

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ



**ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ
ОСОБЕННОСТЕЙ ПАЦИЕНТА**

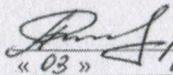
Методические рекомендации

Ташкент 2019

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

«СОГЛАСОВАНО»

Начальник управления развития
науки д.м.н., профессор

 Хабилов Н.И.
« 03 » 04 2019г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник главного управления
науки и образования
профессор



Исмаилов У.С.
2019г.

ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ
РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ
ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПАЦИЕНТА

Методические рекомендации

Ташкент 2019

«Тасдиқланди» УзР Соғлиқни сақлаш вазирлиги илмий фаолиятини мувофиқлаштириш Бўлими 10.04.2019г. 84-п/122
--

Методические рекомендации рассмотрены на заседании Проблемной комиссии («12» февраля 2019 года, протокол №8) и Ученом Совете при Ташкентской медицинской академии (протокол № 7от «27» февраля 2019 г.)

СОСТАВИТЕЛИ:

Н.М. Абдурахманова – старший преподаватель кафедры внутренних болезней №3 ТМА, PhDсамостоятельный соискатель.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Собиров М.О. – доктор медицинских наук, заведующий кафедры предметов терапевтического направления №2, ТГСИ

Мирахмедова Х.Т. – доктор медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней №2, ТМА

Аннотация

Лечение больных ревматоидным артритом остается одной из наиболее сложных проблем современной ревматологии. Не смотря на весь арсенал современных препаратов при лечении данного заболевания, в 25-30% случаев не достигается «полная клиническая ремиссия» или «низкая активность болезни» в связи к рефрактерностью к лечению. Относительно новым направлением в фармакологических исследованиях является фармакогенетика. Фармакогенетика позволяет с помощью достаточно доступных анализов определять большое количество клинически значимых аллельных вариантов генов. Такой подход позволяет учесть генотип пациента при выборе лекарственных средств и режима его дозирования, что способствуют повышению эффективности фармакотерапии. Применение подобных технологий в клинической практике является основой персонифицированной медицины. Разработка новых, индивидуальных подходов к лечению ревматоидного артрита в зависимости от генетических особенностей человеческого организма представляет собой значительную важность.

Методические рекомендации были разработаны на основании результатов генетических исследований больных ревматоидным артритом в рамках PhD диссертации соискателя кафедры внутренних болезней №3 ТМА Н.М. Абдурахмановой.

Методические рекомендации предназначены для использования в практической деятельности врачей-терапевтов и ревматологов. Сфера применения – терапевтические и ревматологические стационары.

Ревматоидный артрит (РА) является важной медицинской и социальной проблемой, ее актуальность обусловлена прогрессирующим течением заболевания, тяжестью поражения опорно-двигательного аппарата, высокой частотой поражения лиц трудоспособного возраста, рано возникающим снижением функциональных способностей, потерей профессиональных и социальных навыков, трудностью физического и психологического приспособления пациентов к нарушениям двигательных функций, значительной инвалидизацией, приводя к огромным экономическим потерям. Заболевание встречается у лиц трудоспособного возраста и ведет к быстрой инвалидизации и уменьшению продолжительности жизни больных.

Известно, что иммуносупрессивная и биологическая терапия приостанавливают развитие инвалидизации пациентов, которая может возникнуть из-за прогрессирования деструкции суставов и системных проявлений. Однако, далеко не во всех случаях удается достичь клинической ремиссии на фоне лечения базисной терапией. По некоторым оценкам, от 50 до 90% неблагоприятных фармакологических ответов определяется генетическими особенностями индивидов. Изучение индивидуальных генетических различий, лежащих в основе вариабельности ответа организма на тот или иной препарат, приобретает первостепенное значение для оптимизации фармакотерапии.

