



Влияние полиморфизмов генов *ATIC*, *ADA*, *ITPA*, *AMPD1* на эффективность метотрексата при ревматоидном артрите

© Девальд И. В.¹, Ходус Е. А.², Мысливцова К. Ю.², Хромова Е. Б.³, Игнатова Г. Л.¹,
Ли́ла А. М.^{4,5}, Сташкевич Д. С.⁶

¹ — ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Российская Федерация

² — ООО «Клиника профессора Кинзерского», Челябинск, Российская Федерация

³ — ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой», Москва, Российская Федерация

⁵ — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, Москва, Российская Федерация

⁶ — ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Метотрексат (МТ) является самым назначаемым базисным противовоспалительным препаратом (БПВП) для лечения ревматоидного артрита (РА). Причиной отмены препарата большей частью служит его неэффективность, которую определяют генетические особенности пациентов. Прогнозирование ответа на МТ остаётся актуальной задачей для практической медицины.

Цель. Оценить влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов *ATIC*, *AMPD1*, *ADA* и *ITPA* на эффективность МТ при РА.

Материалы и методы. В исследуемую группу вошли пациенты с достоверным диагнозом РА, получавшие МТ. Через 6 месяцев терапии проводился мониторинг эффективности по динамике индекса DAS28 (Disease Activity Score). Генотипирование полиморфизмов rs2372536 (C347G), rs244076 (T>C), rs17602729 (C34T) и rs1127354 (C94A) выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Проведён анализ частот распределения аллелей и генотипов полиморфизмов у пациентов с разной эффективностью МТ. Для оценки достоверности (*p*) различий применяли χ^2 . Сила ассоциации признаков оценивалась по показателю отношения шансов (OR).

Результаты. У ответчиков преобладал аллель С полиморфизма *ATIC* rs2372536: 230 (68 %) против аллеля G 110 (32 %) (*p* = 0,073, OR [95 % CI] 0,7 [0,5; 1,0] на уровне тенденции. Частота встречаемости генотипа CC *ATIC* rs2372536 достоверно выше у ответчиков — 80 (47 %), чем у неответчиков — 41 (33 %) (*p* = 0,016, OR = 0,6 [0,3; 0,9]). При этом генотип CG достоверно преобладал у неответчиков — 68 (55 %) над ответчиками — 70 (41 %) (*p* = 0,021, OR = 1,7 [1,09; 2,8]). Генотип TC полиморфизма *ADA* rs244076 встречался чаще на уровне тенденции у неответчиков — 33 (27 %) против 33 (18 %) — у ответчиков (*p* = 0,064, OR = 1,7 [0,9; 2,9]). Разницы в распределении генотипов и аллелей полиморфизмов *ITPA* rs1127354, *AMPD1* rs17602729 среди ответчиков и неответчиков не было. Генотип CG полиморфизма *ATIC* rs2372536 связан с ответом на МТ в кодоминантной и сверхдоминантной моделях наследования: CG против GG, *p* = 0,042, OR = 1,9 [1,15; 3,13]; CG против CC+GG, *p* = 0,02, OR = 1,73 [1,09; 2,77], соответственно. В доминантной модели у ответчиков преобладали генотипы CG+GG против CC: *p* = 0,016, OR = 1,80 [1,11; 2,91]. Наиболее значимой, имеющей наименьшее значение информационного критерия Акаике — 398,5, является доминантная модель наследования. Данные указывают на тенденцию к более высокой частоте генотипа TC полиморфизма *ADA* rs244076 у ответчиков сверхдоминантной модели: TC против TT+CC, *p* = 0,066, OR = 1,69 [0,97; 2,96].

Заключение. Эффективность МТ связана с полиморфизмами *ATIC* rs2372536 и *ADA* rs244076. Однонуклеотидные полиморфизмы *ITPA* rs1127354, *AMPD1* rs17602729 не вносят самостоятельного вклада в терапевтическую эффективность МТ у больных РА. Доминантная модель наследования гена *ATIC* rs2372536 является наиболее значимой для прогноза эффективности терапии МТ при РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; метотрексат; полиморфизмы; *ATIC*; *AMPD1*; *ADA*; *ITPA*

Для цитирования:

Девальд И. В., Ходус Е. А., Мысливцова К. Ю., Хромова Е. Б., Игнатова Г. Л., Ли́ла А. М., Сташкевич Д. С. Влияние полиморфизмов генов *ATIC*, *ADA*, *ITPA*, *AMPD1* на эффективность метотрексата при ревматоидном артрите. *Фармакогенетика и фармакогеномика*. 2024;(1):4–13. <https://doi.org/10.37489/2588-0527-2024-1-4-13>. EDN: KCZHLK

Поступила: 25.02.2024. В доработанном виде: 06.03.2024. Принята к печати: 24.03.2024. Опубликовано: 15.05.2024.

Effect of *ATIC*, *ADA*, *ITPA*, and *AMPD1* gene polymorphisms on the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis

© Inessa V. Devald¹, Elena A. Khodus², Kristina Y. Myslivtsova², Elena B. Khromova³, Galina L. Ignatova¹, Alexander M. Lila^{4,5}, Darya S. Stashkevich⁶

¹ — FSBEI HE "South-Ural State Medical University" MOH Russia, Chelyabinsk, Russian Federation

² — Professor Kinzersky Clinic LLC, Chelyabinsk, Russian Federation

³ — Russian research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation

⁴ — FSBSI "V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology", Moscow, Russian Federation

⁵ — FSBEI FPE "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education" MOH Russian, Moscow, Russian Federation

⁶ — Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract

Relevance. Methotrexate (MT) is the most prescribed baseline anti-inflammatory drug for the treatment of rheumatoid arthritis (RA). The reason for withdrawal of the drug is mostly because of its ineffectiveness, which is determined by the genetic characteristics of patients. Predicting the response to MT remains an urgent task in practical medicine.

