

Роль фармакогенетических факторов в развитии побочных эффектов метотрексата при лечении злокачественных опухолей

Т.Т. Валиев^{✉1,2}, В.В. Семенова^{1,3}, А.Ю. Иконникова³, А.А. Петрова³, Т.С. Бельшева¹, Т.В. Наседкина³

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия

Аннотация

Метотрексат (МТХ) является одним из основных химиотерапевтических агентов, определяющих высокую эффективность программ лечения острых лимфобластных лейкозов и неходжкинских лимфом. Обратной стороной высокой противоопухолевой активности МТХ являются побочные эффекты, для предупреждения которых требуется проведение сопроводительной терапии. Но даже современная сопроводительная терапия в ряде случаев не позволяет избежать развития тяжелых токсических повреждений со стороны кожи и слизистых оболочек, нервной системы, почек, печени. Фармакокинетика МТХ демонстрирует значительную индивидуальную вариабельность, что может быть отражением генетической изменчивости. Многочисленные фармакогенетические исследования оценивали влияние полиморфизма генов, участвующих в метаболизме МТХ, на фармакокинетику МТХ и развитие токсических проявлений с целью улучшить результаты лечения пациентов и снизить токсичность препарата. В настоящем обзоре рассмотрен вклад в развитие токсичности МТХ полиморфных вариантов в ключевых генах метаболизма МТХ (*ATIC*, *DHFR*, *GGH*, *FPGS*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *TYMS*) и генах белков-транспортеров (*ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC2*, *ABCC4*, *SLC19A1*, *SLCO1B1*). Наибольшее влияние на фармакокинетику МТХ оказывают полиморфные маркеры в гене *SLCO1B1*.

Ключевые слова: метотрексат, фармакогенетика, генетический полиморфизм, фолатный цикл, побочные эффекты

Для цитирования: Валиев Т.Т., Семенова В.В., Иконникова А.Ю., Петрова А.А., Бельшева Т.С., Наседкина Т.В. Роль фармакогенетических факторов в развитии побочных эффектов метотрексата при лечении злокачественных опухолей. Современная Онкология. 2021;23(4):622–627. DOI: 10.26442/18151434.2021.4.201127

Введение

История терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) и лимфом началась около 70 лет назад, когда S. Farber применил амептерин (метотрексат – МТХ) и получил первые временные ремиссии [1]. По мере появления новых противоопухолевых препаратов (6-меркаптопурин, преднизолон/дексаметазон, L-аспарагиназа, доксорубин/даунорубин, этопозид, циклофосфамид/ифосфамид, цитарабин, винкристин), определения их оптимальной дозировки и разработки режимов сопроводительной терапии показатели многолетней выживаемости при ОЛЛ и лимфомах у детей превысили 90% даже при прогностически неблагоприятных группах риска [2–4].

Одним из основных препаратов, определивших успех в лечении лимфопролиферативных заболеваний, стал МТХ,

вводимый как внутривенно, интратекально, так и внутримышечно и перорально [5–7]. В лечении ОЛЛ МТХ используется на всех этапах терапии: индукции ремиссии, консолидации и поддерживающей терапии, при этом дозы, используемые в разных протоколах и на различных этапах лечения или ветвях, могут заметно отличаться [6, 7]. Терапия МТХ в высоких дозах (1000–5000 мг/м²) требует массивной инфузионной терапии щелочными растворами, введения антидота МТХ (фолината кальция) и динамического лекарственного мониторинга [6, 7]. Однако, несмотря на весь спектр сопроводительных мероприятий, МТХ способен вызывать осложнения, проявляющиеся тяжелыми мукозитами, дерматологической токсичностью, нейро- (3,8–4,1%; включая лейкоэнцефалопатию), гепато- (7,2%) и нефротоксичностью (0,01–1,8%). В 17,7–32,2% случаев

Информация об авторах / Information about the authors

✉ Валиев Тимур Теймуразович – д-р мед. наук, зав. отд-нием онкологии и гематологии (химиотерапии гемобластозов №1) НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», проф. каф. онкологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: timurvaliev@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1469-2365

Семенова Вера Владимировна – аспирант лаб. биологических микрочипов ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта», врач-генетик НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: sulphuridum@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9705-1001

Иконникова Анна Юрьевна – мл. науч. сотр. лаб. биологических микрочипов ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта». ORCID: 0000-0002-8434-5916

Петрова Алиса Александровна – студент, лаб. биологических микрочипов ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта». E-mail: alisa7397396@gmail.com; ORCID: 0000-0002-7536-5683

Бельшева Татьяна Сергеевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. научно-консультативного отд-ния НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: klinderma@bk.ru; ORCID: 0000-0001-5911-553X

Наседкина Татьяна Васильевна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологических микрочипов ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта». E-mail: tanased06@rambler.ru; ORCID: 0000-0002-2642-4202

✉ Timur T. Valiev – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). E-mail: timurvaliev@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1469-2365

Vera V. Semenova – Graduate Student, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: sulphuridum@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9705-1001

Anna Yu. Ikonnikova – junior researcher, Engelhardt Institute of Molecular Biology. ORCID: 0000-0002-8434-5916

