheum* – 1998. V. 27 (5) – P. 277 – 292
75. Methotrexate induces cell swelling and necrosis in renal tubular cells / M. Grönroos, M. Chen, T. Jahnukainen [et al.] // *Pediatr Blood Cancer* – 2006. V. 46 (5) – P. 624 – 629

76. Methotrexate inhibits the first committed step of purine biosynthesis in mitogen-stimulated human T-lymphocytes: a metabolic basis for efficacy in rheumatoid arthritis? / L. Fairbanks, K. RüCkemann, Y. Qiu [et al.] // *Biochemical Journal* – 1999. V. 342 (1) – P. 143 – 152
77. Methotrexate Is a Suppressor of JAK/STAT Pathway Activation Which Inhibits JAK2V617F Induced Signalling / S. Thomas, K. Fisher, S. Brown [et al.] // *Blood* – 2014. V. 124 (21)– P. 4577
78. Methotrexate metabolism analysis in blood and liver of rheumatoid arthritis patients: Association with hepatic folate deficiency and formation of polyglutamates / J. Kremer, J. Galivan, A. Streckfuss [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 1986. V. 29(7) – P. 832 – 835
79. Methotrexate Promotes Platelet Apoptosis via JNK-Mediated Mitochondrial Damage: Alleviation by N-Acetylcysteine and N-Acetylcysteine Amide / M. Paul, M. Hemshekhar, R. Thushara [et al.] // *PLoS One* – 2015. V. 10 (6) – P. e0127558
80. Methotrexate pulmonary toxicity / O. Lateef, N. Shakoor, R. Balk [et al.] // *Expert Opin Drug Saf* – 2005. V. 4 (4) – P. 723 – 730
81. Methotrexate specifically modulates cytokine production by T cells and macrophages in murine collagen-induced arthritis (CIA): a mechanism for methotrexate-mediated immunosuppression / M. Neurath, K. Hildner, C. Becker [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology* – 1999. V. 115 (1) – P. 42 – 55
82. Methotrexate: Understanding the risk in psoriasis patients / J. Lucas, E. Ntuen, D. Pearce [et al.] // *Journal of Dermatological Treatment* – 2009. V. 20 (5) – P. 311 – 313
83. Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high-dose leucovorin and thymidine / H. Abelson, M. Fosburg, G. Beardsley [et al.] // *Journal of Clinical Oncology* – 1983. V. 1 (3) – P. 208 – 216
84. Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high-dose leucovorin and thymidine / H. Abelson, M. Fosburg, G. Beardsley [et al.] // *Journal of Clinical Oncology* – 1983. V. 1 (3) – P. 208 – 216
85. Methotrexate-mediated inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B activation by distinct pathways in T cells and fibroblast-like synoviocytes / C. Spurlock, H. Gass, C. Bryant [et al.] // *Rheumatology* – 2014. V. 54 (1) – P. 178 – 187
86. Monitoring methotrexate-induced hepatic fibrosis in patients with psoriasis: are serial liver biopsies justified? / G. Aithal, B. Haugk, S. Das [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther* – 2004. V. 19 (4) – P. 391 – 399
87. Monitoring methotrexate-induced hepatic fibrosis in patients with psoriasis: are serial liver biopsies justified? / R. Dooren-Greebe, A. Kuijpers, J. Mulder [et al.] // *British Journal of Dermatology* – 1994. V. 130 (2) – P. 204 – 210