Objective. To evaluate the influence of single-nucleotide polymorphisms of *ATIC*, *AMPD1*, *ADA* and *ITPA* genes on MT efficacy in RA.

Materials and methods. The study group included patients with a reliable diagnosis of RA who received MT. After 6 months of therapy, the efficacy was monitored by the dynamics of the DAS28 index (Disease Activity Score). Genotyping of polymorphisms rs2372536 (C347G), rs244076 (T>C), rs17602729 (C347T), and rs1127354 (C94A) was performed by real-time polymerase chain reaction. Allele and genotype distribution frequencies of polymorphisms in patients with different MT efficacy levels were analyzed. To assess the reliability (p) of differences, χ^2 was used. The strength of association of traits was evaluated by the odds ratio (OR).

Results. The C allele of the *ATIC* rs2372536 polymorphism was predominant in responders: 230 (68 %) versus the G allele 110 (32 %) ($p = 0.073$, OR [95% CI] 0.7 [0.5; 1.0] at the trend level. The frequency of occurrence of the CC genotype of *ATIC* rs2372536 was significantly higher in responders 80 (47%) than in non-responders 41 (33 %) ($p = 0.016$, OR = 0.6 [0.3; 0.9]). At the same time, the CG genotype was significantly more prevalent in non-responders 68 (55 %) than in responders 70 (41%) ($p = 0.021$, OR = 1.7 [1.09; 2.8]). The TC genotype of the *ADA* rs244076 polymorphism was more frequent at the trend level in non-responders 33 (27 %) versus 33 (18 %) in responders ($p = 0.064$, OR = 1.7 [0.9; 2.9]). There was no difference in the genotype and allele distribution of *ITPA* rs1127354 and *AMPD1* rs 17602729 polymorphisms between responders and non-responders. The CG genotype of the *ATIC* rs2372536 polymorphism was associated with the response to MT in codominant and superdominant inheritance models: CG vs. GG, $p = 0.042$, OR = 1.9 [1.15; 3.13]; CG vs. CC + GG, $p = 0.02$, OR = 1.73 [1.09; 2.77], respectively. In the dominant model, CG + GG vs. CC genotypes were predominant in responders: $p = 0.016$, OR = 1.80 [1.11; 2.91]. The dominant model of inheritance was the most significant, with the lowest Akaike information criterion value of 398.5. The data indicate a trend toward a higher frequency of the TC genotype of the *ADA* rs244076 polymorphism in responders in the super dominant model: TC vs. TT + CC, $p = 0.066$, OR = 1.69 [0.97; 2.96].

Conclusion. MT efficacy is associated with *ATIC* rs2372536 and *ADA* rs 244076 polymorphisms. Single-nucleotide polymorphisms *ITPA* rs1127354 and *AMPD1* rs17602729 do not independently contribute to the therapeutic efficacy of MT in patients with RA. The dominant inheritance pattern of the *ATIC* rs2372536 gene is the most significant for predicting the efficacy of MT therapy in RA.

Keywords: rheumatoid arthritis; methotrexate; gen polymorphisms; *ATIC*; *AMPD1*; *ADA*; *ITPA*

For citations:

Devald IV, Khodus EA, Myslivtsova KY, Khromova EB, Ignatova GL, Lila AM, Stashkevich DS. Effect of *ATIC*, *ADA*, *ITPA*, and *AMPD1* gene polymorphisms on the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Farmakogenetika i farmakogenomika = Pharmacogenetics and pharmacogenomics*. 2024;(1):4–13. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2588-0527-2024-1-4-13>. EDN: KCZHLK

Received: 25.02.2024. **Revision received:** 06.03.2024. **Accepted:** 24.03.2024. **Published:** 15.05.2024.

Введение / Introduction

Ревматоидный артрит (РА) — «иммуновоспалительное (аутоиммунное) ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом и системным поражением внутренних органов, приводящее к ранней инвалидности и сокращению продолжительности жизни пациентов [1]. Метотрексат (МТ) является самым назначаемым базисным противовоспалительным препаратом (БПВП) для лечения РА [2] и обладает разными механизмами действия. Эффект высоких доз МТ реализуется «фолатным» путём, длительное время считавшимся единственным. Его активация ведёт к антипролиферативному действию, что нашло отражение в лечении онкологических заболеваний. Низкие дозы МТ способствуют высвобождению аденозина («аденозиновый» путь), обладающего мощным противовоспалительным механизмом. Запускаемый МТ аденозиновый эффект считается основным в лечении большинства ревматических заболеваний, включая РА [3].

Однако не во всех случаях лечения МТ удаётся достичь ремиссии РА, и причиной отмены большей частью служит его неэффективность, в т. ч. из-за генетических изменений белков-регуляторов биотрансформации лекарственного средства [4, 5]. Однонукле-

отидные полиморфизмы в генах *ATIC*, *AMPD1*, *ADA* и *ITPA*, кодирующие ферменты аденозинового пути, изменяя фармакодинамику МТ, приводят к индивидуализированному ответу на лечение.

Цель исследования / Objective: оценить влияние одонуклеотидных полиморфизмов генов *ATIC*, *AMPD1*, *ADA* и *ITPA* на эффективность МТ при РА.

Материалы и методы / Materials and methods

Исследование проводилось в 2013–2022 гг. и было одобрено локальным этическим комитетом МБУЗ ОТКЗ Городской клинической больницы № 1 г. Челябинска и клиники профессора Кинзерского А.Ю. В исследование было включено 294 пациента с диагнозом РА. Отбор больных проводился в соответствии с критериями включения и исключения.

Критерии включения: достоверный диагноз РА, установленный в соответствии с классификационными диагностическими критериями (ACR/EULAR 2010 г.); наличие информированного согласия пациента на участие в исследовании; «Наивный» пациент по терапии БПВП или лечение МТ в качестве первого БПВП в анамнезе.