На сегодняшний день главной задачей клинической ревматологии является оптимизация фармакотерапевтических подходов к лечению больных и тем самым улучшение исходов заболевания, снижение уровня инвалидизации пациентов. Фармакогенетика представляет собой раздел клинической фармакологии и клинической генетики, изучающий генетические особенности пациента, влияющие на фармакологический ответ. Идентификация соответствующего аллельного варианта, обуславливающего изменение фармакокинетики лекарственного средства, позволяет скорректировать терапию (доза, кратность и путь введения, замена ЛС и т.д.) и повысить ее эффективность и безопасность. Выявление аллельных вариантов (генотипирование) некоторых из этих генов широко используется зарубежом в клинической практике для индивидуализации фармакотерапии. Одним из таких генов является MDR1 который отвечает за устойчивость к различным препаратам, а его полиморфизм может влиять на фармакокинетику многих цитостатиков, включая метотрексат, который входит в «золотой стандарт» лечения РА. Ген MDR1, кодирующий гликопротеин-P, обладает полиморфизмом. В настоящее время изучены три основные изоформы гена MDR1: C1236T, G2677T, C3435T.

Оценка полиморфизма гена MDR1 у больных РА является актуальным вопросом ревматологии, так как спорным остаются вопросы влияния его на эффективность проводимой терапии, длительности ремиссии и прогноза течения РА, а так же на метаболизм метотрексата. Изучение полиморфизма гена MDR1

может быть важным звеном в разработке персонализированного подхода к лечению РА.

Данные методические рекомендации были разработаны с целью изучения персонализированного подхода к лечению ревматоидного артрита в зависимости от индивидуальных генетических особенностей пациентов.

Изучение полиморфизма гена MDR1 у больных РА осуществляются для решения следующих задач:

- Выявление влияния полиморфизма гена MDR1 на эффективность проводимой базисной терапии РА
- Выявление влияния полиморфизма гена MDR1 на длительность ремиссии при РА
- По результатам генотипирования полиморфизма гена MDR1 разработка индивидуальных схем базисной терапии РА.

Ожидаемые результаты: при изучении данных методических рекомендаций врачи - терапевты и ревматологи смогут в зависимости от генотипических особенностей пациентов индивидуально подбирать фармакотерапию РА, а также прогнозировать длительность ремиссии заболевания. Все это в свою очередь будет приводить к предотвращению ранней инвалидизации больных, позволяет снизить затраты на приобретение неэффективных лекарств, а так же к уменьшению частоты госпитализации пациентов.

Для проведения наших исследований было отобрано 76 больных с верифицированным диагнозом ревматоидный артрит. В методических рекомендациях приведены данные генотипирования пациентов, которые позволяют прогнозировать эффективность базисной терапии, а так же разработать индивидуальный подход к фармакотерапии РА.

Было проведено открытое, рандомизированное, контролируемое исследование. Исследование проводилось у 76 больных с верифицированным диагнозом ревматоидный артрит, поступивших на стационарное лечение, обоего пола, в возрасте от 25 до 60 лет, давших письменное информированное согласие на участие в исследовании. Контрольной группой послужили 24 практически здоровых добровольцев, без отягощенного ревматологического анамнеза. Средний возраст больных с РА составил $48,5 \pm 15$ лет, средняя продолжительность заболевания составила $3,5 \pm 3,1$ лет.

Критерии включения: больные ревматоидным артритом, находившиеся на стационарном лечении с высокой и средней активностью заболевания по DAS28.

Критериями исключения из исследования являлись: возраст менее 25 и более 60, сопутствующие тяжелые заболевания не связанные с ревматоидным артритом: ИБС, гипертоническая болезнь, инсульт, сахарный диабет, другие аутоиммунные заболевания.

Диагноз РА устанавливался согласно критериям Американского колледжа ревматологии (ACR), а активность заболевания считалось по калькулятору DAS28. Обследование больных проводилась при госпитализации пациентов в ревматологическое отделение стационара. После клинического обследования пациентов, были назначены лабораторные, рентгенологические методы исследования. Кровь на генетические исследования была взята у больных и хранилась в пробирках EDTA в морозильной камере холодильника с дальнейшим генотипированием. Полиморфизм гена MDR1 (генотипирование) определяли с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая проводилась в амплификаторе 7500 Fast Real Time PSR Systems (Applied Biosystems США). Для решения поставленных задач были проведены исследования в генетической лаборатории Республиканского научно-практического центра спортивной медицины при Олимпийском комитете, в рамках PhD диссертации на тему «Особенности клинического течения и эффективности лечения ревматоидного артрита в зависимости от полиморфизма гена MDR1». Все обследованные пациенты РА были взяты на диспансерный учет для дальнейшего наблюдения.