Alisa A. Petrova – Student, Engelhardt Institute of Molecular Biology. E-mail: alisa7397396@gmail.com; ORCID: 0000-0002-7536-5683

Tatiana S. Belysheva – D. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: klinderma@bk.ru; ORCID: 0000-0001-5911-553X

Tatiana V. Nasedkina – D. Sci. (Biol.), Engelhardt Institute of Molecular Biology. E-mail: tanased06@rambler.ru; ORCID: 0000-0002-2642-4202

Role of pharmacogenetic factors in the development of side effects of methotrexate in the treatment of malignant tumors: A review

Timur T. Valiev^{1,2}, Vera V. Semenova^{1,3}, Anna Yu. Ikonnikova³, Alisa A. Petrova³, Tatiana S. Belysheva¹, Tatiana V. Nasedkina³

¹Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

³Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

Abstract

Methotrexate (MTX) is one of the main chemotherapeutic agents that has determined the high effectiveness of protocols for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphomas. The reverse side of the high anti-tumor activity of MTX is the adverse reactions, which require accompanying preventive therapy. But even modern accompanying therapy in some cases does not avoid severe toxicity from the skin and mucous membranes, nervous system, kidneys, liver. MTX pharmacokinetics exhibits significant individual variability, which may be a reflection of genetic variability. Numerous pharmacogenetic studies have evaluated the effect of polymorphism of various genes involved in MTX metabolism on MTX pharmacokinetics and the development of toxic manifestations in order to improve patient outcomes and decrease drug toxicity. This review presents impact of key metabolic MTX genes (*ATIC*, *DHFR*, *GGH*, *FPGS*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *TYMS*) and transporter proteins genes (*ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC2*, *ABCC4*, *SLC19A1*, *SLCO1B1*) in the development of MTX side effects. Polymorphic markers in *SLCO1B1* gene have the most influence with MTX pharmacokinetic.

Keywords: methotrexate, pharmacogenetics, genetic polymorphism, folate cycle, side effects

For citation: Valiev TT, Semenova VV, Ikonnikova AY, Petrova AA, Belysheva TS, Nasedkina TV. Role of pharmacogenetic factors in the development of side effects of methotrexate in the treatment of malignant tumors: A review. Journal of Modern Oncology. 2021;23(4):622–627. DOI: 10.26442/18151434.2021.4.201127

токсические проявления служат причиной несвоевременного начала очередного курса терапии или вынужденной редукции дозы MTX [8–10]. Степень выраженности токсических проявлений напрямую коррелирует с концентрацией MTX в плазме крови, при этом все большую роль в различном проявлении токсичности отводят индивидуальной гетерогенности генетических факторов, вовлеченных в метаболизм лекарственных препаратов. Одно из направлений научного поиска для снижения токсичности препарата лежит в области персонализированной фармакотерапии, позволяющей прогнозировать особенности кинетики MTX и, соответственно, риск развития токсических осложнений у каждого пациента на основе данных о его генотипе.

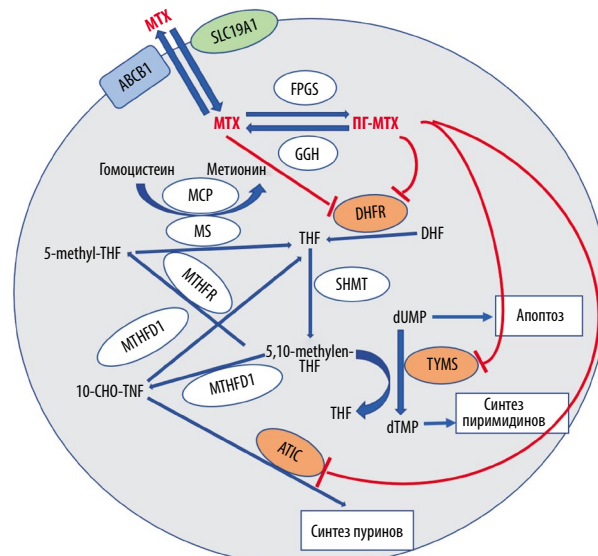
Внутриклеточный метаболизм и транспорт MTX

MTX является антиметаболитом из группы структурных аналогов фолиевой кислоты. Активный перенос MTX через клеточную мембрану в обоих направлениях осуществляется с использованием трансмембранной транспортной системы, опосредованной белками-носителями [11]. Эта система включает сеть белков-транспортеров, которые принадлежат двум основным суперсемействам: транспортерам (переносчикам) растворенных веществ (solute carrier – SLC) и АТФ-связывающим кассетным транспортерам (ATP-binding cassette – ABC). Большой частью MTX попадает в клетку при участии белка-переносчика восстановленных фолатов 1 (reduced folate carrier 1 – RFC-1) или SLC19A1 [12]. Внутри клеток MTX превращается в MTX-полиглутамат (ПГ-MTX) за счет последовательного добавления остатков глутаминовой кислоты с помощью фермента фолиполиглутамат синтетазы (FPGS). Полиглутамирование способствует удержанию MTX в клетке, усиливая его ингибирующее воздействие на фолатный, метиониновый и аденозиновый метаболические пути, а также de novo синтез пуринов и пиримидинов, что является ключевым звеном противопролиферативного и антипролиферативного терапевтического эффекта MTX [13–15]. В то же время фермент γ -глутамил-гидролаза (γ -glutamyl hydrolase – GGH) способен отщеплять остатки глутаминовой кислоты от ПГ-MTX, что позволяет выводить MTX из клетки при участии ABC-транспор-

теров [15]. Белки-транспортеры экспрессируются в разных тканях и оказывают значительный эффект на фармакокинетику MTX, в том числе на его абсорбцию, распределение и элиминацию (рис. 1) [11, 15, 16].