Критерии исключения: онкологические, гематологические, хронические инфекционные и аутоиммунные

заболевания пациента; приём лекарственных препаратов, оказывающих влияние на фармакокинетику и/или фармакодинамику МТ.

Средний возраст пациентов составил 53,8 года, со средним дебюта РА в 46,7 лет. В выборке преобладали женщины — 83,7 % над мужчинами — 16,3 %. Большинство пациентов имели серологические маркеры РА: 81,3 % — ревматоидный фактор (РФ) и 71,8 % — антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП). Преобладающее большинство на старте терапии имели умеренную (48,3 %) и высокую (45,9 %) степень активности РА. Различные системные проявления зарегистрированы в 17,3 % случаев, большая часть представлена ревматоидными узелками 11,6 %. Более полно характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика больных РА, $n = 294$

Table 1

Characteristics of RA patients, $n = 294$

Пол: женщины/мужчины, n (%)	246 (83,7)/48 (16,3)
Средний возраст, лет	53,8±19,1
Средний возраст начала заболевания, лет	46,7 ± 16,5
Рентгенологическая стадия, n (%):	
0	25 (8,5)
I	86 (29,3)
II	102 (34,7)
III	48 (16,3)
IV	33 (11,2)
Ревматоидный фактор, n (%):	
обнаружен	239 (81,3)
не обнаружен	55 (18,7)
АЦЦП, n (%):	
обнаружены	211 (71,8)
не обнаружены	47 (16,0)
не определялись	36 (12,2)
Активность болезни по индексу DAS28, n (%):	
низкая DAS28≤3,2	17 (5,8)
умеренная 3,2<DAS28≤5,1	142 (48,3)
высокая DAS28>5,1	135 (45,9)
Системные проявления, n (%):	
всего	51 (17,3)
из них ревматоидные узелки	34 (11,6)

Терапия МТ инициирована в дозе 10 мг с эскалацией до 25 мг в неделю. У части пациентов терапия МТ была инициирована ранее, в таких случаях анализ заболевания, ответ на терапию осуществлялся на основании данных амбулаторной карты и собранного анамнеза. Оценка эффективности терапии проводилась по динамике индекса DAS28 (Disease Activity Score) через 6 месяцев от начала терапии. Эффект учитывался как хороший, когда индекс снижался более чем на 1,2 балла с конечным значением 3,2 и

меньше. Если разница значений DAS28 составляла менее 0,6 баллов, то регистрировали отсутствие эффекта от лечения. Соответственно результатам были сформированы две группы: ответчики и неответчики на терапию МТ.

Выбор полиморфизмов-кандидатов проводился на основе их участия в аденозиновом пути метаболизма МТ, публикаций и базы данных Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) [6]. Полиморфизм должен был иметь значимые результаты в ассоциации с эффективностью МТ, о которых сообщалось в базе данных PubMed [7]; публикациях представленных в открытом доступе в публичных базах данных: dbSNP [6] или PharmGKB [8]. Предполагаемая частота минорного аллеля каждого из полиморфизмов в популяции составляла не менее 5 %. На территории Российской Федерации выбранные полиморфизмы не изучались. В качестве мишеней были выбраны однонуклеотидные полиморфизмы генов, кодирующих ферменты: 5-amino imidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase (ATIC) — rs2372536 (C347G), adenosine deaminase (ADA) — rs244076 (T>C), adenosine monophosphate deaminase 1 (AMPD1) — rs17602729 (C34T) и inosine triphosphatase (ITPA) — rs1127354 (C94A).

Молекулярно-генетические исследования проводились на базе отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». В качестве материала для исследования использовали геномную ДНК, которую выделяли из периферической венозной крови с помощью наборов реагентов «Protrans DNA Box 500» (Германия). Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции с помощью наборов реагентов производства ООО «ТестГен», согласно инструкции производителя. Формат наборов — FLASH-детекция. Амплификацию проводили на приборах Quant Studio (Applied Biosystems), для анализа результатов использовали программное обеспечение Quant Studio Designand Analysis Soft ware v.1.5.2.

Статистическая обработка результатов / Statistical processing of the results

Статистический анализ проведён с применением программ Statistica 10.0 для Windows (Stat Soft Inc, США) и программы MS Excel пакета MS Office (Microsoft Corporation, США). Для оценки достоверности (p) различий применяли χ^2 Пирсона для четырёхпольных 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 расчётом 95 % доверительного интервала (95 % Confidence Interval — 95 % CI) [9]. С помощью программы SNP Stats (открытый доступ <http://bioinfo.iconcologia.net/SNPst/SNPst>.) проведена оценка отклонения частот

наблюдаемого и ожидаемого генотипов от распределения Харди–Вайнберга, а также анализ моделей наследования, наиболее соответствующих полученным результатам (кодоминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная или лог-аддитивная) с использованием информационного критерия Акаике (Akaike information criterion — AIC). Предпочтение отдавалось моделям с наименьшими значениями AIC, указывающими на хорошее соответствие данных при использовании меньшего числа параметров.

Результаты / Results

После оценки эффективности МТ пациенты разделены на группы ответчиков — 170 (57,8 %) человек и неответчиков — 124 (42,2 %) пациента. Распределение генотипов соответствовало закону Харди–Вайнберга для европейской популяции (для *ATIC* rs2372536 $p = 0,7$; для *ADA* rs244076 $p = 0,2$; для *AMPDI* rs17602729 $p = 0,5$; для *ITPA* rs1127354 $p = 0,41$). Достоверных различий в частоте полиморфизмов между популяцией пациентов с РА, принимающих МТ, и представителями других популяций обнаружено не было, что говорит об отсутствии взаимосвязи между заболеваемостью и наличием изучаемых полиморфизмов.

