

Метотрексат при ревматоидном артрите – 2015: новые факты и идеи

Насонов Е.Л.



Е.Л. Насонов – директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, академик РАН, докт. мед. наук, профессор

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия 115522 Москва, Каширское шоссе, 34А

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia 34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522

Контакты: Евгений Львович Насонов; sokrat@irramn.ru

Contact: Evgeny Nasonov; sokrat@irramn.ru

Поступила 20.07.15

За последнее десятилетие, с широким внедрением новых, эффективных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), произошли серьезные изменения в стратегии лечения ревматоидного артрита (РА): в ее основу легла концепция «Treat to target» («Лечение до достижения цели»). Подчеркивается, что базовая составляющая стратегии – активная ранняя агрессивная терапия метотрексатом (МТ), а при недостаточной эффективности монотерапии МТ – комбинированная терапия МТ и стандартными базисными противовоспалительными препаратами или МТ и ГИБП. Хотя в рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях (РПКИ) и в клинической практике МТ чаще назначается перорально, в настоящее время наблюдается тенденция к более широкому использованию его подкожной формы. Новые данные, полученные в процессе фундаментальных исследований, касающихся расшифровки механизмов действия МТ, и материалы многочисленных РПКИ, наблюдательных исследований и национальных регистров обосновывают уникальное место МТ в лечении РА, его осложнений и сопутствующих коморбидных заболеваний. Целью обзора является анализ новых данных, касающихся механизмов действия и клинической эффективности и безопасности МТ в ревматологии.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; метотрексат; генно-инженерные биологические препараты.

Для ссылки: Насонов Е.Л. Метотрексат при ревматоидном артрите – 2015: новые факты и идеи. Научно-практическая ревматология. 2015;53(4).

METHOTREXATE IN RHEUMATOID ARTHRITIS – 2015: NEW FACTS AND IDEAS Nasonov E.L.

As new effective biological agents (BAs) are being widely introduced, in the past decade there have been serious changes in the rheumatoid arthritis (RA) strategy: its basis was the treat-to-target concept. It is emphasized that the basic strategy component is active early aggressive therapy with methotrexate (MT) and, if MT monotherapy is inadequately ineffective, combined therapy with MT and standard disease-modifying antirheumatic drugs or MT and BAs. Although oral MT is more frequently prescribed in randomized placebo-controlled trials (RPCTs) and in clinical practice, there is now a tendency towards the wider use of its subcutaneous formulation. Novel evidence from fundamental studies dealing with the deciphering of the mechanism of MT action and the materials of numerous RPCTs, observational studies, and national registries substantiate the unique place of MT in the treatment of RA, its complications, and comorbidities. The purpose of the review is to analyze new data on the mechanism of action of MT and its clinical efficacy and safety in rheumatology.

Keywords: rheumatoid arthritis; methotrexate; biological agents.

For reference: Nasonov EL. Methotrexate in rheumatoid arthritis – 2015: New facts and ideas. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2015;53(4).

За последнее десятилетие, наряду с широким внедрением новых, эффективных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) [1–3], произошли серьезные изменения в стратегии лечения ревматоидного артрита (РА): в ее основу легла концепция «Treat to target» («Лечение до достижения цели») [3–11]. При этом подчеркивается, что базовая составляющая стратегии – активная ранняя агрессивная терапия метотрексатом (МТ), а

при недостаточной эффективности монотерапии МТ – комбинированная терапия МТ и стандартными базисными противовоспалительными препаратами (БПВП) или МТ и ГИБП. Хотя в рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях (РПКИ) и в клинической практике МТ чаще назначается перорально, в настоящее время наблюдается тенденция к более широкому использованию его подкожной формы [12]. Новые данные,

полученные в процессе фундаментальных исследований, касающихся расшифровки механизмов действия МТ, и материалы многочисленных РПКИ, наблюдательных исследований и национальных регистров обосновывают уникальное место МТ в лечении РА, его осложнений и сопутствующих коморбидных заболеваний. Целью обзора является анализ новых данных, касающихся механизмов действия и клинической эффективности и безопасности МТ в ревматологии.