ПГ-MTX оказывает прямое ингибирующее действие на 3 основных фермента: тимидилат синтазу (TYMS), дигидрофолатредуктазу (DHFR) и 5-аминоимдазол-4-карбок-

Рис. 1. Упрощенная схема внутриклеточного метаболизма MTX. MTX попадает в клетку с помощью белка-транспортера SLC19A1, далее переходит в полиглутаматную форму ПГ-MTX и ингибирует DHFR, TYMS, ATIC. Выведение MTX из клетки происходит посредством белков-транспортеров семейства ABC (адаптировано [17]).
Fig. 1. Simplified scheme of intracellular metabolism of MTX. MTX enters the cell through SLC19A1, after that, MTX is transformed into polyglutamate form and inhibits DHFR, TYMS, ATIC. The removal of MTX from the cell is performed by means of membrane transporters ABC (adapted [17]).



Примечание. ABCB1 – АТФ-связывающий кассетный транспортер В1, 5-methyl-THF – 5-метил-тетрагидрофолат, 5,10-methylen-THF – 5,10-метилен-тетрагидрофолат, 10-CHO-TNF – 10-формилтетрагидрофолат, SLC19A1 – переносчик растворенных веществ 1 семейства 19, SHMT – серин гидроксиметилтрансфераза.

самид рибонуклеотид трансформилазу (АТIC). TYMS катализирует превращение дезоксиуридинмонофосфата (dUMP) в дезокситимидинмонофосфат (dTMP) в метаболическом пути синтеза пиримидинов de novo. Подавление активности фермента приводит к нарушению синтеза нуклеиновых кислот, что влечет за собой торможение пролиферации и гибель клетки [17, 18]. Ингибирование DHFR блокирует превращение дигидрофолата (dihydrofolate – DHF) в тетрагидрофолат (tetrahydrofolate – THF), что ведет к нарушениям синтеза ДНК и образования метионина и, в свою очередь, влияет на процессы метилирования. Ингибирующее действие MTX на АТIC приводит к нарушению синтеза пуринов и повышению уровня внеклеточного аденозина, который проявляет выраженные противовоспалительные медиаторные свойства [19]. Также предполагается, что через аденозиновый путь частично реализуется антипролиферативный эффект MTX [13].

Из организма MTX выводится преимущественно через почки путем гломерулярной фильтрации и активной секреции в почечных канальцах. В этом процессе принимает участие ряд белков-переносчиков, имеющих средство к MTX (SLC22A6, SLC22A8, SLC19A1, ABCG2, ABCC2, ABCC4) [11, 15]. Около 10% MTX выводится с желчью с последующей реабсорбцией в кишечнике.

Молекулярные механизмы развития токсичности

Основной механизм развития токсичности MTX обусловлен его неизбирательным воздействием на клетки организма. Действуя на ферменты-участники фолатного цикла, MTX ингибирует синтез нуклеиновых кислот, необходимых для пролиферации не только опухолевых, но и нормальных клеток. Это оказывает негативный эффект преимущественно на те органы и ткани, для которых характерна высокая пролиферативная активность, что способствует развитию кожной токсичности, мукозитов, гепатотоксичности, цитопении и т.д. [11, 14, 17]. Кроме того, что полиглутаматная форма MTX является активным метаболитом, участвующим в различных внутриклеточных процессах, ПГ-MTX способен вызывать оксидативный стресс путем индукции перекисного окисления липидов, активировать провоспалительные сигнальные пути, индуцировать апоптоз клеток. Как предполагается, по такому пути реализуется механизм развития MTX-индуцированной гепатотоксичности [20].

Вариабельность проявлений токсических эффектов MTX у разных пациентов может быть обусловлена полиморфизмом белков-переносчиков в различных тканях, которые отвечают за транспорт MTX через клеточную мембрану и его элиминацию (табл. 1). От скорости этих процессов может зависеть продолжительность экспозиции MTX в клетке и, как следствие, выраженность проявлений токсичности [21].

Вклад в развитие токсичности может также вносить вариабельность активности ферментов, вовлеченных в метаболизм MTX, или его производных (АТIC, DHFR, FPGS, GGH, MTHFR, MC, MCP, TYMS). Одним из таких ферментов является метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR). MTHFR участвует в превращении 5,10-метилентетрагидрофолата, необходимого для синтеза пурина и тимидина, в 5-метилтетрагидрофолат, имеющий важное значение для синтеза белков и метилирования ДНК. Нарушение соотношения различных производных фолиевой кислоты вследствие изменения активности MTHFR, в частности неполное превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, может влиять на устойчивость клеток к действию MTX и повышать риск развития токсичности [18].