Было проведено генотипирование трехизоформ C1236T, G2677T и C3435T полиморфизма MDR1 гена. Результаты генотипирования приведены в таблице 1.

Таблица 1

Таблица 1

Частота встречаемости аллельных и генотипические варианты полиморфизма гена MDR1.

MDR1 ген	Пациенты РА (n=76)	%	χ^2	P	Контрольн ая группа (n=24)	%	χ^2	p
C1236T								
CC	0	0	2.64	0.05	4	16,6	0.7	0.05
CT	55	72,4			14	58,4		
TT	21	27,6			6	25,0		
<i>Аллели</i>								
C	55	36,1			22	45,8		
T	97	63,9			26	54,2		
G2677T								
GG	21	27,6	0.84	0.05	4	16,6	0.2	0.0
GT	34	44,8			13	54,2		
TT	21	27,6			7	29,2		
<i>Аллели</i>								
C	76	50			21	43,7		
T	76	50			27	56,3		
T3435C								
CC	24	31,5	3.35	0.04	5	20,8	1.5	0.0
CT	30	39,5			15	62,5		
TT	22	29,0			4	16,6		
<i>Аллели</i>								
C	78	51,3			25	52,0		
T	74	48,7			23	48,0		

χ^2 - соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Примечательно то, что у больных РА с носительством нормальных гомозигот C1236T генотипом вообще не встречались.

В свою очередь, мутантные гомозиготы обнаружены во всех изоформах данного гена, но между ними по частоте встречаемости достоверных различий не выявлено. Особенно значимым оказалось наличие гетерозигот (СТ генотип), которые имели высокую частоту встречаемости во всех изоформах.

При сравнительном анализе комбинированного генотипирования было выявлено одновременное носительство у одного пациента мутантных, здоровых и гетерозиготных генотипов и их различные комбинации из трех изоформ MDR1 гена (Таблица 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ комбинированного генотипирования пациентов РА

Тройные генотипы Т3435С- G2677Т- С1236Т	Пациенты n=76		Двойные генотипы Т3435С- G2677Т	Пациенты n=76	
		%			%
СС-GG-CC	0	0	СС-GG	0	0
СС-GG-CT	0	0	СС-GT	6	7,8
СС-GG-TT	0	0	СС-TT	18	23,6
СС-GT-CC	0	0	СТ- GG	4	5,2
СС-GT-CT	6	7,89	СТ-GT	23	30,2
СС-GT-TT	0	0	СТ-TT	3	3,94
СС-TT-CC	0	0	ТТ-GG	17	22,3
СС-TT-CT	1	1,31	ТТ-GT	5	6,5

CC-TT-TT	17	22,36	TT-TT	0	0
CT-GG-CC	0	0	T3435C- C1236T		
CT-GG-CT	3	3,94	CC-CC	0	0
CT-GG-TT	0	0	CC-CT	7	9,21
CT-GT-CC	0	0	CC-TT	17	22,3
CT-GT-CT	20	26,32	CT-CC	0	0
CT-GT-TT	4	5,26	CT-CT	27	35,5
CT-TT-CC	0	0	CT-TT	3	3,9
CT-TT-CT	2	2,63	TT-CC	0	0
CT-TT-TT	1	1,31	TT-CT	21	27,6
TT-GG-CC	0	0	TT-TT	1	1,3
TT-GG-CT	16	21,1	G2677T- C1236T		
TT-GG-TT	1	1,31	GG-CC	0	0
TT-GT-CC	0	0	GG-CT	20	26,3
TT-GT-CT	5	6,57	GG-TT	1	1,3
TT-GT-TT	0	0	GT-CC	0	0
TT-TT-CC	0	0	GT-CT	31	40,7
TT-TT-CT	0	0	GT-TT	3	3,9
TT-TT-TT	0	0	TT-CC	0	0
			TT-CT	4	5,2
			TT-TT	17	22,3