Механизмы действия

Напомним, что МТ относится к группе антиметаболитов, по структуре напоминает фолиевую (птерилглутаминовую) кислоту, которая состоит из птеридиновых групп, связанных с парааминобензойной кислотой, соединенной с остатками глутаминовой кислоты. МТ отличается от фолиевой кислоты заменой аминокислотной группы на карбоксильную группу в 4-м положении птеридиновой молекулы и добавлением метилового группы в 10-м положении 4-аминобензойной кислоты [13, 14]. Основной механизм действия МТ определяется антифолатными свойствами препарата. Напомним, что в организме человека фолиевая кислота расщепляется ферментом дигидрофолатредуктазой (ДГФ) с образованием метаболически активных продуктов — дигидрофолиевой и тетрагидрофолиевой кислот, которые принимают участие в конверсии гомоцистеина в метионин, образовании пуринов и тимидилата, необходимых для синтеза ДНК. Поступление (influx) МТ в клетки опосредуется несколькими транспортными системами, к которым относятся восстановленные переносчики фолатов (reduced folate carrier — RFC) и специфические мембранные транспортные белки, которые рассматриваются как фолатные рецепторы. В транспорте (efflux) МТ (и фолиевой кислоты) из клеток участвует группа белков, ассоциирующихся с множественной лекарственной резистентностью, ингибирование которых приводит к увеличению внутриклеточной концентрации МТ. Один из фундаментальных фармакологических эффектов высоких доз МТ, лежащих в основе антипролиферативного эффекта, — инактивация фермента ДГФ, что приводит к истощению запасов внутриклеточных фолатов. Однако более важную роль могут играть другие механизмы. Установлено, что в клетке под влиянием фермента фолилполиглутамат гидролазы МТ (как и другие фолаты) образует активные полиглутаминированные метаболиты, которые участвуют в реализации биологической активности МТ. Эти метаболиты (в отличие от самого МТ) оказывают ингибиторное действие на так называемые «дистальные» фолат-зависимые ферменты, наиболее важным из которых является AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide) трансформилаза. Поскольку ингибирование ДГФ, приводящая к снижению синтеза ДНК, наблюдается главным образом при назначении высоких («онкологических») доз МТ, предполагается, что противовоспалительная активность низких доз МТ реализуется за счет активности полиглутаминированных метаболитов, которые обладают способностью индуцировать образование мощного эндогенного противовоспалительного медиатора — аденозина [15–17].

Новые аспекты антифолатного действия МТ рассмотрены М. Blits и соавт. [18], по данным которых, у пациентов с РА, не получавших МТ, наблюдается увеличение экспрессии широкого спектра генов фолат-зависимых белков в клетках периферической крови (гамма-гло-

тамингидролаза, ДГФ, транспортеры ABCC2, ABCC5 и др.). Лечение МТ приводило к нормализации экспрессии этих генов до нормального уровня. Эти данные свидетельствуют о том, что при РА на фоне воспаления наблюдается существенное увеличение базального метаболизма фолатов в клетках периферической крови пациентов, а лечение МТ приводит к нормализации метаболизма фолатов до нормального уровня.

Молекулярные механизмы противовоспалительной активности МТ в сравнении с ГИБП изучены J. Dugreux и соавт. [19]. Они исследовали «общий молекулярный эффект» (микрочипы GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0) тоцилизумаба (ТЦЗ) и МТ на экспрессию генов белков синовиальной оболочки на фоне лечения этими препаратами. Обнаружено сходство действия ТЦЗ, ритуксимаба (РТМ) и МТ в отношении интерлейкин 6 (ИЛ6-) зависимого и клеточных (Т- и В-лимфоциты) механизмов ревматоидного воспаления. Было показано, что ТЦЗ подавляет экспрессию 3413 генов и усиливает экспрессию 3270 генов, а МТ — 585 и 610 генов соответственно. Оба препарата подавляют экспрессию таких важнейших «провоспалительных» цитокинов/хемокинов, как ИЛ6, ИЛ22, CCL18, CCL13, CCL19, CCL20, генов активации Т-клеток — ИЛ23A, ИЛ17A и др., и усиливают экспрессию генов, связанных с репарацией тканей (*COL1A1*, *COL6A1*, *COL15A1*, *COL16A1* и *COL17A1*).

