
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

EXPERIMENTAL MATERIALS

Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. 2022. № 3 (19). С. 5—14.
ISSN 2409-4102 (print)
Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Healthcare. 2022;(3(19):5-14.
ISSN 2409-4102 (print)

Научная статья

УДК 159.9

doi: 10.24411/2409-4102-2022-10301

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ-ТРАНСПОРТЕРОВ *RFC-1* И *MDR1* С ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ОТВЕТОМ НА МЕТОТРЕКСАТ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Инесса Валерьевна Девальд¹, Елена Андреевна Ходус², Елена Борисовна Хромова³,
Дарья Сергеевна Сташкевич⁴, Александра Леонидовна Бурмистрова⁵,
Галина Львовна Игнатова⁶

^{1,6} Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Челябинск, Россия

^{1,2,3,4,5,6} Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

¹ inessa.devald@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

² khoduslana@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5520-9635>

³ eb_sh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5415-545X>

⁴ stashkevich_dary@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

⁵ burmal@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6462-9500>

⁶ iglign@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) — «иммуновоспалительное (аутоиммунное) ревматическое заболевание, характеризующееся тяжелым прогрессирующим поражением суставов и внутренних органов, развитие которого определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды и генетической предрасположенности, ведущих к глобальным нарушениям в системе гуморального и клеточного иммунитета». Ведущее место в терапии РА занимает метотрексат (МТ). На сегодняшний день противовоспалительная терапия МТ у больных РА осуществляется эмпирически с наблюдательной тактикой в отношении эффективности. При этом у ряда индивидуумов цели лечения, направленного на замедление прогрессирования болезни, могут быть не достигнуты. Это делает актуальным поиск различных прогностических маркеров эффективности МТ. По данным литературы последних лет внимание исследователей акцентировано на однонуклеотидных полиморфизмах (SNP — single nucleotide polymorphism) ряда генов фолатного цикла, регулирующих механизм действия МТ, в том числе процессов его внутри- и внеклеточного транспорта.

Цель исследования: оценить прогностическую роль однонуклеотидных полиморфизмов генов-транспортеров *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T в формировании терапевтического ответа на МТ у больных РА.

Материалы и методы. Исследуемую группу составили 85 больных с достоверным диагнозом РА, которым была инициирована противовоспалительная терапия МТ в дозе от 10 до 17,5 мг/нед. Мониторинг эффективности проводился через 6 месяцев лечения по динамике индекса DAS28. В процессе наблюдения определены «ответчики» и «неответчики» на МТ. Амплификация полиморфизмов генов-транспортеров *RFC-1* и *MDR1* выполнена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. В группах «ответчиков» и «неответчиков» обнаружены тенденции к различиям в частоте встречаемости аллелей и генотипов *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T и достоверные различия по частоте встречаемости их определенных генотипических комбинаций. Так, комбинация *RFC-1* 80AG+*MDR1* 3435CT преобладала у пациентов с эффективностью МТ (OR = 0,2; 95 % CI 0,05—0,76; p = 0,019), а комбинация *RFC-1* 80AG+*MDR1* 3435TT превалировала у больных, резистентных к лечению (OR = 4,7; 95 % CI 1,2—18,7; p = 0,027).

Выводы. Полиморфизмы транспортеров *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T могут играть роль в терапевтическом ответе на МТ, но влияют на это не столько их изолированные мутации, сколько межгенные взаимодействия.

© Девальд И. В., Ходус Е. А., Хромова Е. Б., Сташкевич Д. С., Бурмистрова А. Л., Игнатова Г. Л., 2022

Ключевые слова: ревматоидный артрит, метотрексат, эффективность, однонуклеотидные полиморфизмы, гены транспортеров

Для цитирования: Девальд И. В., Ходус Е. А., Хромова Е. Б., Сташкевич Д. С., Бурмистрова А. Л., Игнатова Г. Л. Ассоциация полиморфизмов генов-транспортеров *RFC-1* и *MDR1* с терапевтическим ответом на метотрексат у больных ревматоидным артритом // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. 2022. № 3 (19). С. 5—14. doi: 10.24411/2409-4102-2022-10301.

