DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-106-111
УДК: 616–035

Полиморфизмы генов метаболизма метотрексата — как предикторы его гепатотоксичности при ревматоидном артрите

Девальд И. В.[1, 3], Ходус Е. А.[2], Мысливцова К. Ю.[2],Хромова Е. Б.[3], Игнатова Г. Л.[1]

[1] ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Российская Федерация, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64)

[2] Клиника профессора Кинзерского (Российская Федерация, 454087, Челябинск, ул. Блюхера, 53а)

[3] ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия (Российская Федерация, 454001, г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129)

Polymorphisms of methotrexate metabolism genes — as predictors of its hepatotoxicity in rheumatoid arthritis

I. V. Devald[1, 3], E. A. Khodus[2], K. Yu. Myslivtsova[2], E. B. Khromova[3], G. L. Ignatova[1]

[1] South-Ural State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Russian Federation, 454092, Chelyabinsk, Vorovskogo, 64)

[2] Professor Kinzerskiy Clinic (Russian Federation, 454087, Chelyabinsk, Bluchera, 53a)

[3] Chelyabinsk State University (Russian Federation, 454001, Chelyabinsk, Brat'ev Kashirinyh, 129)

Для цитирования: Девальд И. В., Ходус Е. А., Мысливцова К. Ю.,Хромова Е. Б., Игнатова Г. Л. Полиморфизмы генов метаболизма метотрексата — как предикторы его гепатотоксичности при ревматоидном артрите. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;178(6): 106–111. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-106-111

For citation: Devald I. V., Khodus E. A., Myslivtsova K. Yu., Khromova E. B., Ignatova G. L. Polymorphisms of methotrexate metabolism genes — as predictors of its hepatotoxicity in rheumatoid arthritis. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2020;178(6): 106–111. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-106-111

✉ *Corresponding author:*
Девальд Инесса Валерьевна
Inessa V. Devald
inessa.devald@gmail.com

Девальд Инесса Валерьевна, к.м.н., доцент кафедры терапии института дополнительного профессионального образования; доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии

Ходус Елена Андреевна, врач-ревматолог

Мысливцова Кристина Юрьевна, врач-ревматолог

Хромова Елена Борисовна, к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии

Игнатова Галина Львовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой терапии института дополнительного профессионального образования

Inessa V. Devald, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department for Therapy of the Institute of Additional Professional Education; Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology; *ORCID ID: 0000–0001–8657–7035*

Elena A. Khodus, Rheumatologist; *ORCID ID: 0000–0001–5520–9635*

Kristina Yu. Myslivtsova, Rheumatologist; *ORCID ID: 0000–0001–8055–9207*

Elena B. Khromova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology; *ORCID ID: 0000–0002–5415–545X*

Galina L. Ignatova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department for Therapy of the Institute of Additional Professional Education; *ORCID ID: 0000–0002–0877–6554*

Резюме

Цель исследования: идентифицировать среди аллельных полиморфизмов генов фолатного цикла: RFC-1 80G>A, MTHFR C677T и A1298C, TS2R/3R и 6bp del/ins, GGH –401C>T, MDR1 C3435T предикторы гепатотоксичности метотрексата у больных ревматоидным артритом.

Материалы и методы: ретроспективно была проанализирована частота нарушения функции печени у 85 больных ревматоидным артритом на фоне терапии метотрексатом с последующей оценкой корреляции с аллельными полиморфизмами генов фолатного цикла, регулирующих разные этапы биотрансформации препарата.

Результаты: анализ распределения аллелей и генотипов вышеуказанных генов фолатного цикла позволил идентифицировать протективные генетические маркеры в отношении метотрексат-индуцированной гепатотоксичности в виде аллельных полиморфизмов MTHFR1298AC и TS6bp del/ins, а также предположить роль полиморфизма TS6bp ins/ins в развитии гиперферментемии.

Заключение: неоднозначность литературных данных в вопросах поиска прогностических маркеров гепатотоксичности метотрексата, а также полученные нами данные, которые не имеют сопоставимых результатов как в отечественных, так и зарубежных публикациях, диктуют необходимость продолжения исследовательской работы по безопасности метотрексата при ревматоидном артрите.

Ключевые слова: метотрексат, фолатный цикл, аллельные полиморфизмы, гепатотоксичность, ревматоидный артрит.