88. Montesinos, M. Suppression of inflammation by low-dose methotrexate is mediated by adenosine A2A receptor but not A3 receptor activation in thioglycolate induced peritonitis / M. Montesinos C, A. Desai, B. Cronstein // *Arthritis Res* – 2006. V. 8 (53)
89. Motegi, S. Methotrexate-induced Accelerated Nodulosis in a Patient with Rheumatoid Arthritis and Scleroderma / S. Motegi, O. Ishikawa // *Acta Dermato Venereologica* – 2014. V. 94 (3) – P. 357 – 358
90. Multiple congenital anomalies associated with weekly low-dose methotrexate treatment of the mother / L. Buckley, C. Bullaboy, L. Leichtman [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 1997. V. 40 (5) – P. 971 – 973
91. Murakami, T. Involvement of Multiple Transporters-mediated Transports in Mizoribine and Methotrexate Pharmacokinetics / T. Murakami, N. Mori // *Pharmaceuticals* – 2012. V. 5(8) – P. 802 – 836
92. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study / R. Black, W. O'Brien, E. Van Scott [et al.] // *Journal of the American Medical Association* – 1964. V. 189(10)
93. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study / R. Parisi, I. Iskanda, E. Kontopantelis [et al.] // *BMJ*. – 2020. V.369. – P. m1590
94. Negrei, C. The Role of Methotrexate in Psoriatic Therapy in the Age of Biologic and Biosimilar Medication: Therapeutic Benefits versus Toxicology Emergencies / C. Negrei, D. Boda // *An Interdisciplinary Approach to Psoriasis* – 2017
95. Nyfors A. Benefits and adverse drug experiences during longterm methotrexate treatment of 248 psoriatics / A. Nyfors // *Danish medical bulletin* – 1978. V. 25:208–11
96. One SNP at a time: moving beyond GWAS in psoriasis / H. Ray-Jones, S. Eyre, A. Barton [et al.] // *J Invest Dermatol* – 2016. V. 136 (3) – P. 567 – 573
97. Oral effects of low-dose methotrexate treatment / A. Kalantzis, Z. Marshman, D. Falconer [et al.] // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* – 2005. V. 100 (1) – P. 52 – 62
98. Ortega-Alonso, A. Chronic liver injury induced by drugs and toxins / A. Ortega-Alonso, R. Andrade // *J Dig Dis* – 2018. V. 19 (9) – P. 514 – 521
99. Pancytopenia Following Single Dose Methotrexate In Psoriasis: A Rare And Potentially Lethal Manifestation / M. Paul, M. Hemshekhar, R. Thushara [et al.] // *Curr Drug Saf* – 2020. V. 15
100. Patel, S. Effect of low dose weekly methotrexate on bone mineral density and bone turnover / S. Patel // *Ann Rheum Dis* – 2003. V. 62 (2) – P. 186 – 187



101. Paxton, J. Protein binding of methotrexate in sera from normal human beings: effect of drug concentration, pH, temperature, and storage / J. Paxton // *Journal of Pharmacological Methods* – 1981. V. 5 – P. 203 – 213
102. Peroxisome Proliferator Receptor (PPAR)  $\beta/\delta$  in psoriatic patients before and after two conventional therapeutic modalities: methotrexate and PUVA / N. El Eishi, R. Hegazy, O. Abou Zeid [et al.] // *European Journal of Dermatology* – 2011. V. 21 (5) – P. 691 – 695
103. Peroxisome Proliferator Receptor (PPAR)  $\beta/\delta$  in psoriatic patients before and after two conventional therapeutic modalities: methotrexate and PUVA / S. Thomas, K. Fisher, J. Snowden [et al.] // *PLoS One* – 2015. V. 10 (7) – P. e0130078
104. Personalized Medicine in Psoriasis: Current Progress / Y. Ando, H. Shimada, N. Matsumoto [et al.] // *Psoriasis (Auckl)* – 2022. V. 12 – P. 231 – 250
105. Pharmacogenetic polymorphisms contributing to toxicity induced by methotrexate in the southern Spanish population with rheumatoid arthritis / J. Plaza-Plaza, M. Aguilera, M. Cañadas-Garre [et al.] // *OMICS* – 2012. V. 16 (11) – P. 589 – 595
106. Pharmacogenetics and pharmacogenomics in psoriasis treatment: current challenges and future prospects / A. Sutherland, R. Power, P. Rahman [et al.] // *Expert Opin Drug Metab Toxicol* – 2016. V. 12 (8) – P. 923 – 935
107. Pharmacogenomics and Individualized Drug Therapy / M. Eichelbaum, M. Ingelman-Sundberg, W. Evans [et al.] // *Annu Rev Med* – 2006. V. 57 (1) – P. 119 – 137
108. Phillips, D. The anti-inflammatory actions of methotrexate are critically dependent upon the production of reactive oxygen species / D. Phillips, K. Woollard, H. Griffiths // *Inflammation Research* – 2003. V. 138 (3) – P. 501 – 511
109. Polymorphisms in GNMT and DNMT3b are associated with methotrexate treatment outcome in plaque psoriasis / J. Grželj, I. Mlinarič-Raščan, P. Marko [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy* – 2021. V. 138 – P. 111456
110. Prey, S. Effect of folic or folinic acid supplementation on methotrexate-associated safety and efficacy in inflammatory disease: a systematic review / S. Prey, C. Paul // *British Journal of Dermatology* – 2009. V. 160 (3) – P. 622 – 628
111. Protective Effect of  $\beta$ -Carotene on Methotrexate-Induced Oxidative Liver Damage / N. Vardi, H. Parlakpınar, A. Cetin [et al.] // *Toxicol Pathol* – 2010. V. 38 (4) – P. 592 – 597
112. Redenšek, S. Pharmacogenetics of Psoriasis Treatment. An Interdisciplinary Approach to Psoriasis / S. Redenšek, V. Dolžan // *An Interdisciplinary Approach to Psoriasis* – 2017.
113. Replacement of routine liver biopsy by procollagen III aminopeptide for monitoring patients with psoriasis receiving long-term methotrexate: a multicentre audit and health economic