Original article

ASSOCIATION OF *RFC-1* AND *MDR1* TRANSPORTER GENE POLYMORPHISMS WITH THERAPEUTIC RESPONSE TO METHOTREXATE IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS

Inessa V. Devald¹, Elena A. Khodus², Elena B. Khromova³, Darya S. Stashkevich⁴, Alexandra L. Burmistrova⁵, Galina L. Ignatova⁶

^{1,6} South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

^{1,2,3,4,5,6} Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

¹ inessa.devald@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

² khoduslana@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5520-9635>

³ eb_sh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5415-545X>

⁴ stashkevich_dary@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

⁵ burmal@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6462-9500>

⁶ iglign@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>

Summary. Rheumatoid arthritis (RA) is “an immunoinflammatory (autoimmune) rheumatic disease characterized by severe progressive joint and internal organ damage, the development of which is determined by a complex interaction of environmental factors and genetic predisposition, leading to global disturbances in the humoral and cellular immunity system. Methotrexate (MT) leads the therapy of RA. To date, anti-inflammatory MT therapy in RA patients has been carried out empirically with observational tactics regarding efficacy. At the same time, in a number of individuals the goals of treatment aimed at slowing the progression of the disease may not be achieved. This makes the search for various prognostic markers of MT efficacy relevant. According to recent literature data, the attention of researchers is focused on single nucleotide polymorphisms (SNP — single nucleotide polymorphism) of a number of folate cycle genes that regulate the mechanism of MT action, including its intra- and extracellular transport processes.

Objective: To evaluate the prognostic role of single-nucleotide polymorphisms of *RFC-1* 80G>A and *MDR1* C3435T transporter genes in the formation of therapeutic response to MT in RA patients.

Materials and methods. The study group consisted of 85 patients with a reliable diagnosis of RA, who were initiated on anti-inflammatory therapy with MT at a dose of 10 to 17.5 mg/week. Efficacy was monitored after 6 months of treatment by the dynamics of the DAS28. During follow-up, “responders” and “nonresponders” to MT were identified. Amplification of *RFC-1* and *MDR1* transporter gene polymorphisms was performed by real-time polymerase chain reaction.

Results. In the groups of “responders” and “nonresponders” we found trends towards differences in the frequency of *RFC-1* 80G>A and *MDR1* C3435T alleles and genotypes and significant differences in the frequency of certain genotypic combinations. Thus, the *RFC-1* 80AG+*MDR1* 3435CT combination prevailed in patients with MT efficacy (OR=0.2; 95 % CI 0.05 to 0.76; p=0.019), and the *RFC-1* 80AG+*MDR1* 3435T combination prevailed in treatment-resistant patients (OR=4.7; 95 % CI 1.2 to 18.7; p=0.027).

Conclusion. Transporter polymorphisms *RFC-1* 80G>A and *MDR1* C3435T may play a role in the therapeutic response to MTs, but intergenic interactions rather than their isolated mutations influence this.

Keywords: rheumatoid arthritis, methotrexate, efficacy, single nucleotide polymorphisms, transporter genes

For citation: Devald IV, Khodus EA, Lila AM, Khromova EB, Stashkevich DS, Burmistrova AL, Ignatova GL. Association of *RFC-1* and *MDR1* Transporter Gene Polymorphisms with Therapeutic Response to Methotrexate in Rheumatoid Arthritis Patients. *Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Healthcare*. 2022;(3(19):5-14. (In Russ.). doi: 10.24411/2409-4102-2022-10301.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — «иммуновоспалительное (аутоиммунное) ревматическое заболевание, характеризующееся тяжелым прогрессирующим поражением суставов и внутренних органов, развитие которого определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды и генетической предрасположенности, ведущих к глобальным нарушениям в системе гуморального и клеточного иммунитета» [1]. По данным статистики распространенность РА в мире варьирует от 0,3 до 1,2 %. В России эта цифра сопоставима и приближается к 0,61 %. Возможно, что доля больных РА в общей численности населения Российской Федерации будет продолжать расти. Это связано с различными факторами: общий прирост числа ревматических заболеваний (РЗ), совершенствование диагностических методик, расширение эпидемиологических исследований и т. д. Несмотря на то что класс РЗ включает в себя более 80 нозологических единиц, медико-социальная и экономическая нагрузка на общество обусловлена именно РА, так как его течение характеризуются стойкой, неуклонно прогрессирующей деформацией суставов с ранней потерей трудоспособности и инвалидизацией больных [2; 3].

На сегодняшний день возможности фармакотерапии РА представлены широким спектром синтетических, таргетных и биологических средств, действующих на различные звенья иммунопатогенеза болезни. Лидирующую позицию в этом многообразии занимает антагонист фолиевой кислоты — метотрексат (МТ). Его противовоспалительный и антидеструктивный эффект доказан как контролируемые исследованиями, так и многолетним клиническим опытом. Уникальное преимущество МТ заключается в перспективе его применения как в монотерапии, так и в режиме комбинации с другими лекарственными препаратами, в целях повышения эффективности лечения и снижения риска иммуногенности биологических агентов [4].