Summary

Objective: to identify among the allelic polymorphisms of the folate cycle genes: RFC-1 80G> A, MTHFR C677T and A1298C, TS2R/3R and 6bp del/ins, GGH-401C>T, MDR1 C3435T, hepatotoxicity predictors of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis.

Materials and methods: the frequency of liver dysfunction in 85 patients with rheumatoid arthritis was analyzed retrospectively with methotrexate therapy, followed by an assessment of the correlation with allelic polymorphisms of the folate cycle genes that regulate the different stages of drug biotransformation.

Results: an analysis of the distribution of alleles and genotypes of the folate cycle genes mentioned above allowed the identification of protective genetic markers for methotrexate-induced hepatotoxicity in the form of allelic polymorphisms MTHFR1298AC and TS6bp del/ins, as well as suggesting the role of TS6bp ins/ins polymorphism in the development of hyperfermentemia.

Conclusion: the ambiguity of the literature data on the search for prognostic markers of hepatotoxicity of methotrexate, as well as our data, which do not have comparable results in both domestic and foreign publications, dictate the need to continue research on the safety of methotrexate in rheumatoid arthritis.

Keywords: methotrexate, folate cycle, allelic polymorphisms, hepatotoxicity, rheumatoid arthritis.

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].

Современные возможности фармакотерапии РА представлены достаточно разнообразным спектром лекарственных средств (синтетические базисные противовоспалительные, таргетные, генно-инженерные биологические препараты – ГИБП), направленных на различные звенья иммунопатогенеза заболевания. В то же время, по мнению экспертов европейской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism – EULAR), лидирующая позиция в терапии РА принадлежит метотрексату (МТ). Именно МТ выступает препаратом «первой линии» инициации базисного лечения РА ввиду его экономической доступности и большой доказательной базы в отношении как предупреждения прогрессирования болезни, так и снижения риска некоторых коморбидных заболеваний в процессе моно, или комбинированной терапии (совместно с другими базисными противовоспалительным препаратами или ГИБП) [2].

Как известно, любое медикаментозное лечение сопровождается риском различных нежелательных реакций, связанных, как правило, с особенностями фармакокинетики и фармакодинамики лекарственного средства. Терапия МТ не является исключением и может быть сопряжена с побочными эффектами со стороны различных органов и систем (в порядке возрастания частоты от 0,8 до 43%): дыхательной системы (пневмонит), костно-мышечной системы (миалгии, остеопороз); кроветворной системы (цитопении); желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея); функции печени (повышение уровня аланиновой и аспарагиновой трансаминаз) [3]. Преобладание частоты нарушения функции печени среди всего ряда возможных нежелательных реакций МТ обусловлено особенностями его механизма действия с прямой цитотоксичностью, вследствие ингибирования ряда ферментов фолатного цикла [4]. Вероятно, это и обусловливает принадлежность МТ к группе лекарственных средств, обладающих наиболее частой потенциальной гепатотоксичностью (категория А по регистру Drug-Induced Liver Injury Network – DILIN) [5]. Доказано, что МТ-индуцированная гепатотоксичность имеет четкий дозозависимый характер. Частота гиперферментемии может возрастать при эскалации недельной дозы с 10 до 25 мг с последующей необходимостью коррекции проводимой терапии – снижения недельной дозы или прерывания базисного лечения МТ, что, в свою очередь, негативно отражается на течении РА в виде прогрессирования деструктивных изменений в суставах [6]. В ряде случаев длительный прием МТ с транзиторным повышением уровня трансаминаз, при таких факторах риска как: возраст старше 65 лет, употребление алкоголя, ожирение, сахарный диабет, стеатоз и др., может трансформироваться в необратимый фиброз печени, что требует тщательного лабораторного мониторинга до начала и на фоне терапии МТ (контроль уровня АСТ и АЛТ, серологические исследования на маркеры гепатитов В и С) [7].