Как видно из результатов проведенных нами исследований, из трех изоформ гена MDR1 наиболее

клинически значимым оказался Т3435С полиморфизм, который коррелировал с длительностью ремиссии на фоне лечения базисными препаратами. Носители мутантного ТТ генотипа при приеме в монотерапии метотрексатом в дозе 7,5-15 мг/нед имели длительную ремиссию сроком в 6 месяцев и более. У носителей СС генотипа даже при увеличении дозы принимаемого метотрексата ремиссия была короткой. У обладателей СТ генотипа длительность ремиссии составила 3-6 месяцев. (Рисунок 1).

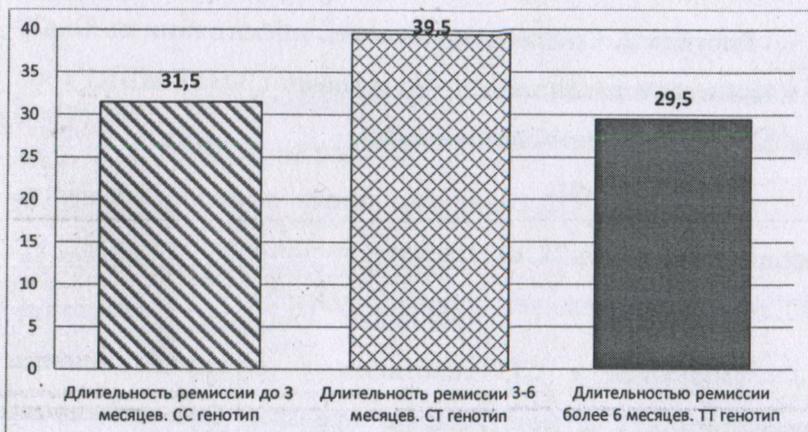


Рисунок 1. Длительность ремиссии у пациентов с различными генотипами полиморфизма С3435Т MDR1 гена.

Так же была выявлена связь С3435Т гена с активностью заболевания на фоне приема базисной терапии, включающей, метотрексат.

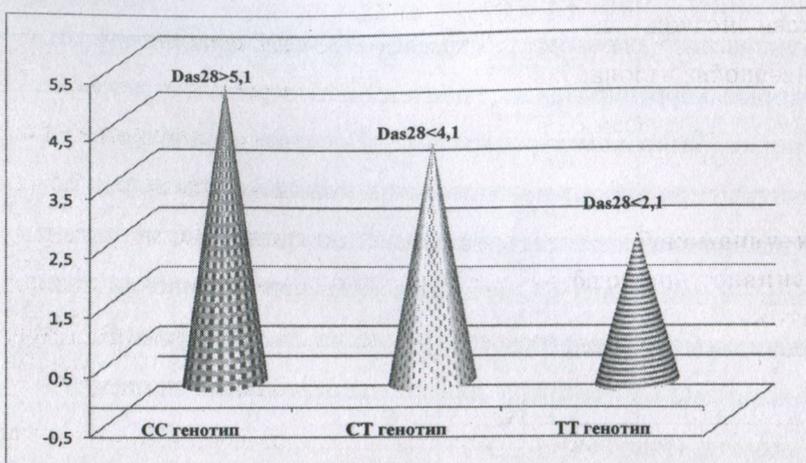


Рисунок 2. Средняя активность заболевания по Das28 у пациентов с различными генотипами *C3435T* MDR1 гена на фоне приема базисной терапии.

Пациенты с CC генотипом имели высокую активность заболевания по Das28, с CT генотипом среднюю активность и с TT генотипом имели ремиссию (Рисунок 2).

Пациентам с CC генотипом у которых имелась резистентность к метотрексату, препарат был заменен на другой базисный препарат лефлуномид и после чего был достигнут уровень активности заболевания по $Das28 < 2,1$ на срок 6 месяцев и более. Больным носителям гетерозиготного CT генотипа у которых активность заболевания была средней ($Das28 < 4,1$), а ремиссия была не достаточно длительной, части больным к метотрексату был добавлен сульфасалазин,

а другой части больных - плаквенил, после чего активность заболевания составила $Das28 < 2.1$ длительностью до 6 месяцев.