Современная стратегия лечения РА основана на ранней инициации терапии МТ (в первые 3-6 месяцев от дебюта болезни) в стартовой дозе 10-15 мг в неделю с последующей (при необходимости) эскалацией до 25-30 мг в неделю в целях снижения воспалительной активности и предупреждения прогрессирования деструктивных изменений в суставах [5].

Следует отметить, что терапия МТ у всех больных РА проводится эмпирически с последу-

ющей наблюдательной тактикой (в течение нескольких месяцев) в отношении эффективности и переносимости. При этом часть пациентов оказываются абсолютно резистентны к проводимому лечению, подвержены необратимым патологическим изменениям и требуют усилий клиницистов для поиска иных способов контроля над болезнью [6].

В настоящее время накоплены доказательства генетической природы формирования индивидуального ответа на различные лекарственные средства [7]. По мнению исследователей разных стран, терапевтическая эффективность МТ может быть детерминирована рядом однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism — SNP) генов фолатного цикла, регулирующих его специфический механизм действия [8—11]. Внимание ученых оказалось акцентировано на мутациях генов, кодирующих отдельные процессы биотрансформации МТ, в том числе его внутри[редуцированный носитель фолата — reduced folate carrier (*RFC-1*)/solute carrier family 19 members 1 (*SLC19A1*)] и внеклеточный [ген множественной лекарственной устойчивости — multidrug resistance gene (*MDR1*)] транспорт [12]. В соответствии с литературными данными, наиболее прогностически значимыми оказались полиморфизмы, представленные заменой гуанина (G) на аденин (A) в позиции 80 гена *RFC-1* (rs1051266), и заменой цитозина (C) на тимин (T) в позиции 3435 гена *MDR1* (rs1045642) [13—18].

Цель исследования: оценить прогностическую роль однонуклеотидных полиморфизмов генов транспортеров *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T в формировании терапевтического ответа на МТ у больных РА.

Материалы и методы

Срок исследования (при поддержке локального этического комитета МБУЗ ОТКЗ ГКБ № 1 г. Челябинска, протокол № 2 от 07.05.2013) составил 2 года. Исследуемая группа состояла из 85 больных с достоверным диагнозом РА по классификационным критериям ACR/EULAR 2010 [19] «наивных» по базисной и таргетной противовоспалительной терапии, а также лечению биологическими агентами, при условии исключения других аутоиммунных заболеваний, злокачественных новообразований, в том числе системы гемопоэза. Клинико-демографическая и лабораторно-инструментальная характеристика больных представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика больных РА

Количество больных		
из них:	женщины	67 (78,8 %)
	мужчины	18 (21,2 %)
Средний возраст, лет		54,6±11,3
Средний возраст дебюта заб-я, лет		49,8±13,2
Рентгенологическая стадия		
	0	15 (17,6 %)
	I	10 (11,8 %)
	II	41 (48,2 %)
	III	9 (10,6 %)
	IV	10 (11,8 %)
Серологические маркеры		
Ревматоидный фактор	обнаружен	72 (84,7 %)
	не обнаружен	13 (15,3 %)
АЦЦП	обнаружены	66 (77,6 %)
	не обнаружены	9 (10,6 %)
	не определялись	10 (11,8 %)
Активность заболевания по DAS28		
	низкая (DAS28 ≤ 3,2)	17 (20 %)
	умеренная	29 (34,1 %)
	высокая (DAS28 > 5,1)	39 (45,9 %)

Всем пациентам, включенным в исследование, была инициирована противовоспалительная терапия МТ в дозе от 10 до 17,5 мг/нед с мониторингом его эффективности в течение 6 месяцев.

С целью купирования болевого синдрома и симптоматического снижения воспалительной активности РА (до наступления лечебного эффекта МТ) — 36 (42,3 %) из 85 больных принимали глюкокортикоиды (ГК) в дозе от 5 до 15 мг/сут эквивалентной преднизолону, остальные 49 (57,7 %) больных получали нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и локальную терапию ГК.

Амплификация полиморфизмов *RFC-1 80G>A* и *MDR1 C3435T* проводилась на базе отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови» с аллель-специфическими праймерами методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по методикам Dervieux et al. и Pawlik et al [20; 16].

Статистический анализ данных

Статистический анализ полученных данных проведен с применением программ Statistica 10.0 для Windows (StatSoft Inc., США) и программы MsExcel пакета MsOffice (Microsoft Corporation, США).

Для оценки достоверности (*p*) различий применяли χ^2 Пирсона для четырехпольных таблиц, χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса и точный двусторонний критерий Фишера.

Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Сила ассоциации признаков оценивалась по показателю отношения шансов (OR — odds ratio) с расчетом 95 %-го доверительного интервала (95 % Confidence Interval — 95 % CI) [21].