Первым этапом оценки влияния однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих ферменты аденозинового пути на эффективность терапии МТ, был подсчёт частот аллелей и генотипов. Результаты распределения представлены в табл. 2.

У ответчиков преобладал аллель С полиморфизма *ATIC* rs2372536: 230 (68 %) против аллеля G 110 (32 %) ($p = 0,073$, OR [95% CI] 0,7 [0,5; 1,0] на уровне тенденции. Частота встречаемости генотипа CC *ATIC* rs2372536 оказалась достоверно выше у ответчиков — 80 (47 %), чем у неответчиков — 41 (33 %) ($p = 0,016$, $OR = 0,6$ [0,3; 0,9]). При этом генотип CG достоверно преобладал у неответчиков — 68 (55 %) над ответчиками — 70 (41 %) ($p = 0,021$, $OR = 1,7$ [1,09; 2,8]). Генотип TC полиморфизма *ADA* rs244076 встречался чаще на уровне тенденции у неответчиков — 33 (27 %) против 33 (18 %) — у ответчиков, $p = 0,064$, $OR = 1,7$ [0,9; 2,9]. Разницы в распределении генотипов и аллелей полиморфизмов *ITPA* rs1127354, *AMPDI* rs17602729, среди ответчиков и неответчиков на МТ не выявлено.

Следующим этапом было изучение механизмов генетической детерминации признаков у ответчиков и неответчиков на основании пяти моделей наследования (кодоминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная, лог-аддитивная). Каждая из этих моделей отражает различные варианты сравнения генотипов: отдельные сравнения гетерозиготного и вариантного гомозиготного с референтным гомозиготным (кодоминантная), объединённое сравнение гетерозиготного и вариантного гомозиготного с референтным гомозиготным (доминантная), объединённое сравнение гетерозиготного и референтного гомози-

готного с вариантным гомозиготным (рецессивная), объединённое сравнение двух гомозиготных генотипов с гетерозиготным (сверхдоминантная) и отдельные сравнения одного и двух вариантных аллелей с референтным (лог-аддитивная) [10].

Для каждой модели рассчитан AIC. Результаты представлены в табл. 3. Генотип CG полиморфизма *ATIC* rs2372536 связан с ответом на МТ в кодоминантной и сверхдоминантной моделях наследования: CG против GG, $p = 0,042$, $OR = 1,9$ [1,15; 3,13]; CG против CC+GG, $p = 0,02$, $OR = 1,73$ [1,09; 2,77], соответственно. В доминантной модели у ответчиков преобладали генотипы CG+GG против CC: $p = 0,016$, $OR = 1,80$ [1,11; 2,91]. Наиболее значимой, имеющей наименьшее значение информационного критерия Акаике — 398,5, является доминантная модель наследования. Данные указывают на тенденцию к более высокой частоте генотипа TC полиморфизма *ADA* rs244076 у ответчиков в сверхдоминантной модели: TC против TT+CC, $p = 0,066$, $OR = 1,69$ [0,97; 2,96]. Достоверных данных по моделям наследования для других полиморфизмов не получено. Кодоминантная модель свидетельствует, что каждый генотип может изменять риск независимо от остальных, это нашло отражение в вышеизложенных расчётах, где основной аллель С чаще проявляется у ответчиков, а аллель G у неответчиков. Доминантная модель предполагает, что для изменения риска достаточно хотя бы одного вариантного аллеля, что выявлено у неответчиков, где гетерозиготный генотип CG встречается чаще. При сверхдоминантной модели одновременное присутствие обоих аллелей изменяет риск в сравнении с двумя другими.

Таким образом, при анализе распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов среди ответчиков и неответчиков на МТ разница выявлена в двух полиморфизмах. У неответчиков достоверно чаще выявлялся генотип CG полиморфизма *ATIC* rs2372536; гетерозиготный генотип TC гена *ADA* rs244076 (на уровне тенденции). У ответчиков чаще встречался аллель С гена *ATIC* rs2372536 на уровне тенденции и достоверно генотип CC этого полиморфизма. Наиболее значимой моделью наследования *ATIC* rs2372536 выбрана доминантная (биологический смысл заключается в том, что для изменения риска достаточно хотя бы одного вариантного аллеля). В группах разного ответа на МТ различий среди полиморфизмов *ITPA* rs1127354 и *AMPDI* rs17602729 не выявлено.

Обсуждение / Discussion

Для лечения РА МТ назначается в малых дозах от 10 до 25 мг в неделю в пероральной и инъекционной формах. Попадая в кровеносное русло, МТ достаточно быстро выводится. Накопление МТ внутриклеточно происходит благодаря процессу полиглутамации, в результате которой происходит образование полиглутамированных форм препарата. Полиглутаматы МТ,

Таблица 2

Ассоциация аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов с терапевтическим ответом на МТ

Table 2

Association of alleles and genotypes of the studied polymorphisms with therapeutic response to MT