Важный механизм фармакологического действия МТ связан с его влиянием на Т-регуляторные (T_{reg}) клетки, которые играют фундаментальную роль в поддержании иммунологического гомеостаза и ограничения патогенных эффектов Т-эффекторных клеток при РА и других иммуновоспалительных ревматических заболеваниях [20]. По данным С. Lina и соавт. [21], у пациентов с активным РА до назначения терапии отмечается увеличение уровня CD4+Th17-клеток и снижение CD4+CD25^{high}FoxP3+T_{reg}. На фоне монотерапии МТ или комбинированной терапии МТ и ингибитором ФНОα этанерцептом (ЭТЦ) наблюдается достоверное снижение соотношения Th17/T_{reg}-клеток. Хронизация воспаления при РА свидетельствует о дефекте механизмов, контролирующего иммунный ответ. Это подтверждается данными о связи между нарушением Т-регуляторного контроля Т-эффекторных клеток и активностью РА [22].

Совсем недавно были получены новые данные, свидетельствующие о влиянии МТ на эпигенетические дефекты функции T_{reg} [23, 24]. Напомним, что эпигенетическая регуляция генов, в первую очередь метилирование ДНК, играет существенную роль в контроле их функции [25]. Метилирование ДНК участвует в экспрессии транскрипционного регулятора T_{reg} — FoxP3 (forkhead box P3) [26]. Недавно получены данные о том, что снижение функции T_{reg} у пациентов с ранним РА, не получавших БПВП, ассоциируется со снижением экспрессии CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte protein 4) [23, 27]. Полагают, что механизм, определяющий этот феномен, связан с усилением метилирования фактора транскрипции NFAT (nuclear factor of activated T cells), располагающегося в промотерном участке гена *CTLA-4*. Это приводит к нарушению транскрипционной активности и, как следствие, снижению экспрессии *CTLA-4* [23]. При этом на фоне лечения МТ отмечается усиление экспрессии *FoxP3* и *CTLA-4*, что приводит к нормализации супрессивной функции T_{reg}. Механизм, лежащий в основе этого уникального эпигенетического эффекта МТ, связан со снижением экспрессии гена ДНК метилтрансферазы,

приводящим к существенному уменьшению метилирования ДНК [24].

В-клетки играют важную роль в иммунопатогенезе РА и других иммуновоспалительных ревматических заболеваний (ИВРЗ) за счет многих механизмов, включая синтез аутоантител и цитокинов, выполнения антиген-презентирующей функции, вызывающей активацию аутореактивных Т-клеток [28]. Недавно были получены данные об анти-В-клеточной активности МТ. Ранее было показано, что МТ снижает общее число В-клеток в периферической крови [29]. В недавних исследованиях продемонстрировано, что при РА и при ювенильном идиопатическом артрите на фоне лечения низкими дозами МТ (но не монотерапии ЭТЦ) наблюдается снижение числа «переходных» В-клеток [30, 31] и концентрации основных классов иммуноглобулинов [31]. Следует напомнить, что «переходные» В-клетки играют важнейшую роль в поддержании иммунологической толерантности, опосредуемой В-клетками [32]. В этой контрольной точке (checkpoint) происходит негативная селекция В-клеток, экспрессирующих аутореактивные рецепторы, которые подвергаются делеции или переходят в состояние анергии. Можно полагать, что этот эффект позволяет объяснить механизмы снижения иммуногенности ГИБП на фоне комбинированной терапии МТ и ГИБП (см. ниже). Примечательно, что, в отличие от МТ, лечение ЭТЦ приводило к снижению синтеза BAFF (В cell-activating factor), который играет важную роль в дифференцировке и пролиферации В-клеток [33]. В целом полученные данные позволяют объяснить более высокую эффективность комбинированной терапии МТ и ЭТЦ по сравнению с монотерапией ЭТЦ.