Результаты и обсуждение

Первая часть нашей работы заключалась в оценке эффективности МТ у больных РА.

Как было сказано выше, всем пациентам, включенным в исследование, была инициирована терапия МТ в дозе от 10 до 17,5 мг/нед с последующим мониторингом эффективности по динамике индекса DAS28 [22]. Через 6 месяцев терапии были выделены группы «ответчиков» и «неответчиков» на лечение, представленные в таблице 2.

Анализ эффективности терапии МТ показал, что через 6 месяцев у преимущественного числа больных — 61 (71,8 %) достигнут положительный результат от лечения («ответчики»). В этой группе больных у большинства — 53 (86,9 %) эффект от лечения был хороший, т. е. динамика DAS28 составила более 1,2, а конечные значения индекса соответствовали ремиссии (DAS28 < 2,6) или низкой активности (DAS28 ≤ 3,2) заболевания по критериям EULAR; у 8 (13,1 %) больных эффект от лечения был умеренный, т. е. динамика DAS28 варьировала в диапазоне от 0,6 до 1,2, а конечные значения индекса соответствовали умеренной активности болезни (3,2 < DAS28 ≤ 5,1).

Таблица 2

Оценка эффективности МТ по динамике индекса DAS28

Эффект от лечения по динамике индекса DAS28	Больные РА (n = 85)			
	«ответчики» n = 61 (71,8 %*)		«неответчики» n = 24 (28,2 %*)	
	n	%	n	%
Эффект хороший (динамика DAS28 > 1,2)	53	86,9 %	—	—
Эффект умеренный (динамика DAS28 0,6 — 1,2)	8	13,1 %	14	58,4 %
Эффекта нет (динамика DAS28 < 0,6)	—	—	10	41,6 %

* Примечание: % рассчитывали от общего числа больных

Отсутствие результата от лечения зарегистрировано у 24 (21,8 %) больных («неответчики»), среди них у 10 (41,6 %) человек в процессе лечения динамика DAS28 была минимальной (менее 0,6), а конечные значения индекса соответствовали сохраняющейся высокой активности (DAS28 > 5,1) РА; у 14 (58,4 %) дина-

мика DAS28 была в диапазоне 0,6—1,2, что в итоге соответствовало умеренной активности (3,2 < DAS28 ≤ 5,1) болезни.

Вторая часть нашей работы заключалась в анализе взаимосвязи терапевтического ответа на МТ с полиморфизмами *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T, результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Частота встречаемости аллелей и генотипов SNP *MDR1* C3435T и *RFC-1* 80G>A у «неответчиков» и «ответчиков» на МТ

	«неответчики» (n = 24)		«ответчики» (n = 61)		p	OR (95 % CI)
	n	%	n	%		
SNP <i>RFC-1</i> 80G>A						
Аллели						
G	32	66,7	63	51,6	0,076	1,87 (0,93—3,76)
A	16	33,3	59	48,4		
Генотипы						
GG	9	37,5	16	26,2	0,446	1,69 (0,62—4,61)
GA	14	58,3	31	50,8	0,532	1,36 (0,52—3,52)
AA	1	4,2	14	23	0,057	0,15 (0,02—1,18)
SNP <i>MDR1</i> C3435T						
Аллели						
C	17	35,4	53	43,4	0,339	0,71 (0,36—1,43)
T	31	64,6	69	56,6		
Генотипы						
CC	4	16,7	8	13,1	0,773	1,33 (0,36—4,89)
CT	9	37,5	37	60,7	0,092	0,4 (0,14—1,03)
TT	11	45,8	16	26,2	0,081	2,38 (0,89—6,37)

В ходе анализа распределения вышеуказанных полиморфизмов мы отметили, что у больных РА, резистентных к терапии МТ, практически в два раза превалировала частота встречаемости аллеля G (OR = 1,87; 95 % CI 0,93—3,76) гена *RFC-1* и гомозиготного генотипа TT (OR = 2,38; 95 % CI 0,89—6,37) гена *MDR1*, в отличие от больных с эффективностью лечения, у которых преобладала частота встречаемости гомозиготного генотипа AA (OR =

0,15; 95 % CI 0,02—1,18) гена *RFC-1* и гетерозиготного генотипа CT (OR = 0,4; 95 % CI 0,14—1,03) гена *MDR1*. При этом, во всех случаях различия находились на уровне тенденции (0,05 < p ≤ 0,1). Такие результаты позволяют нам рассматривать аллель *RFC-1* 80G и генотип *MDR1* 3435TT как потенциальные генетические предикторы резистентности к МТ, а генотипы *RFC-1* 80AA и *MDR1* 3435CT — как возможные ее протективные маркеры.