Фармакогенетические предикторы токсичности

К настоящему времени проведены многочисленные клинические исследования, направленные на поиск генетических маркеров, которые могут влиять на индивидуальные различия в фармакокинетике MTX, а также на риск разви-

Таблица 1. Белки-переносчики, участвующие в активном транспорте MTX в различных системах организма (адаптировано [11, 15])
Table 1. Transporter proteins involved in active MTX transport in different body systems (adapted [11, 15])

Орган	Транспорт внутрь клетки	Выведение из клетки
ЖКТ	SLC19A1, SLC46A1, FOLR1, SLC01A2	ABCC2, ABCB1, ABCG2 (транспорт в просвет ЖКТ), ABCB1, ABCB3 (транспорт в кровяное русло)
Почки	SLC22A6, SLC22A8	ABCC2, ABCC4, ABCG2
Печень	SLC19A1, SLC01B1, SLC01B3	ABCC3, ABCC4 (транспорт в кровяное русло), ABCB2, ABCB1 (выведение с желчью)
Центральная нервная система	SLC22A6, SLC22A8	ABCB1 (экскреция в цереброспинальную жидкость), ABCB1, ABCB4 (транспорт через гематоэнцефалический барьер)

тия тяжелой токсичности. Основным подходом в этих исследованиях в настоящее время является изучение маркеров в генах-кандидатах, вовлеченных в метаболизм MTX [13, 17, 18, 22]. Также проводится полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies – GWAS), направленный на исследование ассоциаций между генетическими вариантами и фармакокинетикой MTX [23–25]. В результате исследований GWAS выявлен ряд полиморфизмов в гене *SLCO1B1*, ассоциированных с различной скоростью выведения MTX из организма. На сегодняшний день наиболее изучено влияние полиморфных вариантов в генах, участвующих в метаболизме фолиевой кислоты (*MTHFR*, *MTR*, *MTRR* и др.), и генах белков-транспортёров семейств SLC и ABC.

Ген *MTHFR*. Среди множества известных полиморфизмов гена *MTHFR* наиболее изученными являются полиморфные маркеры C677T (rs1801133) и A1298C (rs1801131) [18, 19], однако результаты исследований зачастую противоречивы. Проведены метаанализы, которые показали значимые ассоциации между наличием аллеля *MTHFR* 677T и печеночной токсичностью, миелосупрессией, оральным мукозитом, желудочно-кишечной токсичностью, нейротоксичностью и кожной токсичностью [26, 27]. Также получены данные о роли полиморфизма *MTHFR* A1298C в развитии кожной токсичности и лейкопении [27]. В других метаанализах эти ассоциации не нашли подтверждения [28, 29], и, таким образом, на сегодняшний день не имеется четко установленных корреляций между полиморфизмом гена *MTHFR* и токсичностью MTX. Однако стоит отметить, что в базе данных Pharmgkb.org (<https://www.pharmgkb.org>) маркеру *MTHFR* C677T (rs1801133) присвоен довольно высокий уровень доказательности – 2А.

Также в качестве генов-кандидатов рассматривают другие гены, которые кодируют белки-участники метаболических путей, связанных с MTX: *ATIC*, *DHFR*, *GGH*, *FPGS*, *MTR*, *MTRR*, *TYMS* [13, 14, 21].

Ген *ATIC* кодирует АТIC, ключевой фермент синтеза пуринов. Наиболее изучен полиморфизм АТIC с.347C>G (rs2372536). Выявлена ассоциация между АТIC 347 GG и GC генотипами и токсичностью MTX у пациентов европейского происхождения с ревматоидным артритом [30]. Однако в исследованиях GWAS связи между этим полиморфизмом и фармакокинетикой MTX не обнаружено [23–25].

Ген *DHFR* кодирует фермент DHFR, который конвертирует DHF в THF (см. рис. 1). DHFR является фармакодинамической мишенью MTX, который связывается с этим ферментом в 1000 раз эффективнее, чем фолаты. В ряде исследований не выявлено влияния полиморфизмов в этом гене на фармакокинетическую MTX [23–25, 31]. При анализе полиморфизмов в промоторной области гена *DHFR* показано, что дети с ОЛЛ, носители генотипа -680AA (rs442767), чаще

имели эпизоды тяжелой нейтропении и, соответственно, перерывы в лечении по сравнению с носителями CC и CG генотипов на этапе поддерживающей терапии [32].

Ген *GGH* кодирует фермент GGH, который гидролизует полиглутаматную форму MTX до MTX. Наиболее изучен полиморфизм rs3758149 (-401C>T), расположенный в промоторной области, регулирующей экспрессию гена. Показано, что у пациентов с ОЛЛ, имеющих генотип CC (rs3758149), уровень MTX в плазме крови значительно ниже, чем у носителей TC и TT генотипов [33, 34].

Ген *FPGS* кодирует фермент FPGS, который превращает MTX в ПГ-MTX. Потеря функции этого фермента приводит к снижению внутриклеточной концентрации MTX и резистентности к терапии [35]. Отмечено, что наличие генотипа GG (rs1544105) у пациентов с ОЛЛ приводит к более быстрому снижению концентрации MTX в сыворотке крови через 24 ч после введения по сравнению с AA и AG генотипами [33, 36]. При этом эффективность химиотерапии и, соответственно, общая выживаемость выше у пациентов с генотипом AA, для которых характерен более высокий уровень MTX [36].