На сегодняшний день безопасность лекарственной терапии представляет собой актуальную проблему клинической медицины. Одним из приоритетных направлений поиска решения данной проблемы является фармакогенетическое тестирование с возможностью идентификации различных предикторов нежелательных лекарственных реакций в основном среди генов, кодирующих основные этапы биотрансформации препаратов [8]. Касаемо лекарственных осложнений терапии РА необходимо отметить, что в последнее десятилетие внимание ученых разных стран приковано к аллельным полиморфизмам генов фолатного цикла, как вероятным прогностическим маркерам МТ-индуцированной гепатотоксичности. Наиболее изученными в этом плане оказались полиморфизмы С677Т и А1298С гена метилентетрагидрофолатредуктазы (methylenetetrahydrofolate reductase – MTHFR), катализирующей процессы реметилирования гомоцистеина в метионин с возможным внутриклеточным накоплением токсичного продукта – гомоцистеина и его негативным влиянием на функцию печени [9–12]. Мы же, в свою очередь, помимо MTHFR, попытались провести корреляцию гепатотоксичности МТ с аллельными полиморфизмами генов фолатного цикла, регулирующих разные этапы его биотрансформации, в том числе внутри- и внеклеточного транспорта (reduced folate carrier – RFC- 1, multidrug resistance gene – MDR1), расщепления полиглутамированных форм (gamma- glutamyl hydrolase – GGH), а также клеточной репликации (thymidylate synthase -TS).

Цель исследования – идентифицировать среди аллельных полиморфизмов генов фолатного цикла: RFC-1 80G>A, MTHFR C677T и A1298C, TS2R/3R и 6bp del/ins, GGH –401C>T, MDR1 C3435T предикторы гепатотоксичности метотрексата у больных ревматоидным артритом.

Материалы и методы

Исследование, одобренное локальным этическим комитетом МБУЗ ОТКЗ ГКБ № 1 г. Челябинска (протокол № 2 от 07.05.2013), выполнено в период с 2013 по 2015 год на базе дневного стационара для больных ревматологического профиля. Группа больных, включенных в исследование составила 85 человек с диагнозом РА, соответствующих классификационным критериям ACR/EULAR2010 [13], которым впервые была инициирована базисная противовоспалительная терапия МТ при обязательном исключении следующих факторов: ГИБП в анамнезе, злокачественные новообразования любой локализации, аутоиммунные заболевания, наличие сопутствующей патологии печени (за исключением первичного стеатогепатоза по данным ультразвукового обследования при отсутствии повышения АСТ и АЛТ), а также употребление алкоголя в дозе более 40 грамм чистого этанола в сутки для мужчин и более 20 грамм чистого этанола в сутки для женщин. Возраст, пол, наличие лабораторных маркеров РА (ревматоидный фактор – РФ, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду – АЦЦП), а также рентгенологическая стадия и степень активности заболевания по индексу DAS28 не влияли на условия отбора в исследование и распределились как указано в таблице 1.

После постановки диагноза РА и исключения сопутствующей патологии печени (определение до начала терапии МТ маркеров гепатитов В и С и уровня трансаминаз) всем больным в качестве «стартового»

Таблица 1.
Основные параметры больных РА

Общее кол-во больных (n=85)		
среди них:	**женщины**	67 (79%)
	мужчины	18 (21%)
Средний возраст, лет		54,6±11,3
Средний возраст начала болезни, лет		49,8±13,2
Рентгенологическая стадия по Штейнброкеру		
	0	15 (18%)
	I	10 (12%)
	II	41 (47%)
	III	9 (11%)
	IV	10 (12%)
Лабораторные маркеры		
РФ	обнаружен	72 (85%)
	не обнаружен	13 (15%)
АЦЦП	обнаружены	66 (77%)
	не обнаружены	9 (11%)
	не определялись	10 (12%)
Степень активности заболевания по DAS28		
	низкая (DAS28≤3,2)	17 (20%)
	умеренная (3,2<DAS28≤5,1)	29 (34%)
	высокая (DAS28>5,1)	39 (46%)
Стеатоз печени		7 (8,2%)

базисного противовоспалительного препарата был назначен МТ в дозе от 10 до 17,5 мг/нед с последующей оценкой нежелательных реакций, а именно гепатотоксичности, в ходе 6 месяцев лечения.

Определение аллельных полиморфизмов генов RFC-1, GGH, MDR1, TS проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени согласно Kumagai et al.; Dervieux et al.; Pawlik et al. [14,15,16]. Определение полиморфизмов MTHFR A1298C и C677T проводилось набором «Синтол» на приборе «АНК-32». Все генетические исследования выполнены в отделе молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови».

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.