Учитывая, что оба гена координируют процессы транспорта МТ, мы предположили возможность взаимного влияния вариантов *RFC-1* 80G>A

и *MDR1* C3435 на исходы терапии и проанализировали их межгенные взаимодействия. Данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

Частота встречаемости генотипических комбинаций SNP *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T в группах больных РА «неответчиков» и «ответчиков» на терапию МТ

SNP <i>RFC-1</i> 80G>A + <i>MDR1</i> C3435T	«неответчики» (n = 24)		«ответчики» (n = 61)		p	OR (95 % CI)
	n	%	n	%		
Генотипы						
<i>RFC-1</i> 80AA+ <i>MDR1</i> 3435CT	1	4,2	6	9,8	0,667	0,39 (0,05 — 3,49)
<i>RFC-1</i> 80AA+ <i>MDR1</i> 3435TT	—	—	5	8,2	—	—
<i>RFC-1</i> 80AA+ <i>MDR1</i> 3435CC	—	—	2	3,3	—	—
<i>RFC-1</i> 80AG+ <i>MDR1</i> 3435CT	3	12,5	25	40,9	0,019*	0,2 (0,05—0,76)
<i>RFC-1</i> 80AG+ <i>MDR1</i> 3435TT	6	25	4	6,6	0,027*	4,7 (1,2—18,7)
<i>RFC-1</i> 80AG+ <i>MDR1</i> 3435CC	4	16,7	4	6,6	0,213	2,85 (0,65—12,5)
<i>RFC-1</i> 80GG+ <i>MDR1</i> 3435CT	5	20,8	7	11,5	0,442	2,03 (0,58—7,17)
<i>RFC-1</i> 80GG+ <i>MDR1</i> 3435TT	5	20,8	6	9,8	0,317	2,41 (0,66—8,82)
<i>RFC-1</i> 80GG+ <i>MDR1</i> 3435CC	—	—	2	3,3	—	—

*Примечание: различия статистически значимы, p<0,05

Анализ межгенных взаимодействий *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435T продемонстрировал, что комбинация гетерозиготных генотипов *RFC-1* 80AG+*MDR1* 3435CT достоверно (OR = 0,2; 95 % CI 0,05—0,76; p = 0,019) чаще встречается у пациентов с эффективностью МТ, а у больных с резистентностью к лечению, достоверно практически в 5 раз (OR = 4,7; 95 % CI 1,2—18,7; p = 0,027) преобладает частота встречаемости комбинации генотипов *RFC-1* 80AG + *MDR1* 3435TT. На этом основании, мы пришли к выводу, что эффективность терапии МТ у больных РА детерминирована не столько изолированными мутациями генов транспортеров *RFC-1* и *MDR1*, сколько их межгенными ассоциациями, что позволяет нам рассматривать комбинацию генотипов *RFC-1* 80AG + *MDR1* 3435TT как генетический предиктор терапевтической резистентности к МТ, а комбинацию *RFC-1* 80AG+ *MDR1* 3435CT — как маркер прогностически неблагоприятный в отношении ее развития.

Судя по литературным данным последнего десятилетия, исследователи разных стран заинтересованы поиском генетических предикторов эффективности МТ при РА среди целого ряда генов фолатного цикла. Однонуклеотидные полиморфизмы транспортеров *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435 не только не остались без внимания, но и возможно стали наиболее изучаемыми мутациями для оценки прогноза терапии. Неоднородность накопленных данных, обусловленная в основном популяционными различиями, не позволяет однозначно

сделать вывод об ассоциации эффективности МТ с вышеуказанными полиморфизмами. Так, в части работ, выполненных на индийской, иранской и алжирской популяциях, не обнаружено взаимосвязи мутаций *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435 с эффективностью МТ, но получены выводы о роли генотипов *RFC-1* 80GG и *MDR1* 3435CT в развитии гастроинтестинальных побочных эффектов [18; 23—25]. Ряд европейских авторов также демонстрируют отсутствие корреляции эффективности лечения МТ с SNP *RFC-1* 80G>A, при этом обсуждается превалирование токсичности у гомозигот *RFC-1* 80AA [15]. Полученные нами данные, о вероятной протективной роли генотипа *RFC-1* 80AA в развитии резистентности к МТ совпадают с результатами некоторых работ на китайской и европейской популяциях [26; 14]. В свою очередь выводы по предположительной роли аллеля *MDR1* 3435T в развитии резистентности к МТ коррелируют с результатами исследований на популяции японцев [27]. В то же время у египтян неэффективность МТ, напротив, ассоциировалось с носительством аллеля *MDR1* 3435C [28]. Говоря о прогностической роли генотипических комбинаций транспортеров *RFC-1* 80G>A и *MDR1* C3435, хочется отметить отсутствие таких данных в литературе. Таким образом, результаты, полученные нами о большей прогностической значимости сочетанных мутаций обоих транспортеров МТ, являются новыми, перспективными и требуют дальнейшего изучения и подтверждения.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