Новый аспект противовоспалительной и иммуномодулирующей активности МТ связан с ингибцией Syk (Spleen tyrosine kinase), которая рассматривается как ключевой регулятор функциональной активности В-клеток, а именно — генерации клеток памяти и синтеза аутоантител плазматическими клетками, опосредуемой В-клеточными рецепторами (ВКР), Fc-рецепторами и другими лигандами [34]. По данным G. Coffey и соавт. [34], при РА МТ и ингибитор Syk (PRT062607) подавляют Syk-зависимую активацию В-клеток. Этот эффект связывают со способностью МТ подавлять синтез «провоспалительных цитокинов» (в частности, ИЛ2), снижающих порог В-клеточной активации. В нашем исследовании получены важные данные, свидетельствующие о способности МТ подавлять синтез ИЛ17А — цитокина, играющего центральную роль в иммунопатогенезе РА [35]. В то же время материалы клинических исследований продемонстрировали низкую эффективность ингибитора Syk — фостаматинида в виде монотерапии [36, 37], а также комбинированной терапии этим препаратом и МТ у пациентов с РА [38, 39].

Новый механизм действия МТ при широком круге ИВРЗ и злокачественных новообразований связан со способностью препарата подавлять активность Janus-ассоциированных киназ (JAK) [40–42]. Напомним, связывание цитокинов с рецепторами запускает процесс фосфорилирования и активации внутриклеточных молекул, осуществляющих трансдукцию цитокин-опосредованных активационных сигналов с клеточных рецепторов к ядру клеток. Фосфорилирование (донация отрицательно заряженных фосфатных групп от аденозинтрифосфата — АТФ — клеточным белкам) приводит к конформационным изменениям структуры белков, вызывая активацию и деактивацию

многих внутриклеточных ферментов. Протеинкиназы — основные ферменты, отвечающие за фосфорилирование белков. К семейству так называемых нерецепторных тирозинкиназ относятся более 10 молекул, среди которых особый интерес представляют JAK, функционально тесно связанные цитоплазматическими белками, получившими название STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription), а также Syk. Путь JAK-STAT передает сигналы от цитокинов через соответствующие трансмембранные рецепторы к ядерным генам-мишеням. В настоящее время охарактеризовано четыре типа ассоциированных с рецепторами JAK: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2 — и около 40 рецепторов цитокинов (как «провоспалительных», так и «антивоспалительных»), использующих для внутриклеточной сигнализации путь JAK-STAT, который является ключевым компонентом регуляции иммунитета и гемопоэза. Механизм действия тофацитиниба (ТОФА) — первого ингибитора JAK, разрешенного для лечения РА, — заключается в обратимой конкурентной ингибции АТФ-связывающих участков Jak1, Jak2 и Jak3 и в минимальной степени Tyk2 [41]. В недавних исследованиях было показано, что МТ в физиологических концентрациях эффективно блокирует сигнализацию JAK/STAT, не влияя на другие сигнальные пути, связанные с фосфорилированием белков [43], в том числе фосфорилирование STAT5 в клетках, экспрессирующих мутированный *JAK2V617F*, ассоциирующийся с миелопролиферативными опухолями. По выраженности действие МТ было сходным с таковым специфического ингибитора JAK2 рулокситиниба (препарат зарегистрирован для лечения миелопролиферативных опухолей и полицитемии) и не зависело от подавления активности ДГФ. Более того, под действием МТ клетки сохраняли способность реагировать на физиологическую стимуляцию JAK2 эритропоэтином. Важно подчеркнуть, что ингибция не только JAK3 (ТОФА), но и JAK1 и JAK2 рассматривается как перспективное направление в лечении иммуновоспалительных заболеваний человека [42]. Например, имеются данные, что препарат барицитиниб (ингибитор JAK2 и JAK1) весьма эффективен в комбинации с МТ при недостаточной эффективности монотерапии фиксированными дозами МТ [44].

Имеются данные и о других молекулярных механизмах действия МТ. Так, по данным Y. Kuroiwa и соавт. [45], МТ в низких концентрациях связывается с HMG1 (high-mobility group box 1) — негистонным ядерным белком, который рассматривается как важный внеклеточный медиатор воспаления (алармин) при ИВРЗ [46]. По данным авторов, *in vitro* МТ подавлял индуцированный HMG1 синтез фактора некроза опухоли α (ФНО α) макрофагами. Кроме того, имеются данные, что МТ обладает способностью активировать JNKs (c-JUN N-terminal kinase) — представителя семейства митоген-активированных протеинкиназ, что в свою очередь приводит к активации генов проапоптоза и увеличивает чувствительность клеток к апоптозу [47].