analysis / R. Chalmers, B. Kirby, A. Smith [et al.] // *British Journal of Dermatology* – 2005. V. 152 (3) – P. 444 – 450

114. Reversal of the antiinflammatory effects of methotrexate by the nonselective adenosine receptor antagonists theophylline and caffeine: Evidence that the antiinflammatory effects of methotrexate are mediated via multiple adenosine receptors in rat adjuvant arthritis / M. Montesinos, J. Yap, A. Desai [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 2000. V. 43 (3) – P. 656 – 663

115. Role of Methotrexate Polyglutamation and Reduced Folate Carrier 1 (RFC1) Gene Polymorphisms in Clinical Assessment Indexes / Y. Ando, H. Shimada, N. Matsumoto [et al.] // *Drug Metab Pharmacokinet* – 2013. V. 28(5) – P. 442 – 445

116. Saporito, F. Methotrexate and psoriasis in the era of new biologic agents / F. Saporito, M. Menter // *J Am Acad Dermatol* – 2004. V. 50 (2) – P. 301 – 309

117. Schiff, M. Head-to-head, randomised, crossover study of oral versus subcutaneous methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: drug-exposure limitations of oral methotrexate at doses  $\geq 15$  mg may be overcome with subcutaneous administration/ M. Schiff, J. Jaffe, B. Freundlich // *Annals of the Rheumatic Diseases* – 2014. V. 73(8) – P. 1549 – 1551

118. Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review / W. Wang, H. Zhou, L. Liu [et al.] // *Eur J Med Chem* – 2018. V. 158 – P. 502 – 516

119. Single Low-Dose Methotrexate-Induced Fatal Pancytopenia: Case Report and Review of the Literature / K. May, S. West, M. Mcdermott [et al.] // *Biomed J Sci Tech Res* – 2019. V. 15 (5)

120. Single nucleotide polymorphisms associated with methotrexate-induced nausea in juvenile idiopathic arthritis / N. Kyvsgaard, T. Mikkelsen, T. Als [et al.] // *Pediatr Rheumatol* – 2021. V. 19 (51)

121. Single nucleotide polymorphisms in the human reduced folate carrier: characterization of a high-frequency G/A variant at position 80 and transport properties of the His(27) and Arg(27) carriers / J. Whetstone, A. Gifford, T. Witt [et al.] // *Clin Cancer Res* – 2001. V. 7 – P. 16 – 22

122. SLC19A1, SLC46A1 and *SLCO1B1* Polymorphisms as Predictors of Methotrexate-Related Toxicity in Portuguese Rheumatoid Arthritis Patients / A. Lima, M. Bernardes, R. Azevedo [et al.] // *Toxicological Sciences* – 2014. V. 142 (1) – P. 196 – 209

123. SLC19A1, SLC46A1 and *SLCO1B1* Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance / C. Marzolini, E. Paus, T. Buclin [et al.] // *Clin Pharmacol Ther* – 2009. V. 27 (35) – P. 5972 – 5978