Список источников

1. Насонов Е. Л. Проблемы иммунопатологии ревматоидного артрита: эволюция болезни // *Научно-практическая ревматология*. 2017. Т. 55, № 3. С. 277—294. doi: 10.14412/1995-4484-2017-277-294.
2. Галушко Е. А., Насонов Е. Л. Распространенность ревматических заболеваний в России // *Альманах клинической медицины*. 2018. Т. 46, № 1. С. 32—39.
3. Зинчук И. Ю., Амирджанова В. Н. Социальное бремя ревматоидного артрита // *Научно-практическая ревматология*. 2014. Т. 52, № 3. С. 331—335.
4. Насонов Е. Л. Метотрексат при ревматоидном артрите — 2015: новые факты и идеи // *Научно-практическая ревматология*. 2015. Т. 53, № 4. С. 421—433.
5. Ревматология. Российские клинические рекомендации / под ред. Е. Л. Насонова. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 456 с.
6. Halilova K. I., Brown E. E., Morgan S. L. et al. Markers of treatment response to methotrexate in rheumatoid arthritis: where do we stand? // *Int. J. Rheumatol.* 2012. Vol. 2012. Pp. 1155—1162. doi: 10.1155/2012/978396.
7. Сычев Д. А., Муслимова О. В., Гаврисюк Е. В., и др. Фармакогенетические технологии персонализированной медицины: оптимизация применения лекарственных средств // *Terra medica*. 2011. Т. 64, № 1. С. 4—9.
8. Rangannathan P., McLeod H. Methotrexate pharmacogenetics. The first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* 2006. Vol. 54, № 5. Pp. 1366—1377. doi: 10.1002/art.21762.
9. Owen S. A., Hider S. L., Martin P. et al. Genetic polymorphisms in key methotrexate pathway genes are associated with response to treatment in rheumatoid arthritis patients // *Pharmacogenomics J.* 2013. Vol. 13 (3). Pp. 227—234. doi: 10.1038/tpj.2012.7.
10. Davis L. A., Polk B., Mann A. et al. Folic acid pathway single nucleotide polymorphisms associated with methotrexate significant adverse events in United States veterans with rheumatoid arthritis // *Clin. Exp. Rheumatol.* 2014. Vol. 32, № 3. Pp. 324—332.
11. Hashiguchi M., Tsuru T., Miyawaki K. et al. Preliminary study for predicting better methotrexate efficacy in Japanese patients with rheumatoid arthritis // *J. Pharm. Health Care Sci.* 2016. Vol. 2, № 13. Pp. 2—7. DOI: 10.1186/s40780-016-0047-6.
12. Matherly L. H., Goldman D. I. Membrane transport of folates // *Vitam Horm.* 2003. № 66. Pp. 403—456. doi: 10.1016/s0083-6729(03)01012-4.
13. Dervieux T., Kremer J., Lein D. O. et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis // *Pharmacogenetics*. 2004. Vol. 14, № 11. Pp. 733—739. DOI: 10.1097/00008571-200411000-00004.
14. Drozdziak M., Rudas T., Pawlik A. et al. Reduced folate carrier-1 80G>A polymorphism affects methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis // *Pharmacogenomics J.* 2007. Vol. 7, № 6. Pp. 404—407. doi: 10.1038/sj.tpj.6500438.
15. Swierkot J., Slezak R., Karpinski P. et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCII genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis // *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2015. Vol. 125, № 3. Pp. 152—161. doi: 10.20452/pamw.2707.
16. Pawlik A., Wrzesniewska J., Fiedorowicz-Fabrycy I. et al. The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2004. Vol. 42, № 9. Pp. 496—503. doi: 10.5414/cpp42496.
17. Ameyaw M. M., Regateiro F., Li T. et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity // *Pharmacogenetics*. 2001. Vol. 11, № 3. Pp. 217—221. doi: 10.1097/00008571-200104000-00005.