SNP	Неотвеччики <i>n</i> = 124		Отвеччики <i>n</i> = 170		<i>p</i>	<i>OR</i> [95 % CI]
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
AT1C SNP rs2372536 C>G						
Аллели						
C	150	61 %	230	68 %	0,073**	0,7 [0,5; 1,0]
G	98	39 %	110	32 %		
Генотипы						
CC	41	33 %	80	47 %	0,016*	0,6 [0,3; 0,9]
CG	68	55 %	70	41 %	0,021*	1,7 [1,09; 2,8]
GG	15	12 %	20	12 %	0,931	1,03 [0,5; 2,1]
ITPA SNP rs1127354 C>A						
Аллели						
C	227	92 %	314	92 %	0,717	0,9 [0,5; 1,6]
A	21	8 %	26	8 %		
Генотипы						
AA	1	1 %	2	1 %	0,617	0,7 [0,06; 7,6]
CA	19	15 %	22	13 %	0,561	1,2 [0,6; 2,9]
CC	104	84 %	146	86 %	0,633	0,9 [0,4; 1,6]
ADA SNP rs244076 T>C						
Аллели						
T	211	85 %	298	88 %	0,368	0,8 [0,5; 1,3]
C	37	15 %	42	12 %		
Генотипы						
TT	89	71 %	134	78 %	0,163	0,7 [0,4; 1,2]
TC	33	27 %	30	18 %	0,064**	1,7 [0,9; 2,9]
CC	2	2 %	6	4 %	0,475	0,4 [0,08; 2,3]
AMPD1 SNP rs17602729 C>T						
Аллели						
C	209	84 %	290	85 %	0,733	0.9 [0.6;1.4]
T	39	16 %	50	15 %		
Генотипы						
CC	89	72 %	124	73 %	0,825	0,9 [0,5; 1,6]
CT	31	25 %	42	25 %	0,954	1,02 [0,6; 1,7]
TT	4	3 %	4	2 %	0,725	1,1 [0,3; 5,6]
Примечания: * — различия статистически значимы $p \leq 0,05$; ** — различия находятся на уровне тенденции $0,05 \leq p \leq 0,1$.						
Notes: * — the differences are statistically significant $p \leq 0,05$; ** — the differences are at the trend level of $0.05 \leq p \leq 0.1$.						

Таблица 3

Модели наследования изучаемых полиморфизмов

Table 3

Inheritance models of the studied polymorphisms

Модель	Генотип	Ответчики	Неответчики	OR [95% CI]	p	AIC
ATICrs2372536						
Кодоминантная	C/C	80 (47,1 %)	41 (33,1 %)	1,00	0,042	400
	C/G	70 (41,2 %)	68 (54,8 %)	1,90 [1,15; 3,13]		
	G/G	20 (11,8 %)	15 (12,1 %)	1,46 [0,68; 3,15]		
Доминантная	C/C	80 (47,1 %)	41 (33,1 %)	1,00	0,016	398,5
	C/G -G/G	90 (52,9 %)	83 (66,9 %)	1,80 [1,11; 2,91]		
Рецессивная	C/C-C/G	150 (88,2 %)	109 (87,9 %)	1,00	0,93	404,3
	G/G	20 (11,8 %)	15 (12,1 %)	1,03 [0,51; 2,11]		
Сверхдоминантная	C/C-G/G	100 (58,8 %)	56 (45,2 %)	1,00	0,02	399
	C/G	70 (41,2 %)	68 (54,8 %)	1,73 [1,09; 2,77]		
Лог-аддитивная	—	—	—	1,38 [0,97; 1,96]	0,069	401
ITPA rs1127354						
Кодоминантная	C/C	146 (85,9 %)	104 (83,9 %)	1,00	0,81	405,9
	C/A	22 (12,9 %)	19 (15,3 %)	1,21 [0,62; 2,35]		
	A/A	2 (1,2 %)	1 (0,8 %)	0,70 [0,06; 7,84]		
Доминантная	C/C	146 (85,9 %)	104 (83,9 %)	1,00	0,63	404,1
	C/A-A/A	24 (14,1 %)	20 (16,1 %)	1,17 [0,61; 2,23]		
Рецессивная	C/C-C/A	168 (98,8 %)	123 (99,2 %)	1,00	0,75	404,2
	A/A	2 (1,2 %)	1 (0,8 %)	0,68 [0,06; 7,62]		
Сверхдоминантная	C/C-A/A	148 (87,1 %)	105 (84,7 %)	1,00	0,56	404
	C/A	22 (12,9 %)	19 (15,3 %)	1,22 [0,63; 2,36]		
Лог-аддитивная	—	—	—	1,11 [0,62; 1,99]	0,72	404,2
ADA rs244076						
Кодоминантная	T/T	134 (78,8 %)	89 (71,8 %)	1,00	0,13	402,2
	T/C	30 (17,6 %)	33 (26,6 %)	1,66 [0,94; 2,91]		
	C/C	6 (3,5 %)	2 (1,6 %)	0,50 [0,10; 2,54]		
Доминантная	T/T	134 (78,8 %)	89 (71,8 %)	1,00	0,16	402,2
	T/C-C/C	36 (21,2 %)	35 (28,2 %)	1,46 [0,86; 2,50]		
Рецессивная	T/T-T/C	164 (96,5 %)	122 (98,4 %)	1,00	0,3	402,3
	C/C	6 (3,5 %)	2 (1,6 %)	0,45 [0,09; 2,26]		
Сверхдоминантная	T/T-C/C	140 (82,3 %)	91 (73,4 %)	1,00	0,066	401
	T/C	30 (17,6 %)	33 (26,6 %)	1,69 [0,97; 2,96]		
Лог-аддитивная	—	—	—	1,22 [0,77; 1,94]	0,39	403,6
AMPD1 rs17602729						
Кодоминантная	C/C	124 (72,9 %)	89 (71,8 %)	1,00	0,9	406,1
	C/T	42 (24,7 %)	31 (25 %)	1,03 [0,60; 1,76]		
	T/T	4 (2,4 %)	4 (3,2 %)	1,39 [0,34; 5,72]		
Доминантная	C/C	124 (72,9 %)	89 (71,8 %)	1,00	0,83	404,3
	C/T-T/T	46 (27,1 %)	35 (28,2 %)	1,06 [0,63; 1,78]		
Рецессивная	C/C-C/T	166 (97,7 %)	120 (96,8 %)	1,00	0,65	404,1
	T/T	4 (2,4 %)	4 (3,2 %)	1,38 [0,34; 5,64]		
Сверхдоминантная	C/C-T/T	128 (75,3 %)	93 (75 %)	1,00	0,95	404,3
	C/T	42 (24,7 %)	31 (25 %)	1,02[0,59; 1,74]		
Лог-аддитивная	—	—	—	1,08 [0,69; 1,69]	0,74	404,2

являясь активными формами, ингибируют несколько ключевых ферментов, нарушая метаболизм фолиевой кислоты и снижая биосинтез пуринов и пиримидинов *de novo*, а также повышая высвобождение аденозина. Ведущим механизмом, объясняющим действие малых доз МТ, считается последний, называемый «аденозинный» (рис. 1).