В контексте эффективности МТ в комбинации с ГИБП представляют интерес данные M. Hashizume и соавт. [48], которые на модели артрита, индуцированного глюкозо-6-фосфат изомеразой, установили, что блокада синтеза ИЛ6 с использованием моноклональных антител существенно увеличивает противовоспалительный эффект МТ. Оказалось, что это связано со способностью ИЛ6 блокировать экспрессию фолатного транспортера SLC19A1 и тем самым поступление МТ в клетки-мишени.

Наши результаты [49], основанные на использовании мультиплексной технологии xMAP, свидетельствуют о том, что у пациентов с ранним РА на фоне лечения подкожной формой МТ (программа РЕМАРКА) через 12 нед наблюдается достоверное снижение концентрации «провоспалительных» цитокинов/хемокинов, таких как ИЛ6, ИЛ17, ФНО α , CXCL10 (C-X-C motif chemokine 10), а через 24 нед — ИЛ6, ИЛ9, CXCL10, а также увеличение уровня «антивоспалительного» цитокина — ИЛ10, что коррелирует со снижением активности заболевания. Представляют интерес полученные нами результаты о снижении концентрации CXCL10 (IP10 — Interferon gamma-induced protein 10). IP10 — хемокин, обладает способностью индуцировать активацию молекул адгезии, регулирует миграцию Т-клеток и естественных киллерных клеток в зону воспаления, клеточный апоптоз и др. Примечательно, что моноклональные антитела к IP10 весьма эффективны при РА [50]. При этом одним из наиболее значимых биологических эффектов ингибитора JAK ТОФА было снижение сывороточной концентрации IP10 [51]. Эти данные подтверждают представленные выше материалы, свидетельствующие о сходстве молекулярных механизмов действия МТ и ТОФА, связанных с влиянием на JAK-STAT сигнальный путь регулирования синтеза «провоспалительных» цитокинов.

Полиглутамирование метотрексата

Роль полиглутамирования МТ в реализации его молекулярных эффектов детально рассмотрена в недавно опубликованном обзоре [52]. Напомним, что по современным представлением МТ рассматривается как пролекарство, представляющее собой неактивную молекулу [53], и приобретает биологическую активность после проникновения в клетку, где под действием фермента фолилполиглутамат синтетазы превращается в активные формы — МТ полиглутамата (МТПГ). Предполагается, что применение МТ можно оптимизировать, контролируя концентрацию МТПГ в эритроцитах [54, 55]. Действительно, имеются данные, что клинический эффект лечения МТ у больных РА коррелирует с уровнем МТПГ в эритроцитах [56]. Важно, что низкий базальный уровень фолатов в эритроцитах ассоциируется с высокой активностью РА и отсутствием эффекта на фоне лечения МТ в течение первых 3 мес терапии [57]. Также было показано, что прием ГК ассоциируется с более высоким накоплением МТПГ в эритроцитах, что в свою очередь коррелирует со снижением активности РА [58]. Примечательно, что перевод больных РА с перорального на парентеральное применение МТ повышает концентрацию МТПГ в эритроцитах, что коррелирует со значительным увеличением эффективности МТ [59].

Влияние метотрексата на иммуногенность генно-инженерных биологических препаратов

В настоящее время показано, что ГИБП обладают иммуногенностью, характеризующейся способностью индуцировать нежелательный иммунный ответ с образованием антилекарственных антител (АЛА), направленных против новых чужеродных эпитопов [60–62]. При ИВРЗ иммуногенность ГИБП приводит к нарушению фармакокинетики и уменьшению сывороточной концентрации препаратов до субоптимального уровня, снижению эффективности терапии, развитию инфузионных реакций и аутоиммунных нарушений, увеличению риска тромбозов.

Одним из основных подходов к снижению иммуногенности ГИБП является применение МТ [61]. По данным метаанализа, применение МТ снижает частоту обнаружения антител к ИНФ и АДА на 41%: относительный риск (ОР) 0,59; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,50–0,70 [63]. Хотя механизмы, определяющие способность МТ снижать иммуногенность, до конца не ясны, полагают, что это связано со способностью препарата подавлять раннюю экспансию Т-клеток и индуцировать толерантность к чужеродным белкам [64], увеличивать клиренс АЛА [65] и, как указано выше, подавлять функциональную активность В-клеток.