При $p \leq 0{,}05$ различия являлись статистически значимыми, при $p > 0{,}10$ – незначимыми; промежуточные значения p ($0{,}05 < p \leq 0{,}10$) принимали за тенденцию к различиям [17].

Результаты и обсуждение

Первая часть нашей работы заключалась в оценке нежелательных реакций МТ у больных РА. Как было указано выше, всем пациентам, включенным в исследование, была инициирована терапия МТ в дозе от 10 до 17,5 мг/нед. Учитывая, что МТ относится к категории А потенциально гепатотоксичных лекарственных средств у всех пациентов регулярно, в соответствии с клиническими рекомендациями [18], проводился контроль лабораторных показателей с акцентом на уровень АСТ и АЛТ. Помимо этого, для более углубленного исследования возможного нарушения функции печени, всем больным дополнительно определялся уровень общего билирубина и щелочной фосфатазы. В ходе мониторинга нежелательных реакций МТ нами зафиксировано только повышение уровня АЛТ со средним значением 91,8±10,2 Ед/л у 10 (11,8%) из 85 больных РА, что соответствовало повреждению печени легкой степени тяжести по классификации Aithal et al. и относилось к типу А нежелательных лекарственных реакций [19,20]. Частота гепатотоксичности у больных РА представлена на рисунке 1.

Напомним, что на момент включения в исследование 7 (8,2%) из 85 больных РА имели ультразвуковые признаки стеатоза печени. Мы проанализировали возможную корреляцию гиперферментемии с наличием стеатоза, но выяснили, что лишь 2(20%) из 10 больных с повышением уровня АЛТ имели вышеуказанные ультразвуковые изменения печени, что не оказалось статистически значимо.

Вторая часть нашей работы заключалась в генетическом типировании больных РА с определением однонуклеотидных полиморфизмов генов фолатного цикла. Нашей задачей было установить корреляцию аллельных полиморфизмов генов фолатного цикла RFC-1 80G>A, GGH –401C>T, MDR1 C3435T, MTHFR C677T и A1298C, TS2R/3R и 6bp del/ins с гепатотоксичностью МТ. Мы проанализировали взаимосвязь гепатотоксичности МТ с каждым из вышеперечисленных полиморфизмов, однако статистически значимые различия обнаружили лишь в случаях MTHFR A1298C и TS6bp del/ins, результаты представлены в таблице 2.

Проведенный нами анализ оказался интересен тем, что мы обнаружили у больных РА генетические предикторы не нарушения функции печени на фоне приема МТ, а, наоборот, их протективные маркеры. Так, в ходе анализа мы констатировали факт достоверного ($p<0{,}05$) преобладания частоты гетерозиготных генотипов MTHFR1298AC и TS6bp del/ins, на 35,3% и 38,7% соответственно, у больных РА с отсутствием МТ-индуцированной гепатотоксичности. Одновременно мы отметили тенденцию ($0{,}05<p\leq0{,}1$) к трехкратному превалированию частоты гомозиготного генотипа TS6bp ins/ins у больных РА с наличием гепатотоксичности, что позволяет рассматривать его как потенциальный маркер

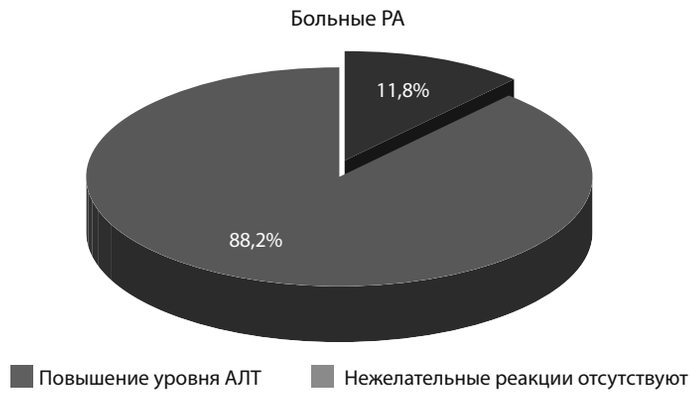

Рисунок 1.
Частота нарушения функции печени у больных РА

Таблица 2.
Частота встречаемости аллелей и генотипов RFC-1 80G>A, MTHFR C677T и A1298C, TS2R/3R и 6bp del/ins, GGH –401C>T, MDR1 C3435T в группах больных РА с наличием и отсутствием гепатотоксичности МТ