Образование аденозина происходит как внутри, так и внеклеточно. Внутриклеточный аденозин блокирует фермент 5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотид трансформилазу (ATIC), что приводит к накоплению в клетке 5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотида (AICAR). Фермент AICAR блокирует ферменты аденозиндеаминазу (ADA), предотвращая распад аденозина, и аденозинмонофосфат деаминазу 1 (AMPD1), увеличивая его образование. Таким образом, ATIC является ключевым ферментом в регуляции уровня аденозина. Ещё одним ферментом, катализирующим образование аденозина через аденозинмонофосфат, является инозинтрифосфатаза (ITPA).

Аденозин относят к паракринной сигнальной молекуле, обладающей набором различных механизмов, приводящих к противовоспалительным эффектам [3].

Большая часть фармакогенетических исследований аденозинового пути действия МТ проводилась параллельно учёными разных стран после двухтысячных годов и включала одновременное изучение нескольких генов-кандидатов. Наиболее часто выявлялась связь с полиморфизмами гена *ATIC*. Одна из ранних ярких работ *Dervieux T и соавт.*, продолжавшаяся на протяжении нескольких лет, в 2009 году представлена в журнале «Pharmacogenetic and Genomics». На основании многофакторного анализа 14 полиморфизмов, включённых в исследование, выстроена лучшая модель прогноза эффективности МТ, включавшая полиморфизмы *ATIC* rs2372536, *ITPA* rs1127354 и *RFC-1* [11]. В 2016 году в журнале «Pharmacogenomics» группа крупных португальских исследователей во главе с *Lima A* опубликовала результаты работы на 233 пациентах с РА, включавшей 35 полиморфизмов

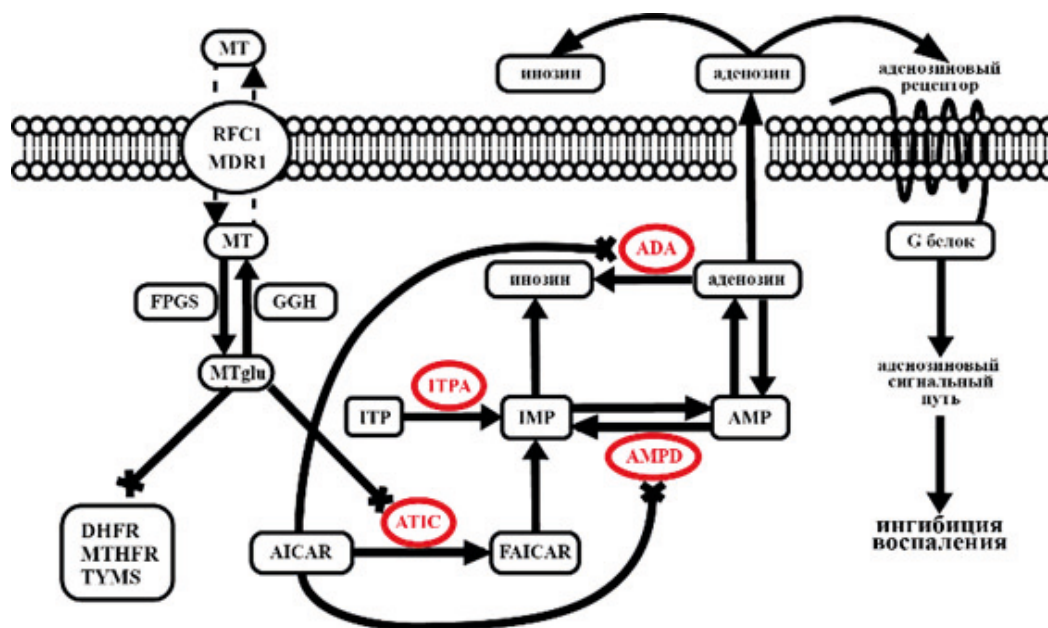


Рис. 1. Транспорт и метаболизм метотрексата (МТ) с акцентом на аденозиновый путь (адаптировано с изменениями из [3])

Fig. 1. Transport and metabolism of methotrexate (MT) with emphasis on the adenosine pathway (adapted with modifications from [3])

Примечание: Красным выделены ферменты, полиморфизмы генов которых изучали в текущем исследовании

Note: Enzymes whose gene polymorphisms were studied in the current study are highlighted in red

Транспорт МТ: внутриклеточный транспортёр RFC-1 (reduced folate carrier) — редуцированный носитель фолатов-1; внеклеточный транспортёр MDR1 (multidrug resistance gene) — белок множественной лекарственной резистентности. Полиглутамация: FPGS (folylpolyglutamate synthase) — фолилполиглутаматсинтаза, GGH (gamma-glutamyl hydrolase) — γ -глутамилгидролаза, MTglu — полиглутамированные формы метотрексата.

Фолиевый путь, синтез пуринов и пиримидинов: TYMS (thymidylate synthetase) — тимидилатсинтаза, DHFR (dihydrofolate reductase) — дегидрофолатредуктаза, MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) — метилентетрагидрофолатредуктаза.