Таблица 3.

Рекомендуемые индивидуальные схемы лечения базисной терапией РА в зависимости от носительства генотипов C3435T MDR1 гена

C3435T		
СС геноти п	СТ генотип	ТТ генотип
Рекоменду ется исключить из лечения метотрекс ат и заменить его на лефлуном ид 20 мг/ежедне вно	Комбинированная базисная терапия: Метотрексат 7,5-15.0 мг/нед+сульфосалази н1000мг/ ежедневно или Метотрексат 7,5-15.0 +плаквенил 200 мг/ежедневно	Монотерапияметот рексатом в дозе 7,5- 15мг/нед

Исходя из вышеизложенного, мы разработали индивидуальные схемы лечения базисной терапией РА (Таблица 3). Больным с СТ генотипом рекомендуется комбинированная базисная терапия:

метотрексат + сульфосалазин или Метотрексат+плаквенил. Носителям СС генотипа из-за высокой устойчивости к метотрексату рекомендуется заменить его на другой препарат базисной терапии-лефлуноמיד.

Расчет экономической эффективности внедрения персонифицированного подхода к лечению больных ревматоидным артритом в зависимости от генотипических особенностей пациента

Персонифицированный фармакогенетический подход лечения РА оказывает существенное влияние на экономию средств, как для пациентов, так и для государства. Для проведения расчетов экономической эффективности внедряемого нового способа персонифицированной терапии РА используются следующий алгоритм расчета экономической эффективности исследования, который состоит из 2 этапов:

На первом этапе необходимо определить экономический эффект (снижение затрат на лечение), которое вычисляется по следующей формуле:

$$Э_{ар} = [(M_1 - M_2) + (C_1 - C_2) + (B + E) \times 0,6] \times H - 0,15 \times K$$

$$\text{Э}_{\text{вр}} = [(340.000 - 170.000) + (20 - 10) + (170.000 + 30.000) \times 0,6] \times 100 - 0,15 \times 15.000.000 = 19.950.600 \text{ сум}$$

Где M_1 – M_2 снижения стоимости препарата на лечение;

C_1 – C_2 – снижения длительности пребывания больного в стационаре;

B - стоимость одного койко- дня конкретного учреждения;

E – средний размер пособия по Вут(сум/день);

$0,6$ - коэффициент работающих (без учета несовершеннолетних, пенсионеров и домохозяек);

H – масштаб внедрения;

$0,15$ - нормальный коэффициент эффективности;

K -затраты на разработку темы.

На втором этапе, необходимо определить экономический эффект от сокращения сроков временной нетрудоспособности, который вычисляется по следующей формуле:

$$\text{Э}_{\text{вр}} = (D_1 - D_2) \times (G + E) \times H - 0,15 \times K$$

$$\text{Э}_{\text{вр}} = [(20 - 10) \times (53.571 + 30.000) \times 100 - 0,15 \times 5.000.000] = 82.821.000$$

Где D_1 – среднее число дней нетрудоспособности одного больного по данному заболеванию до внедрения методики;

D_2 - среднее число дней трудоспособности по данному заболеванию после внедрения;

G - среднедневная выработка одного работающего, сум/ день:

E - средний размер пособия по ВУТ, сум / день;

H - масштаб внедрения (число больных в год, на которых ожидается распространить или

уже распространён новый метод лечения);

$0,15$ - нормальный коэффициент эффективности;

K -предполагаемые затраты на внедрения данного метода.

На основании вышеизложенного можно заключить, что внедряемый метод персонафицированного лечения РА в зависимости от генотипических особенностей пациентов является эффективным, а его внедрение в практику целесообразным.