Ген *MTR* кодирует витамин B₁₂-зависимую метионин синтазу – MC (5-метилтетрагидрофолат гомоцистеин S-метилтрансферазу); см. рис. 1. MC катализирует метилирование гомоцистеина в метионин с одновременным превращением 5-метил-тетрагидрофолата в THF [35]. Наиболее изучен полиморфизм rs1805087 (с.2756A>G). В большинстве исследований не удалось установить связь между этим полиморфизмом и кинетикой MTX [23–25, 37].

Ген *MTRR* кодирует фермент метионин синтаза редуктазу – MPC (5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеин метилтрансфераза редуктаза), который катализирует восстановление метилкобаламина (одна из форм витамина B₁₂), являющегося кофактором для MC. Наиболее известен полиморфизм rs1801394 (с.66A>G). При исследовании кинетики MTX в зависимости от генотипа у детей с ОЛЛ, получавших высокие дозы препарата, показано, что у носителей AA генотипа (дикий тип) выявляется более высокий уровень MTX в плазме через 24 ч после введения по сравнению с AG и GG генотипами [38]. В этой же работе не обнаружено связи между концентрацией MTX в плазме и развитием мукозита. В дальнейшем проведенный метаанализ показал, что полиморфизм *MTRR* с.66A>G ассоциирован с развитием мукозита у пациентов, получавших терапию MTX [39].

Ген *TYMS* кодирует фермент тимидилат синтазу, который необходим для синтеза de novo пиримидиновых нуклеотидов (см. рис. 1). ПГ-MTX ингибирует фермент и тем самым блокирует образование dTMP из dUMP. Низкая экспрессия *TYMS* в бластных клетках при ОЛЛ связана со снижением антилейкемического эффекта MTX и повышенным риском рецидива [40]. Наиболее изучены полиморфизмы rs34743033 и rs34489327. Полиморфизм rs34743033 представлен разным количеством (двойных, 2R или тройных, 3R) повторов длиной 28 пар оснований, расположенных в 5'-нетранслируемой области (5'-UTR), соответствующие генотипы – 2R/2R, 2R/3R и 3R/3R. Более высокое число повторов приводит к повышенной экспрессии *TYMS* и, возможно, резистентности к терапии MTX и риску развития рецидива [41]. Другой важный полиморфизм rs34489327 представлен делецией 6 нуклеотидов (TTAAAG) в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR). Наличие делеции уменьшает стабильность мРНК и приводит к снижению уровня *TYMS* соответственно. Так как этот фермент является одной из основных мишеней действия MTX, высокий уровень *TYMS* может предрасполагать к отсутствию ответа на терапию MTX [42].

В одной из обзорных работ проанализированы данные о влиянии полиморфизмов в генах белков-транспортёров *ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC2*, *ABCC3*, *ABCC4*, *SLC19A1*, *SLCO1A2*, *SLCO1B1* на фармакокинетику MTX [37]. Наибольшее число исследований касалось следующих маркеров.

Ген *ABCB1* (rs1045642). Ген кодирует АТФ-зависимый транспортёр, который экспрессируется в печени, почках и

желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Аллель T (rs1045642) в ряде работ связан со снижением клиренса MTX.

Ген *ABCG2* (rs2231142). Ген кодирует АТФ-зависимый транспортёр, который экспрессируется в ЖКТ. Аллель A (rs2231142) связан со снижением клиренса MTX в ряде исследований.

Ген *ABCC2* (rs3740065, rs3740066, rs1717620). Ген экспрессируется в клетках печени и почек. Аллель T (rs1717620) в разных исследованиях связан как с повышенным, так и со сниженным клиренсом MTX, в других работах не показана данной взаимосвязи. Аналогичная картина наблюдалась в отношении аллеля C (rs3740065), а также полиморфизма rs3740066.

Ген *ABCC4* (rs868853, rs9516519, rs10219913). Аллель C (rs10219913) и аллель G (rs7317112) ассоциированы со сниженным клиренсом MTX. Напротив, rs868853C и rs9516519G сопровождалась повышенным клиренсом MTX.

Ген *SLC19A1* (rs1051266, rs61510559). Ген кодирует повсеместно экспрессируемый белок-транспортёр, который опосредует поглощение эндогенных восстановленных фолатов и антифолатных ксенобиотиков. Наиболее изучен rs1051266. Аллель A (rs1051266) в разных исследованиях показывал ассоциацию как со сниженным, так и с повышенным клиренсом MTX.

Ген *SLCO1B1* (rs4149056, rs4149009, rs10841753, rs11045818, rs11045872, rs11045879, rs2306283, rs4149081). Ген экспрессируется исключительно клетками печени, где он расположен на базолатеральной мембране гепатоцитов. Субстратами транспортёра являются эндогенные молекулы, такие как билирубин и эстрогены, а также лекарственные препараты, в первую очередь статины и MTX. Исследователи пришли к выводу, что только для этого гена достоверно продемонстрировано влияние на фармакокинетику MTX. Наиболее часто исследуют полиморфизм rs4149056 (с.521T>C). Замена тимидина T на цитозин C уменьшает количество транспортёра на поверхности клетки, что приводит к заметному снижению транспорта MTX in vitro и снижению клиренса MTX in vivo [25]. Другие полиморфизмы в гене *SLCO1B1* также являются клинически значимыми. Маркеры rs4149056 (генотип TT или TC) и rs11045879 (генотип CC и TC) в гене *SLCO1B1* связаны со снижением клиренса при высокодозной терапии MTX в сочетании с более низкой частотой желудочно-кишечной токсичности и в некоторых случаях с повышенной нефро- и гепатотоксичностью [43]. Пациентам с генотипами повышенного риска могут быть рекомендованы более длительное защелачивание вводимых вместе с MTX инфузионных растворов, более продолжительное проведение инфузионной терапии и введение фолиата кальция [44].