В недавних исследованиях было показано, что увеличение концентрации МТПГ в эритроцитах на фоне комбинированной терапии МТ и инфликсимабом (ИНФ) ассоциируется с улучшением профиля фармакокинетики и снижением иммуногенности ИНФ [66]. У пациентов с РА, получавших комбинированную терапию МТ и адалимумабом (АДА), отмечена прямая корреляция между дозой МТ, его клинической эффективностью и снижением иммуногенности АДА [67].

Эффективность

Данные, касающиеся эффективности и безопасности МТ, детально представлены в наших предыдущих публикациях [5–7, 68], обзорах других авторов [69–71] и Кокрановском метаанализе [72]. Поэтому мы ограничимся анализом результатов некоторых новых исследований, касающихся эффективности МТ при РА.

S. Azenova и соавт. [73] проанализировали данные о течении заболевания у пациентов с РА (n=1007), наблюдавшихся в Клинике раннего артрита (Лейден) с 1993 по 2011 г. Установлено, что одним из наиболее важных факторов достижения стойкой безлекарственной ремиссии является раннее начало лечения МТ: отношение шансов (ОШ) = 113 (95% ДИ 0,48–2,64) в период с 1996 по 1998 г., ОШ=2,39 (95% ДИ 1,07–5,32) в период с 1999 по 2004 г. и ОШ=3,72 (95% ДИ 1,60–8,62) в период с 2005 по 2011 г., когда пациенты получали строго контролируемую терапию этим препаратом. При этом у пациентов, достигших ремиссии, отмечена нормализация функционального состояния суставов. Эти данные свидетельствуют о том, что раннее контролируемое применение МТ является важнейшим фактором последующего достижения стойкой безлекарственной ремиссии при РА.

В ретроспективное исследование J. Zhang и соавт. [74] было включено 26 510 пациентов пожилого возраста с РА, наблюдавшихся в рамках программы Medicare (федеральная программа медицинского страхования для населения старше 65 лет). Авторы исследовали связь между приемом МТ и длительностью приема ГИБП, включая ЭТЦ, ИНФ, АДА, абатацепт (АБЦ) и ТЦЗ. Установлено, что пациенты, которым была начата монотерапия ГИБП, имеют достоверно более высокую вероятность прекращения лечения (ОШ=1,4; 95% ДИ 1,3–1,5), чем пациенты, получавшие комбинированную терапию МТ и ГИБП. В другом исследовании, выполненном этой же группой авторов [75], было показано, что среди пациентов программы Medicare только 38% пациентов получают адекватную дозу МТ (>20 мг/нед). Примечательно, что среди пациентов, которым была инициирована терапия ГИБП, только половина получали эффективную дозу МТ (>20 мг/нед) и лишь 5% — подкожную форму МТ, а 8% — комбинированную терапию МТ, гидро-

сиклорохином (ГХ), сульфасалазином (СУЛЬФ) или лефлуномидом (ЛЕФ).

А.-В. Ага и соавт. [76] проанализировали данные регистра NOR-DMARD, в который было включено 2573 пациента, наблюдавшихся с 2000 по 2010 г. Среди них 1855 пациентов получали монотерапию МТ, 707 пациентов — комбинированную терапию МТ и ингибиторами ФНО α . Средняя продолжительность заболевания до постановки диагноза у пациентов, получавших монотерапию МТ, составила 0,2 (0,01–2,8) года, а комбинированную терапию — 5,7 (2,0–13,7) года. Установлено, что у пациентов, получавших как монотерапию МТ, так и комбинированную терапию МТ и ГИБП, наблюдаются достоверное существенное снижение активности РА и нарастание числа пациентов в стадии ремиссии ($p < 0,001$ во всех случаях).

Интересные данные получены S. Asai и соавт. [77], которые провели ретроспективное когортное исследование в рамках многоцентрового регистра, касающееся исходов РА в отношении потребности в протезировании крупных суставов. Оказалось, что частота протезирования суставов была достоверно ниже ($p = 0,032$) у пациентов, получавших комбинированную терапию МТ, ЭТЦ и АДА, чем у пациентов, не получавших МТ (ОШ=0,36; 95% ДИ 0,20–0,65).