Примечание
* различия статистически значимы, p<0,05;
** различия находятся на уровне тенденции, 0,05<*p*≤0,1

SNP	Гепатотоксичность (n=10)		Гепатотоксичность отсутствует (n=75)		p
	n	%	n	%	
SNP RFC-1 80G>A					
Аллель G	10	50	85	56,7	0,573
Аллель A	10	50	65	43,3	
Генотип GG	2	20	23	30,7	0,716
Генотип GA	6	60	39	52	0,743
Генотип AA	2	20	13	17,3	1,0
SNP MTHFR C677T					
Аллель C	13	65	108	72	0,361
Аллель T	7	35	42	28	
Генотип CC	5	50	39	52	0,828
Генотип CT	3	30	30	40	0,734
Генотип TT	2	20	6	8	0,237
SNP MTHFR A1298C					
Аллель A	15	75	100	66,7	0,621
Аллель C	5	25	50	33,3	
Генотип AA	7	70	33	44	0,179
Генотип AC	1	10	34	45,3	0,042*
Генотип CC	2	20	8	10,7	0,334
SNP TS6bp del/ins					
Аллель del	6	30	60	40	0,537
Аллель ins	14	70	90	60	
Генотип del/del	2	20	8	10,7	0,337
Генотип del/ins	2	20	44	58,7	0,039*
Генотип ins/ins	6	60	23	30,6	0,087**
SNP TS2R/3R					
Аллель 2R	7	35	68	45,3	0,526
Аллель 3R	13	65	82	54,7	
Генотип 2R/2R	2	20	13	17,3	1,0
Генотип 2R/3R	3	30	42	56	0,179
Генотип 3R/3R	5	50	20	26,7	0,249
SNP GGH –401CT					
Аллель C	12	60	107	71,3	0,436
Аллель T	8	40	43	28,7	
Генотип CC	3	30	39	52	0,313
Генотип CT	6	60	29	38,7	0,305
Генотип TT	1	10	7	9,3	1,0
SNP MDR1 C3435T					
Аллель C	8	40	62	41,3	0,898
Аллель T	12	60	88	58,7	
Генотип CC	1	10	11	14,7	1,0
Генотип CT	6	60	40	53,3	0,748
Генотип TT	3	30	24	32	1,0

нарушения функции печени на фоне терапии МТ. Также полученные нами данные позволяют сделать дополнительный вывод о том, что возможная токсичность МТ обусловлена полиморфизмами генов, регулирующих не транспорт и полиглутамацию препарата, а процессы клеточной репликации и реметилирования гомоцистеина. С практической точки зрения обнаружение генетических маркеров низкого риска МТ-индуцированной гепатотоксичности позволяет более безопасно варьировать терапевтической дозой МТ в диапазонах, рекомендуемых для адекватной терапии РА (от 10 до 25 мг/нед), а в некоторых случаях и стартовать с большей дозировки.

Что касается литературных данных в отношении прогностической роли MTHFR1298AC и TS6bp del/ins в предупреждении нежелательных реакции МТ со стороны функции печени у больных РА, то хочется отметить, что результатов исследований аналогично нашим в отношении ассоциации MTHFR1298AC и TS6bp del/ins с низким риском гиперферментемии не обнародовано. Большинство ученых сходятся во мнении о необходимости продолжения работ по молекулярно-генетическому типированию больных РА для поиска возможных предиктивных маркеров нежелательных реакции МТ, в том числе среди генов фолатного цикла.

Литература | References

1. *Насонов Е.Л., Олюнин Ю.А., Лила А.М.* Ревматоидный артрит: проблемы ремиссии и резистентности к терапии // *Науч.-практ. ревм.* – 2018. – Т. 56. – № 3. – С. 263–271.

   Nasonov E.L., Olyunin Y.A., Lila A.M. Revmatoidnyy artrit: problemy remissii i rezistentnosti k terapii [Rheumatoid arthritis: the problems of remission and therapy resistance]. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya, 2018, vol.56, no.3, pp. 263–271.

2. *Smolen J.S., Landewe R., Bijlsma J. et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann. Rheum. Dis.* 2017, vol.76, no.6, pp. 960–977.

3. *Albrecht K., Muller-Ladner U.* Side effects and management of side effects of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2010, vol.28, no.5(suppl. 61), pp. 95–101.