Перспективы исследования маркеров токсичности в клинической практике

Токсичность MTX является потенциально опасным для жизни событием при лечении злокачественных опухолей [45]. Несмотря на то, что руководства по идентификации и оценке токсичности MTX [46] интегрированы в современные протоколы лечения злокачественных опухолей у взрослых и детей, они нуждаются в научном обоснованном пересмотре и постоянной модернизации. Современный уровень наших знаний показывает, что фармакогенетика MTX представляет собой достаточно сложную область исследований, поскольку метаболические пути MTX и фолатного цикла вовлекают большое количество ферментов и белков-транспортёров, участвующих в различных ветвях этого процесса [47]. Эти белки кодируются полиморфными генами, таким образом, полиморфизм на генетическом уровне реализуется в различной скорости течения метаболических процессов. Также наблюдаются «ген-генные» взаимодействия, которые могут способствовать развитию сложных взаимосвязей между участниками метаболических путей [48].

Кроме того, существуют взаимодействия между генами и нутриентами, а также очевидна модифицирующая роль диетических компонентов в сложном механизме фолатного

цикла [49]. Использование метода полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) пока не принесло существенных успехов в определении действенных маркеров токсичности МТХ из-за ограниченной статистической мощности. Подход, связанный с анализом генов-кандидатов, не способен идентифицировать новые гены и генетические варианты, которые могут быть использованы в качестве мишеней для лекарств или прогностических маркеров [50], таким образом, он не дает возможности учитывать все соответствующие аспекты метаболизма МТХ. Тем не менее постоянный технологический прогресс предоставляет нам все больше геномных и клинических данных, которые могут помочь исследователям понять и прогнозировать побочные реакции на терапию, а также способствовать достижению более высоких показателей терапии опухолевых заболеваний. Молекулярное профилирование ДНК пациентов с использованием высокопроизводительного секвенирования, как предполага-

ется, позволит создать надежные генетические панели для рутинного клинического фармакогенетического тестирования. Фармакогенетическое тестирование может назначаться перед введением цитотоксических лекарственных средств, комбинаций лекарственных препаратов, используемых в различных фазах химиотерапевтических протоколов при злокачественных новообразованиях [51]. Внедрение персонализированного лечения в повседневную клиническую практику является длительным и сложным процессом, тем не менее есть основания полагать, что индивидуализация протоколов лечения злокачественных новообразований достижима и позволит уменьшить тяжелые проявления токсичности химиопрепаратов, в том числе МТХ.