По данным M. L'Ami и соавт. [78], сочетанное применение МТ оказывает существенное влияние на прогноз у пациентов с РА в течение 2 лет наблюдения. Установлено, что у пациентов, получавших комбинированную терапию МТ и АДА, развитие стойкой ремиссии наблюдалось достоверно чаще, чем у получавших монотерапию АДА (42% vs 18%; $p = 0,001$; ОШ=2,3; 95% ДИ 1,4–3,9). Напротив, развитие ремиссии на фоне лечения ЭТЦ не зависело от сопутствующего применения МТ (33% vs 28%; $p = 0,245$; ОШ=1,1; 95% ДИ 0,8–1,6). Прекращение лечения АДА имело место у 56% пациентов, не получавших МТ, и только у 31% получавших комбинированную терапию МТ и АДА ($p < 0,001$). Примечательно, что отмена ЭТЦ также чаще наблюдалась у пациентов, не получавших МТ (48%), чем у получавших комбинированную терапию МТ и ЭТЦ (36%; $p = 0,015$).

Большой интерес представляют материалы метаанализов и систематических обзоров, посвященных эффективности и безопасности комбинированной терапии МТ и ГИБП по сравнению с монотерапией ГИБП [79, 80]. F. Buckley и соавт. [79] проанализировали материалы 28 РПКИ, в которые были включены пациенты, получавшие ГИБП и ТОФА. Установлено, что в комбинации с МТ все ГИБП и ТОФА обладают сходной эффективностью по критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) 20/50/70. При этом эффективность комбинированной терапии всеми ГИБП, за исключением ТЗЦ, была выше в комбинации с МТ, чем в виде монотерапии, в то время как монотерапия ТЗЦ не уступала по эффективности комбинированной терапии ТЗЦ и МТ. В то же время, по данным T.S. Jorgensen и соавт. [80], все ГИБП были более эффективны в комбинации с МТ, чем в виде монотерапии: АБЦ (ОШ=1,27; 95% ДИ 0,97–1,67), АДА (ОШ=1,42; 95% ДИ 1,24–1,61), ЭТЦ (ОШ=1,44; 95% ДИ 1,22–1,69), ГЛМ (ОШ=1,6; 95% ДИ 1,13–2,27), ИНФ (ОШ=3,54; 95% ДИ 1,38–9,08), РТМ (ОШ=1,31; 95% ДИ 0,74–2,32), ТЦЗ (ОШ=1,24; 95% ДИ 1,03–1,51). В целом вероятность развития эффекта (ACR50) на фоне комбинированной терапии МТ и ГИБП составила: ОШ=1,36 (95% ДИ 1,24–1,49). При этом прерывание лечения из-за нежелательных реак-