4. *Насонов Е.Л.* Метотрексат при ревматоидном артрите – 2015: новые факты и идеи // *Науч.-практ. ревм.* – 2015. – Т. 53. – № 5s. – С. 64–76.

   Nasonov E.L. Metotreksat pri revmatoidnom artrite – 2015: novyye fakty i idei [Methotrexate in rheumatoid arthritis – 2015: new facts and ideas]. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya, 2015, vol.53, no.5s, pp. 64–76.

5. https://livertox.nih.gov

6. *Вратских Е.В., Балабанова Р.М.* Патология печени при ревматоидном артрите // Науч.-практ. ревм. – 2003. – № 1. – С. 60–63.

   Vratskikh E.V.. Balabanova R.M. Patologiya pecheni pri revmatoidnom artrite [Liver patholoqy in rheumatoid arthritis]. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya, 2003, no.1, pp. 60–63.

7. *Долгушина А.И.* Лекарственные поражения печени в практике врача ревматолога // Вестник Челябинской областной клинической больницы. – 2014. – Т. 2. – № 25. – С. 34–37.

   Dolgushina A.I. Lekarstvennyye porazheniya pecheni v praktike vracha revmatologa [Medicinal damage to the liver in the practice of a rheumatologist]. Vestnik Chelyabinskoy oblastnoy klinicheskoy bolnitsy, 2014, vol.2, no.25, pp. 34–37.

8. *Сычёв Д.А.* Рекомендации по применению фармакогенетического тестирования в клинической практике // *Кач. клин. практика*. – 2011. – Т. 1. – № .3. – С. 10.

   Sychev D.A. Rekomendatsii po primeneniyu farmakogeneticheskogo testirovaniya v klinicheskoy praktike [Recommendations for the use of pharmacogenetic testing in clinical practice]. Kachestvennaya klinicheskaya praktika, 2011, vol.1, no.3, p.10.

9. *Plaza-Plaza J.C., Aguilera M., Canadas-Garre M. et al.* Pharmacogenetic polymorphisms contributing to toxicity induced by methotrexate in the southern Spanish population with rheumatoid arthritis. *OMICS*., 2012, vol.16, no.11, pp. 589–595.

10. *Saleh, M.M., Irshaid Y.M., Mustafa K.N.* Methylene tetrahydrofolate reductase genotypes frequencies: association with toxicity and response to methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 2015, vol.53, no.2, pp. 154–162.

11. *Urano W., Taniguchi A., Yamanaka H. et al.* Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics*., 2002, vol.12, no.3, pp. 183–190.

12. *Xiao* H., *Xu J., Zhou X. et al.* Associations between the genetic polymorphisms of MTHFR and outcomes of methotrexate treatment in rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2010, vol.28, no.5, pp. 728–733.

13. *Aletaha D., Neogi T., Silman A.J. et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann. Rheum. Dis.* 2010, vol.62, no.9, pp. 2569–2581.

14. *Kumagai K., Hiyama K., Oyama T. et al.* Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Med.* 2003, vol.11, no.5, pp. 593–600.

15. *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, no.11, pp. 733–739.

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, no.9, pp. 496–503.

17. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М.: МедиаСфера, 2006; 312 с.

   Rebrova O.Yu. Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnyh programm STATISTICA. 3-e izdanie [Statistical analysis of medical data. Application package application STATISTICA 3rd edition]. M.: MediaSfera, 2006; 312 p.

18. Ревматология. Российские клинические рекомендации (под ред. Е.Л. Насонова). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017, 456 с.

   Rheumatology. Russian clinical guidelines. Edited by EL. Nasonov. M.: GEOTARMedia, 2017, 456 p.

19. *Aithal G.P., Watkins P.B., Andrade R.J. et al.* Case definition and phenotype standardization in drug- induced liver injury. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011, vol.89, no.6, pp. 806–815.

20. *Райхельсон К.Л., Пальгова Л.К., Кондрашина Э.А. и др.* Лекарственные поражения печени. Клинические рекомендации для врачей. М.: МЕДпресс-информ, 2018, 80 с.

   Reichelson K.L., Palgova L.K., Kondrashina E.A. et al. Lekarstvennye porazheniya pecheni. Klinicheskie rekomendacii dlya vrachej [Medicinal lesions of the liver. Clinical recommendations for doctors]. M.: MEDpress-inform, 2018, 80 p.