Раскрытие информации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Махонova Л.А. Современные методы лечения острого лимфобластного лейкоза у детей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1963; с. 14 [Mahonova LA. Sovremeniye metody lecheniya ostrogo limfoblastnogo leykoza u detey. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow, 1963; p. 14 (in Russian)].
- Demidowicz E, Pogorzała M, Łęcka M, et al. Outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia: sixty years of progress. *Anticancer Res.* 2019;39(9):5203-7. DOI:10.21873/anticancer.13717
- Валиев Т.Т. Лимфома Беркитта у детей: 30 лет терапии. *Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского.* 2020;99(4):35-41 [Valiev TT. Lymphoma Berkitta u detey: 30 let terapii. *Pediatriya. Zhurnal im. GN Speranskogo.* 2020;99(4):35-41 (in Russian)].
- Kara MK, Peter DC, Qinglin P, et al. Response-adapted Therapy for the Treatment of Children with Newly Diagnosed High risk Hodgkin lymphoma (AHOD0831): a report from the Children's Oncology Group. *Br J Haematol.* 2019;187(1):39-48. DOI:10.1111/bjh.16014
- Sakura T, Hayakawa F, Sugiura I, et al. High-dose methotrexate therapy significantly improved survival of adult acute lymphoblastic leukemia: a phase III study by JALSG. *Leukemia.* 2018;32(3):626-32. DOI:10.1038/leu.2017.283
- ALL IC-BFM 2009. A randomized trial of the I-BFM-SG for the management of childhood non-B acute lymphoblastic leukemia final version of therapy protocol from August-14-2009. Available at: http://www.bialaczka.org/wp-content/uploads/2016/10/ALLIC_BFM_2009.pdf. Accessed: 28.02.2020 (in Russian)].
- ALL-MB 2015. Режим доступа: <https://fnkc.ru/docs/ALLMB2015.pdf>. Ссылка активна на 22.09.2021 [ALL-MB 2015. Available at: <https://fnkc.ru/docs/ALLMB2015.pdf>. Accessed: 22.09.2021 (in Russian)].
- Bhojwani D, Sabin ND, Pei D, et al. Methotrexate-induced Neurotoxicity and Leukoencephalopathy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2014;32(9):949-59. DOI:10.1200/JCO.2013.53.0808
- Schmiegelow K, Klaus Müller K, Mogensen SS, et al. Non-infectious chemotherapy-associated acute toxicities during childhood acute lymphoblastic leukemia therapy. *F1000Res.* 2017;6:444. DOI:10.12688/f1000research.10768.1
- Sajith M, Pawar A, Bafna V, et al. Serum methotrexate level and side effects of high dose methotrexate infusion in pediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2020;36(1):51-8. DOI:10.1007/s12288-019-01144-3
- Lima A, Sousa H, Monteiro J, et al. Genetic polymorphisms in low-dose methotrexate transporters: current relevance as methotrexate therapeutic outcome biomarkers. *Pharmacogenomics.* 2014;15(12):1611-35. DOI:10.2217/pgs.14.116
- Fowler B. The folate cycle and disease in humans. *Kidney Int Suppl.* 2001;78:S221-9. DOI:10.1046/j.1523-1755.2001.59780221.x
- Suthandiram S, Gan GG, Zain SM, et al. Effect of polymorphisms within methotrexate pathway genes on methotrexate toxicity and plasma levels in adults with hematological malignancies. *Pharmacogenomics.* 2014;15(11):1479-94. DOI:10.2217/pgs.14.97
- Cao M, Guo M, Wu DQ, Meng L. Pharmacogenomics of Methotrexate: current status and future outlook. *Curr Drug Metab.* 2018;19(14):1182-7. DOI:10.2174/1389200219666171227201047
- Mikkelsen TS, Thorn CF, Yang JJ, et al. PharmGKB summary: methotrexate pathway. *Pharmacogenet Genomics.* 2011;21(10):679-86. DOI:10.1097/FPC.0b013e328343d93
- Inoue K, Yuasa H. Molecular basis for pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in rheumatoid arthritis therapy. *Drug Metab Pharmacokin.* 2014;29(1):12-9. DOI:10.2133/dmpk.dmpk-13-rv-119
- Esmaili MA, Kazemi A, Faranoush M, et al. Polymorphisms within methotrexate pathway genes: relationship between plasma methotrexate levels, toxicity experienced and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(6):800-9. DOI:10.22038/ijbms.2020.41754.9858
- Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Ballesteros J, Garcia-Orad A. A systematic review and meta-analysis of MTHFR polymorphisms in methotrexate toxicity prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(6):498-506. DOI:10.1038/tpj.2012.44
- Fukushima H, Fukushima T, Sakai A, et al. Polymorphisms of MTHFR associated with higher relapse/death ratio and delayed weekly MTX administration in pediatric lymphoid malignancies. *Leuk Res Treatment.* 2013;2013:238528. DOI:10.1155/2013/238528
- Ezhilarasan D. Hepatotoxic potentials of methotrexate: understanding the possible toxicological molecular mechanisms. *Toxicology.* 2021;458:152840. DOI:10.1016/j.tox.2021.152840
- Bernsen EC, Hagleitner MM, Kouwenberg TW, Hanff LM. Pharmacogenomics as a tool to limit acute and long-term adverse effects of chemotherapeutics: an update in pediatric oncology. *Front Pharmacol.* 2020;11:1184. DOI:10.3389/fphar.2020.01184
- Stamp LK, Roberts RL. Effect of genetic polymorphisms in the folate pathway on methotrexate therapy in rheumatic diseases. *Pharmacogenomics.* 2011;12(10):1449-63. DOI:10.2217/pgs.11.86
- Trevino LR, Shimasaki N, Yang W, et al. Germline genetic variation in an organic anion transporter polypeptide associated with methotrexate pharmacokinetics and clinical effects. *J Clin Oncol.* 2009;27(35):5972-8. DOI:10.1200/JCO.2008.20.4156
- Ramsey LB, Panetta JC, Smith C, et al. Genome-wide study of methotrexate clearance replicates SLC01B1. *Blood.* 2013;121(6):898-904. DOI:10.1182/blood-2012-08-452839
- Ramsey LB, Bruun GH, Yang W, et al. Rare versus common variants in pharmacogenetics: SLC01B1 variation and methotrexate disposition. *Genome Res.* 2012;22(1):1-8. DOI:10.1101/gr.129668.111
- Spyridopoulou KP, Dimou NL, Hamdrakas SJ, Bagos PG. Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and their association with methotrexate toxicity: a meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics.* 2012;22(2):117-33. DOI:10.1097/FPC.0b013e32834ded2a
- Campbell JM, Bateman E, Stephenson MD, et al. Methotrexate-induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016;78(1):27-39. DOI:10.1007/s00280-016-3043-5
- Umerez M, Gutierrez-Camino A, Muñoz-Maldonado C, et al. MTHFR polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukemia: influence on methotrexate therapy. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2017;10:69-78. DOI:10.2147/PGPM.S107047
- Yao P, He X, Zhang R, et al. The influence of MTHFR genetic polymorphisms on adverse reactions after methotrexate in patients with hematological malignancies: a meta-analysis. *Hematology.* 2019;24(1):10-9. DOI:10.1080/10245332.2018.1500750
- Lee YH, Bae SC. Association of the ATIC 347 C/G polymorphism with responsiveness to and toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatol Int.* 2016;36(11):1591-9. DOI:10.1007/s00296-016-3523-2
- Cheng Y, Chen MH, Zhuang Q, et al. Genetic factors involved in delayed methotrexate elimination in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2021;68(5):e28858. DOI:10.1002/pbc.28858