18. Samara S., Irshaid Y., Mustafa K. Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2014. Vol. 5, № 2 (9). Pp. 746—755. doi: 10.5414/CP202098.
19. Aletaha D., Neogi T., Silman A. J. et al. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative // *Ann. Rheum. Dis.* 2010. Vol. 62, № 9. Pp. 2569—2581. doi: 10.1002/art.27584.
20. Dervieux T., Kremer J., Lein D. O. et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis // *Pharmacogenetics*. 2004. Vol. 14, № 11. Pp. 733—739. doi: 10.1097/00008571-200411000-00004.
21. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М. : МедиаСфера, 2006. 312 с.
22. Ревматология: национальное руководство / под ред. Е. Л. Насонова, В. А. Насоновой. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. 720 с.
23. Muralidharan N., Mariaselvam C. M., Mithun C. B., Negi V. S. Reduced folate carrier-1 80G > a gene polymorphism is not associated with methotrexate treatment response in South Indian Tamils with rheumatoid arthritis // *Clin Rheumatol.* 2016. Vol. 35, № 4. Pp. 879—885. doi: 10.1007/s10067-015-2917-y.
24. Muralidharan N., Antony P. T., Jain V. K., Mariaselvam C. M., Negi V. S. Multidrug resistance 1 (MDR1) 3435C>T gene polymorphism influences the clinical phenotype and methotrexate-induced adverse events in South Indian Tamil rheumatoid arthritis // *Eur J Clin Pharmacol.* 2015. Vol. 71, № 8. Pp. 959—965. doi: 10.1007/s00228-015-1885-0.
25. Boughrara W., Benzaoui A., Aberkane M. et al. No correlation between MTHFR c.677 C>T, MTHFR c.1298 A>C, and ABCB1 c.3435 C>T polymorphisms and methotrexate therapeutic outcome of rheumatoid arthritis in West Algerian population // *Inflamm Res.* 2017. Vol. 66, № 6. Pp. 505—513. doi: 10.1007/s00011-017-1034-6.
26. Wang S., Zuo S., Liu Z., Ji X., Yao Z., Wang X. Association of MTHFR and RFC1 gene polymorphisms with methotrexate efficacy and toxicity in Chinese Han patients with rheumatoid arthritis // *J Int Med Res.* 2020. Vol. 48, № 2. doi: 10.1177/0300060519879588.
27. Takatori R., Takahashi K. A., Tokunaga D. et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients // *Clin Exp Rheumatol.* 2006. Vol. 24, № 5. Pp. 546—554. PMID: 17181924.
28. Shahira Fathy El Fedawy, Abeer Shehab, Rania A. Abo-Shady et al. The Influence of the MDR1 C3435T Polymorphism on Methotrexate Responsiveness in Rheumatoid Arthritis Patients // *Egypt. J. Hosp. Med.* 2020. Vol. 80, № 2. Pp. 857—864. doi: 10.12816/EJHM.2020.98917.

References

1. Nasonov EL. Problems of rheumatoid arthritis immunopathology: evolution of the disease. *Rheumatology Science and Practice*. 2017;55(3):277-294. (In Russ.). doi: 10.14412/1995-4484-2017-277-294.
2. Galushko EA., Nasonov EL. Prevalence of rheumatic diseases in Russia. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(1):32-39. (In Russ.). doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39.
3. Zinchuk IY., Amirdzhanova VN. Social burden of rheumatoid arthritis. *Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(3):331-335. (In Russ.). doi: 10.14412/1995-4484-2014-331-335.
4. Nasonov EL. Methotrexate in rheumatoid arthritis — 2015: new facts and ideas. *Rheumatology Science and Practice*. 2015;53(4):421-433. (In Russ.). doi: 10.14412/1995-4484-2015-421-433.
5. Nasonov EL (ed.). Rheumatology. Russian clinical guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. 456 p. (In Russ.).
6. Halilova KI, Brown EE, Morgan SL et al. Markers of treatment response to methotrexate in rheumatoid arthritis: where do we stand? *Int. J. Rheumatol.* 2012;2012:1155-1162. doi: 10.1155/2012/978396.
7. Sychev DA, Muslimova OV, Gavrisyuk YeV. Pharmacogenetic technologies of personalized medicine: value for drug therapy optimisation. *Terra medica*. 2011;64(1):4-9. (In Russ.).
8. Rangannathan P, McLeod H. Methotrexate pharmacogenetics. The first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(5):1366-1377. doi: 10.1002/art.21762/
9. Owen SA, Hider SL, Martin P. et al. Genetic polymorphisms in key methotrexate pathway genes are associated with response to treatment in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(3):227-234. doi: 10.1038/tpj.2012.7.