Выводы

1. Было выявлено влияние С3435Т полиморфизма гена MDR1 на эффективность проводимой базисной терапии РА. Обладатели ТТ генотипа показали высокий, СС генотипа очень низкий и СТ генотипа умеренный лекарственный ответ на базисную терапию.
2. Было выявлено влияние С3435Т полиморфизма гена MDR1 на длительность ремиссии при РА. У носителей ТТ генотипа частота ремиссии на фоне базисной терапии включающей метотрексат составила более 6 месяцев, у пациентов с СС генотипом менее трех и с СТ генотипом 3-6 месяцев.

3. По результатам генотипирования C3435T полиморфизма гена MDR1 были выделены фенотипические группы пациентов которые позволили разработать эффективные индивидуальные схемы лечения РА базисной терапией.
4. Индивидуальный подбор эффективных препаратов базисной терапии уменьшил частоту обращаемости пациентов в стационар, уменьшил затраты на не эффективные препараты, а так же уменьшилась раняюю инвалидизацию пациентов.

Список литературы.

1. Каратеев Д. Е. Как вести больного ревматоидным артритом после достижения ремиссии? // Современная ревматология. – Москва, 2016. – №. 1. – С.41-47.
2. Кукес В.Г., Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Казаков Р.Е. Показания для использования генотипирования пациентов по ферментам биотрансформации и транспортерам при проведении клинических исследований новых лекарственных средств. // Материалы II Всероссийского съезда фармацевтических работников (Сочи, 5-7 июня 2005). – Сочи, 2005. – с. 93.
3. Кукес В.Г., Дрожжин А.П., Сычев Д.А. Основы клинической фармакогенетики, В кн. «Молекулярная медицина». Москва: Медицина. 2005. с. 191-236.
4. Насонов Е. Л., Каратеев Д. Е., Чичасова Н. В. Новые рекомендации по лечению ревматоидного артрита (EULAR, 2013):

- место метотрексата // Научно-практическая ревматология. – 2014. – №. 1. – С. 32-34.
5. Насонов Е.Л. Лечение ревматоидного артрита 2012: место метотрексата // Научно-практическая ревматология. 2012. №2, приложение 1. С. 1-24
 6. Сычев Д.А., Игнатъев И.В., Раменская Г.В., Колхир С.В., Кулес В.Г. Значение полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин-P, для индивидуализации фармакотерапии. // Клиническая фармакология и терапия. –2005. -т.14. №1. –с.92-96.
 7. AkhmedovKh. S., Gadaev A. G., Sayfiyev N. Y. Analysis of the course of rheumatoid arthritis depending on the climatic and geographic zones of Uzbekistan // Reumatizam. – 2014. – Т. 61. – №. 1. – С. 13-16.
 8. Brinkmann U., Eichelbaum M. Polymorphisms in the ABC drug transporter gene MDR1 // The pharmacogenomics journal. – 2001. – Т. 1. – №. 1. – p. 59-60.
 9. Bulatović M. et al. Prediction of clinical non-response to methotrexate treatment in juvenile idiopathic arthritis // Annals of the rheumatic diseases. – 2012. – Т. 71. – №. 9. – p. 1484-1489.
 10. De Rotte MCFJ, Bulatovic M, Heijstek MW et al (2012) ABCB1 and ABCC3 gene polymorphisms are associated with first-year response to methotrexate in juvenile idiopathic arthritis. J Rheumatol 39:2032-2040
 11. Drozdik M., Rudas T. et al. The effect of 3435C>T MDR1 gene polymorphism on rheumatoid arthritis treatment with disease-modifying antirheumatic drugs. European Journal Clin Pharmacol. 2006. Vol 62, p.933-937.

12. Pawlik A, Wrzesniewska J, Fiedorowicz-Fabrycy I, Gawronska-Szklarz B (2004) The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Clin Pharmacol Ther* 42(9):496-503
13. Sharma S. et al. Interaction of genes from influx-metabolism-efflux pathway and their influence on methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis patients among Indians // *Pharmacogenetics and genomics*. – 2008. – T. 18. – №. 12. – p. 1041-1049.
14. Takatori R. et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients // *Clin Exp Rheumatol*. – 2006. – T. 24. – №. 5. – C. 546-554.