Аденозиновый путь: ATIC (aminoimidazolecarboxamide ribonucleotide transformylase) — 5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотидтрансформилаза; ADA (adenosine deaminase) — аденозиндеаминаза, ITPA (inosine triphosphatase) — инозинтрифосфатаза, AMPD1 (adenosine monophosphate deaminase 1) — аденозинмонофосфат деаминаза 1; AICAR (aminoimidazolecarboxamide ribonucleotide) — 5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотид, FAICAR (formyl AICAR) — формил AICAR, AMP (adenosine monophosphate) — аденозин монофосфат, IMP (inosine monophosphate) — инозин монофосфат, ITP (inosine triphosphate) — инозин трифосфат

14 генов. Наибольшее число влияний выявлено для полиморфизмов гена *ATIC*, включая носителей аллеля *C* rs2372536, статистически достоверно показавших низкую активность заболевания при лечении МТ [12]. В этом же году польские учёные изучали влияние полиморфизмов трёх генов метаболизма МТ, выявив существенные различия только для генотипа *GG ATIC* rs2372536, который достоверно ассоциировался с хорошим ответом на лечение [13]. Одна из последних опубликованных работ 2021 года индийских коллег, изучавших аденозиновый путь, показала, что генотип *GG* rs2372536 гена *ATIC* и генотип *CC* rs1127354 *ITPA* ассоциировались с ответом на МТ. В бинарном логистическом регрессионном анализе эти генотипы были независимыми предикторами ответа на МТ [14]. Таким образом, в разных популяциях ответ на МТ был ассоциирован с носительством как аллеля *G*, так и *C* *ATIC* rs2372536.

Есть публикации, в которых другие полиморфизмы гена *ATIC* изменяли эффект МТ. Так, *Lee YC и соавт.* представили, что из всех изученных полиморфизмов, включая *ATIC* и *ITPA*, только генотип *TT* полиморфизма rs4673993 *ATIC* был связан с низкой активностью заболевания, при этом *ITPA* rs1127354 не продемонстрировал связи [15]. В работе английских исследователей также выявлена ассоциация с полиморфизмами гена *ATIC* (rs12995526, rs3821353, rs7563206 и rs16853834), но не с rs2372536. Тем не менее стоит обратить внимание на эту работу, т. к. одновременно было изучено большое число полиморфизмов (129) и всего 11 из них показали связь с эффективностью МТ, 4 из которых полиморфизмы гена *ATIC*. Обсуждая расхождения с другими исследователями, учёные предположили вклад нескольких вариантов внутри гена или разных паттернов одного причинного варианта [16]. В популяции японцев связи эффективности МТ с полиморфизмом *ATIC* rs2372536 также не выявлено [17].

Систематический обзор 2019 года включал 35 исследований, изучавших 39 полиморфизмов в 19 генах. Шесть генетических биомаркеров показали связь с эффективностью МТ, включая: *ATIC* rs7563206,

а также *SLC19A1* rs1051266; *DHFR* rs836788; *TYMS* rs2244500, rs2847153 и rs3786362 [18]. Этими же исследователями из Нидерландов была создана клинко-фармакогенетическая модель для использования ревматологами в повседневной клинической практике для прогноза неответа на МТ. Наряду с клиническими признаками, она включала полиморфизмы 4 генов: *MTHFR* rs17850560, *ATIC* rs2372536, *AMPD1* rs17602729 и *ITPA* rs1127354 [19] (последние три вошли и в нашу работу). Подобная попытка разработки комбинированной модели была предпринята и в 2018 году группой сербских и словенских учёных. Изучение проводилось в группах пациентов Словении и Сербии и включало клинические маркеры 34 полиморфизмов 6 генов-кандидатов, охватывающих весь путь метаболизма МТ: транспортёры, ферменты аденозинового и фолатного путей и аденозиновые рецепторы, включая *ATIC* rs2372536, *AMPD1* rs17602729; *ITPA* rs1127354 и отличный от исследуемого нами *ADA* rs73598374. Из этих полиморфизмов только *AMPD1* rs17602729 вошёл в разработанный фармакогенетический индекс ответа на МТ. Это исследование имело одну особенность: действие созданной модели на словенцах проверялось на сербских больных РА, но подтверждения не нашли [20].

Таким образом, во-первых, выбранные полиморфизмы текущего исследования являются точками изучения другими учёными; во-вторых, связь с ответом на МТ выбранных полиморфизмов аденозинового пути отличаются в популяциях, в-третьих, есть необходимость в изучении совместного влияния полиморфизмов на эффективность МТ при РА.

Выводы и заключение / Conclusions and conclusion

Эффективность МТ связана с полиморфизмами *ATIC* rs2372536 и *ADA* rs244076. Однонуклеотидные полиморфизмы *ITPA* rs1127354, *AMPD1* rs17602729 не вносят самостоятельного вклада в терапевтическую эффективность МТ у больных РА. Доминантная модель наследования гена *ATIC* rs2372536 является наиболее значимой для прогноза эффективности терапии МТ при РА.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы принимали в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Authors' participation

All the authors participated in the development of the concept and design of the study and in the writing of the manuscript. The final version of the manuscript was approved by all authors.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Funding

The study had no sponsorship. The authors are fully responsible for submitting the final version of the manuscript to the press.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Девальд Инесса Валерьевна

Автор, ответственный за переписку

к. м. н., доцент кафедры терапии ИДПО ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Российская Федерация
e-mail: inessa.devald@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

Ходус Елена Андреевна

к. м. н., врач ревматолог, ООО «Клиника профессора Кинзерского», Челябинск, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5520-9635>

Мысливцова Кристина Юрьевна

врач ревматолог, ООО «Клиника профессора Кинзерского», Челябинск, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8055-9207>

Хромова Елена Борисовна

к. б. н., руководитель регистра доноров ГСК ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5415-545X>

Игнатова Галина Львовна

д. м. н., профессор, заведующая кафедрой терапии ИДПО ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>