10. Davis LA, Polk B, Mann A. et al. Folic acid pathway single nucleotide polymorphisms associated with methotrexate significant adverse events in United States veterans with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2014;32(3):324-332.
11. Hashiguchi M, Tsuru T, Miyawaki K. et al. Preliminary study for predicting better methotrexate efficacy in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *J. Pharm. Health Care Sci.* 2016;2(13):2-7. doi: 10.1186/s40780-016-0047-6.
12. Matherly LH, Goldman DI. Membrane transport of folates. *Vitam Horm.* 2003;66:403-56. doi: 10.1016/s0083-6729(03)01012-4.
13. Dervieux T, Kremer J, Lein DO. et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics.* 2004;14(11):733-739. doi: 10.1097/00008571-200411000-00004.
14. Drozdziak M, Rudas T, Pawlik A. et al. Reduced folate carrier-1 80G>A polymorphism affects methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J.* 2007;7(6):404-407. doi: 10.1038/sj.tpj.6500438.
15. Swierkot J, Slezak R, Karpinski P. et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCII genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2015;125(3):152-161. doi: 10.20452/pamw.2707.
16. Pawlik A, Wrzesniewska J, Fiedorowicz-Fabrycy I et al. The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2004;42(9):496-503. doi: 10.5414/cpp42496
17. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T. et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics.* 2001;11(3):217-221. doi: 10.1097/00008571-200104000-00005
18. Samara S, Irshaid Y, Mustafa K. Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2014;52(9):746-755. doi: 10.5414/CP202098.
19. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann. Rheum. Dis.* 2010;62(9):2569-2581. doi: 10.1002/art.27584
20. Dervieux T, Kremer J, Lein DO. et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics.* 2004;14(11):733-739. doi: 10.1097/00008571-200411000-00004.
21. Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application package application STATISTICA. 3rd ed. Moscow: MediaSfera; 2006. 312 p. (In Russ.).
22. Nasonov EL, Nasonova VA (eds.) Rheumatology: national leadership. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. 720 p. (In Russ.).
23. Muralidharan N, Mariaselvam CM, Mithun CB, Negi VS. Reduced folate carrier-1 80G > a gene polymorphism is not associated with methotrexate treatment response in South Indian Tamils with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2016;35(4):879-85. doi: 10.1007/s10067-015-2917-y.
24. Muralidharan N, Antony PT, Jain VK, Mariaselvam CM, Negi VS. Multidrug resistance 1 (MDR1) 3435C>T gene polymorphism influences the clinical phenotype and methotrexate-induced adverse events in South Indian Tamil rheumatoid arthritis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015;71(8):959-65. doi: 10.1007/s00228-015-1885-0.
25. Boughrara W, Benzaoui A, Aberkane M. et al. No correlation between MTHFR c.677 C>T, MTHFR c.1298 A>C, and ABCB1 c.3435 C>T polymorphisms and methotrexate therapeutic outcome of rheumatoid arthritis in West Algerian population. *Inflamm Res.* 2017;66(6):505-513. doi: 10.1007/s00011-017-1034-6.
26. Wang S, Zuo S, Liu Z, Ji X, Yao Z, Wang X. Association of MTHFR and RFC1 gene polymorphisms with methotrexate efficacy and toxicity in Chinese Han patients with rheumatoid arthritis. *J Int Med Res.* 2020;48(2). doi: 10.1177/0300060519879588.
27. Takatori R, Takahashi KA, Tokunaga D. et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(5):546-554. PMID: 17181924.
28. Shahira Fathy El Fedawy, Abeer Shehab, Rania A. Abo-Shady et al. The Influence of the MDR1 C3435T Polymorphism on Methotrexate Responsiveness in Rheumatoid Arthritis Patients. *Egypt. J. Hosp. Med.* 2020;80(2):857-864. doi: 10.12816/EJHM.2020.98917.

Информация об авторах

И. В. Девальд — кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии института дополнительного профессионального образования (Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации); доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии (Челябинский государственный университет).

Е. А. Ходус — старший лаборант лаборатории учебных дисциплин кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии.

Е. Б. Хромова — кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии.

Д. С. Сташкевич — кандидат биологических наук, декан биологического факультета.

А. Л. Бурмистрова — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии.

Г. Л. Игнатова — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии института дополнительного профессионального образования.

Information about the authors

Inessa V. Devald — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department for Therapy of the Institute of Additional Professional Education (South Ural State Medical University); Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology (Chelyabinsk State University).

Elena A. Khodus — Senior laboratory assistant at laboratories of educational disciplines of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology.

Elena B. Khromova — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology.

Darya S. Stashkevich — Candidate of Biological Sciences, Dean of the Faculty of Biology.

Alexandra L. Burmistrova — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology.

Galina L. Ignatova — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department for Therapy of the Institute of Additional Professional Education.

Статья поступила в редакцию 05.09.2022.

Принята к публикации 20.11.2022.

The article was submitted 05.09.2022.

Accepted for publication 20.11.2022.

Вклад авторов: авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.