32. Gervasini G, de Murillo SG, Jiménez M, et al. Dihydrofolate reductase genetic polymorphisms affect methotrexate dose requirements in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia on maintenance therapy. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017;39(8):589-95. DOI:10.1097/MPH.0000000000000908
33. Wang SM, Sun LL, Zeng WX, et al. Influence of genetic polymorphisms of FPGS, GGH, and MTHFR on serum methotrexate levels in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014;74(2):283-9. DOI:10.1007/s00280-014-2507-8
34. Hegyi M, Arany A, Semsei AF, et al. Pharmacogenetic analysis of high-dose methotrexate treatment in children with osteosarcoma. *Oncotarget*. 2017;8(6):9388-98. DOI:10.18632/oncotarget.11543
35. Uhlen M, Fagerberg L, Hallström BM, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347(6220):1260419. DOI:10.1126/science.1260419
36. Huang Z, Tong HF, Li Y, et al. Effect of the polymorphism of folylpolyglutamate synthetase on treatment of high-dose methotrexate in pediatric patients with acute lymphocytic leukemia. *Med Sci Monit*. 2016;22:4967-73. DOI:10.12659/msm.899021
37. Taylor ZL, Vang J, Lopez-Lopez E, et al. Systematic review of pharmacogenetic factors that influence high-dose methotrexate pharmacokinetics in pediatric Malignancies. *Cancers (Basel)*. 2021;13(11):2837. DOI:10.3390/cancers13112837
38. den Hoed MA, Lopez-Lopez E, te Winkel ML, et al. Genetic and metabolic determinants of methotrexate-induced mucositis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J*. 2015;15(3):248-54. DOI:10.1038/tpj.2014.63
39. Maagdenberg H, Oosterom N, Zanen J, et al. Genetic variants associated with methotrexate-induced mucositis in cancer treatment: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021;161:103312. DOI:10.1016/j.critrevonc.2021.103312
40. Sorich MJ, Pottier N, Pei D, et al. In vivo response to methotrexate forecasts outcome of acute lymphoblastic leukemia and has a distinct gene expression profile. *PLoS Med*. 2008;5(4):e83. DOI:10.1371/journal.pmed.0050083
41. Pietrzyk JJ, Bik-Multanowski M, Skoczen S, et al. Polymorphism of the thymidylate synthase gene and risk of relapse in childhood ALL. *Leuk Res*. 2011;35(11):1464-6. DOI:10.1016/j.leukres.2011.04.007
42. de Beaumais TA, Jacqz-Aigrain E. Intracellular disposition of methotrexate in acute lymphoblastic leukemia in children. *Curr Drug Metab*. 2012;13(6):822-34. DOI:10.2174/138920012800840400
43. Roszkiewicz J, Michałek D, Ryk A, et al. SLC01B1 variants as predictors of methotrexate-related toxicity in children with juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2021;50(3):213-7. DOI:10.1080/03009742.2020.1818821
44. Mlakar V, Huezio-Diaz Curtis P, Satyanarayana Uppugunduri CR, et al. Pharmacogenomics in pediatric oncology: review of gene-drug associations for clinical use. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1502. DOI:10.3390/ijms17091502
45. Yousef AM, Farhad R, Alshamaseen D, et al. Folate pathway genetic polymorphisms modulate methotrexate-induced toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019;83(4):755-762. DOI:10.1007/s00280-019-03776-8
46. National Cancer Institute. Cancer Therapy Evaluation Program: Common Toxicity Criteria Manual; National Cancer Institute: Bethesda, MD, USA, 1999; p. 1-29.
47. Assaraf Y. The role of multidrug resistance efflux transporters in antifolate resistance and folate homeostasis. *Drug Resist Updat*. 2006;9(4-5):227-46. DOI:10.1016/j.drug.2006.09.001
48. Relton CL, Wilding CS, Pearce MS, et al. Gene-gene interaction in folate-related genes and risk of neural tube defects in a UK population. *J Med Genet*. 2004;41(4):256-60. DOI:10.1136/jmg.2003.010694
49. Zinck JW, MacFarlane AJ. Approaches for the identification of genetic modifiers of nutrient dependent phenotypes: examples from folate. *Front Nutr*. 2014;1:8. DOI:10.3389/fnut.2014.00008
50. Amos W, Driscoll E, Hoffman JI. Candidate genes versus genome-wide associations: which are better for detecting genetic susceptibility to infectious disease? *Proc Biol Sci*. 2011;278(1709):1183-8. DOI:10.1098/rspb.2010.1920.
51. Pavlovic S, Kotur N, Stankovic B, et al. Pharmacogenomic and pharmacotranscriptomic profiling of childhood acute lymphoblastic leukemia: paving the way to personalized treatment. *Genes (Basel)*. 2019;10(3):191. DOI:10.3390/genes10030191

Статья поступила в редакцию / The article received: 28.07.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 10.12.2021