124. Stern, R. The carcinogenic risk of treatments for severe psoriasis / R. Stern, N. Laird // *Cancer* – 1994. V. 73 (11) – P. 2759 – 2764

125. Subcutaneous administration of methotrexate at high doses makes a better performance in the treatment of rheumatoid arthritis compared with oral administration of methotrexate: A

systematic review and meta-analysis / D. Li, Z. Yang, P. Kang [et al.] // *Semin Arthritis Rheum* – 2016. V. 45 (6) – P. 656 – 662

126. Svedlund, J. GSRS-a clinical rating scale for gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome and peptic ulcer disease / J. Svedlund, I. Sjödin, G. Dotevall // *Dig Dis Sci* – 1988. V. 33 (2) – P. 129 – 134

127. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells / M. Hitzl, S. Drescher, H. van der Kuip [et al.] // *Pharmacogenetics* – 2001. V. 11 – P. 293 – 298

128. The Effect of Low-Dose Methotrexate on Bone Metabolism and Histomorphometry in Rats / K. May, S. West, M. Mcdermott [et al.] // *Arthritis & Rheumatism* – 1994. V. 37 (2) – P. 201 – 206

129. The pharmacology of methotrexate / M. Paul, M. Hemshekhar, R. Thushara [et al.] // *J Am Acad Dermatol* – 1991. V. 25 (2) – P. 306 – 318

130. The use of methotrexate in dermatology: a review / S. Shen, T. O'Brien, L. Yap [et al.] // *Australasian Journal of Dermatology* – 2012. V. 53 (1) – P. 1 – 18

131. Thomas, J. Monitoring Liver Function during Methotrexate Therapy for Psoriasis / J. Thomas, G. Aithal // *Am J Clin Dermatol* – 2005. V. 6(6) – P. 357 – 363

132. Three decades of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis: Can we predict toxicity? / V. Romão, A. Lima, M. Bernardes [et al.] // *Immunol Res* – 2014. V. 60(2-3) – P. 289 – 310

133. Torres, T. Small Molecules in the Treatment of Psoriasis / T. Torres, P. Filipe // *Drug Dev Res* – 2015. V. 76 (5) – P. 215 – 227

134. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5 – 2017. – URL: [https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick](https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick) – Текст: электронный

135. VanWert, A. Impaired Clearance of Methotrexate in Organic Anion Transporter 3 (Slc22a8) Knockout Mice: A Gender Specific Impact of Reduced Folates / A. VanWert, D. Sweet // *Pharm Res* – 2007. V. 25 (2) – P. 453 – 462

136. Weinstein, G. Methotrexate for psoriasis. A new therapeutic schedule / G. Weinstein // *Archives of Dermatology* – 1971. V.103(1) – P. 33 – 38

137. West, J. Safety and Efficacy of Methotrexate in Psoriasis: A Meta-Analysis of Published Trials / J. West, S. Ogston, J. Foerster // *PLoS One* – 2016. V. 11 (5) – P. e0153740

138. WHO Library, Global report on psoriasis // World Health Organization – 2016. – URL: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204417/9789241565189\\_eng.pdf;sequence=1/](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204417/9789241565189_eng.pdf;sequence=1/) –

Текст: электронный

139. Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with RA? / S. Hider, S. Eisen, W. Yokoyama [et al.] // *Ann Rheum Dis* – 2003. V. 62 (6) – P. 4 – 9

140. Wollina, U. Toxicity of Methotrexate Treatment in Psoriasis and Psoriatic Arthritis – Short- and Long-Term Toxicity in 104 Patients / U. Wollina, K. Ständer, U. Barta // *Clin Rheumatol* – 2001. V. 20 (6) – P. 406 – 410

141. Yélamos, O. Systemic methotrexate for the treatment of psoriasis / O. Yélamos, L. Puig // *Expert Review of Clinical Immunology* – 2015. V. 11(5) – P. 553 – 563

142. Zachariae, H. Methotrexate treatment of psoriatic arthritis / H. Zachariae, E. Zachariae // *Acta Dermato-Venereologica* – 1987. V. 67:270–3.173