Лиля Александр Михайлович

д. м. н., член-корр. РАН, профессор, директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, Москва, Российская Федерация; заведующий кафедрой ревматологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>

Сташкевич Дарья Сергеевна

к. б. н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «ЧелГУ» Челябинск, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

ABOUT THE AUTHORS

Valentin A. Vavilin

Corresponding author

PhD, Cand. Sci. (Med), Associate professor of the Department of Therapy IDPP, FSBEI HE SUSMU MOH Russia, Chelyabinsk, Russian Federation
e-mail: inessa.devald@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

Elena A. Khodus

PhD, Cand. Sci. (Med), Rheumatologist, Professor Kinzersky Clinic LLC, Chelyabinsk, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5520-9635>

Kristina Y. Myslivtsova

Rheumatologist Professor Kinzersky Clinic LLC, Chelyabinsk, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8055-9207>

Elena B. Khromova

PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of the donor register Russian research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5415-545X>

Galina L. Ignatova

Professor, Head of the Department of Therapy IDPP, FSBEI HE SUSMU MOH Russia, Chelyabinsk, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>

Alexander M. Lila

PhD, Dr. Sci. (Med), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director FSBI V.A. Nasonova RIR, Moscow, Russian Federation; Head of the Department of Rheumatology FSBEI FRE RMACPE MOH Russia, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>

Darya S. Stashkevich

PhD, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Dean of the Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

Список литературы / References

1. Насонов Е.Л. Ревматология: Клинические рекомендации. 2-е изд. ГЭОТАР-Медиа; 2010. [Nasonov EL. Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii. 2-e izd. GEOTAR Media; 2010. (In Russ.)].
2. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis*. 2020 Jun;79(6):685-699. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216655.
3. Friedman B, Cronstein B. Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2019 May;86(3):301-307. doi: 10.1016/j.jbspin.2018.07.004.
4. Rezaei H, Saevardottir S, Forslind K, et al. In early rheumatoid arthritis, patients with a good initial response to methotrexate have excellent 2-year clinical outcomes, but radiological progression is not fully prevented: data from the methotrexate responders population in the SWEFOT trial. *Ann Rheum Dis*. 2012 Feb;71(2):186-91. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200038.
5. Сычев Д.А. Прикладная фармакогенетика: Монография. — М., Тверь: ООО "Издательство «Триада»; 2021. 496 с. [Sychev DA. Prikladnaya farmakogenetika: Monografiya. Moscow, Tver': OOO "Izdatel'stvo «Triada»; 2021. (In Russ.)].
6. Home - SNP - NCBI [Internet]. [cited 2023 Mar 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
7. PubMed [Internet]. [cited 2023 Mar 28]. PubMed. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
8. PharmGKB [Internet]. [cited 2023 Mar 28]. PharmGKB. Available from: <https://www.pharmgkb.org/>
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica (3-е издание). — М.: Издательство "Медиа Сфера", 2006. — 312 с. [Rebrova OYu. Statisticheskii analiz meditsinskih dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm Statistica (3-e izdanie). Moscow: Media Sfera Publishers, 2006. (In Russ.)].
10. Кутихин А.Г., Южалин А.Е., Понасенко А.В. Современные тенденции статистической обработки данных и представления результатов в кандидатных генетико-эпидемиологических исследованиях. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2017;2(2):77-82. [Kutikhin AG, Yuzhalin AE, Ponasenko AV. How to analyze and present genetic epidemiology data in candidate studies. *Fundamental and clinical medicine*. 2017;2(2):77-82. (In Russ.)]. doi: 10.23946/2500-0764-2017-2-2-77-82.
11. Dervieux T, Wessels JA, van der Straaten T, et al. Gene-gene interactions in folate and adenosine biosynthesis pathways affect methotrexate efficacy and tolerability in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenet Genomics*. 2009 Dec;19(12):935-44. doi: 10.1097/FPC.0b013e32833315d1.
12. Lima A, Bernardes M, Azevedo R, et al. Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome. *Pharmacogenomics*. 2016 Oct;17(15):1649-1674. doi: 10.2217/pgs-2016-0067.
13. Kurzawski M, Malinowski D, Szarmach N, et al. ATIC missense variant affects response to methotrexate treatment in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2016 Dec;17(18):1971-1978. doi: 10.2217/pgs-2016-0125.14.
14. Singh A, Gangadharan H, Gupta V, et al. Polymorphism of genes involved in methotrexate pathway: Predictors of response to methotrexate therapy in Indian rheumatoid arthritis patients. *Int J Rheum Dis*. 2021 May;24(5):654-662. doi: 10.1111/1756-185X.14100.
15. Lee YC, Cui J, Costenbader KH, et al. Investigation of candidate polymorphisms and disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Jun;48(6):613-7. doi: 10.1093/rheumatology/ken513.
16. 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 Jun;13(3):227-34. doi: 10.1038/tpj.2012.7.
17. Takatori R, Takahashi KA, Tokunaga D, et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2006 Sep-Oct;24(5):546-54.
18. Eektimmerman F, Swen JJ, Madhar MB, et al. Predictive genetic biomarkers for the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Pharmacogenomics J*. 2020 Apr;20(2):159-168. doi: 10.1038/s41397-019-0098-9.
19. Eektimmerman F, Allaart CF, Hazes JM, et al. Validation of a clinical pharmacogenetic model to predict methotrexate nonresponse in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2019 Jan;20(2):85-93. doi: 10.2217/pgs-2018-0144.
20. Jenko B, Tomšič M, Jekić B, et al. Clinical Pharmacogenetic Models of Treatment Response to Methotrexate Monotherapy in Slovenian and Serbian Rheumatoid Arthritis Patients: Differences in Patient's Management May Preclude Generalization of the Models. *Front Pharmacol*. 2018 Jan 25;9:20. doi: 10.3389/fphar.2018.00020.