ций (НР) на фоне комбинированной терапии МТ и ГИБП была такая же, как и при монотерапии ГИБП (ОШ=1,17; 95% ДИ 0,94–1,44; $p = 0,16$). Следует особо подчеркнуть, что при раннем РА только комбинированная терапия МТ и ТЦЗ (8 мг/кг) более эффективна, чем монотерапия МТ, в отношении всего спектра клинических, структурных и функциональных нарушений [81]. Монотерапия ТЦЗ (8 мг/кг) и комбинированная терапия ТЦЗ (4 мг/кг) и МТ оказались эффективнее монотерапии МТ только в отношении частоты ремиссии (DAS28-COЭ <2,6). Поскольку различия в динамике клинических параметров активности РА были статистически не достоверны, это, как полагают, в основном связано с выраженным подавлением ТЦЗ острофазовых лабораторных маркеров воспаления, вносящих большой вклад в интегральный показатель активности DAS28 [82]. Сходные данные о более высокой эффективности комбинированной терапии ТЦЗ и МТ, по сравнению с монотерапией ТЗЦ, получены в исследовании SURPRISE [83]. По данным T. Kojima и соавт. [84], комбинированная терапия МТ и ТЦЗ особенно эффективна у пациентов с активным РА. Так, при значении индекса DAS28 >5,1 комбинированная терапия МТ и ТЦЗ достоверно увеличивала вероятность достижения ремиссии (ОШ=2,54; 95% ДИ 1,11–5,38), по сравнению с монотерапией ТЦЗ. Имеются данные о более высокой эффективности комбинированной терапии МТ и АБЦ, чем монотерапии АБЦ. Так, по данным N. Takahashi и соавт. [85], которые проанализировали результаты применения АБЦ у 419 пациентов с РА, наблюдавшихся в рамках Tsugumai Biologics Communication Registry, значение индекса DAS28-СРБ было достоверно ниже у пациентов, получавших комбинированную терапию МТ и АБЦ через 4, 12 и 52 нед, чем монотерапию АБЦ (2,83 vs 3,27; $p < 0,01$). Частота развития ремиссии в эти сроки также была выше на фоне комбинированной терапии, чем монотерапии ($p < 0,01$). В исследовании AVERT (Assessing Very Early Rheumatoid arthritis Treatment) [86] было показано, что только комбинированная терапия МТ и АБЦ эффективнее монотерапии МТ, в то время как монотерапии АБЦ менее эффективна, чем комбинированная терапия МТ и АБЦ, и не отличается от монотерапии МТ. Так, частота развития ремиссии (индекс CDAI <2,8) составила на фоне комбинированной терапии МТ и АБЦ 42%, монотерапии АБЦ — 31%, а монотерапии МТ — 27%. Эффект (ACR70) имел место в сравниваемых группах у 62,1; 38,8 и 34,5% пациентов соответственно.

Все эти данные подтверждают правомерность рекомендации 18, касающейся лечения РА, сформулированной Ассоциацией ревматологов России [4], о том, что «для увеличения эффективности терапии лечение ГИБП целесообразно проводить в комбинации с МТ (*уровень доказательности А*)».

В то же время данные метаанализа N. Graudal и соавт. [87], в котором были проанализированы результаты основных исследований, касающихся сравнительной эффективности терапии МТ и ГИБП, а также МТ и стандартными БПВП (включая глюкокортикоиды — ГК), свидетельствуют о сходной клинической эффективности терапии ГИБП и БПВП в комбинации и замедлении прогрессирования деструкции суставов при раннем РА. Таким образом, наиболее рациональные подходы к лечению РА с использованием МТ в комбинации с другими противоревматическими препаратами, и особенно место ГК [68], требуют дальнейшего изучения.

Нежелательные реакции

Поражение легких относится к числу НР, нередко развивающихся на фоне лечения МТ [88–92], его частота в среднем составляет 5% [90–92]. Однако материалы длительных наблюдений не подтверждают мнение о высоком риске патологии легких у пациентов с РА на фоне длительного приема МТ [93–95]. В то же время поражение легких относится к числу классических системных проявлений РА, во многом определяющих неблагоприятный прогноз при этом заболевании [93, 96–99]. Учитывая очень высокую эффективность при РА МТ, лечение которым ассоциируется с увеличением продолжительности жизни пациентов, корректная оценка патологии легких на фоне лечения МТ имеет большое клиническое значение. В связи с этим большой интерес представляют данные метаанализа R. Conway и соавт. [100]. Авторы обобщили материалы 22 исследований, включавших 8584 пациента. Отмечено минимальное (хотя и статистически значимое) увеличение риска всех легочных НР (ОШ=1,10; 95% ДИ 1,02–1,19), респираторных инфекций (ОШ=1,11; 95% ДИ 1,02–1,21) на фоне лечения МТ по сравнению с контролем. В то же время на фоне лечения МТ не отмечено достоверного нарастания риска летальных исходов, связанных с поражением легких (ОШ=1,53; 95% ДИ 0,46–5,01) и поражения легких, не связанного с инфекцией (ОП=1,02; 95% ДИ 0,65–1,60). Хотя выявлено увеличение частоты пневмонита (ОШ=7,81; 95% ДИ 1,76–34,72), все исследования, выявившие это осложнение, были выполнены до 2001 г. Более того, имеются данные об эффективности монотерапии МТ или комбинированной терапии МТ и другими БПВП в отношении поражения легких, связанного с РА [101]. В другом метаанализе, выполненном той же группой авторов [102], получены сходные данные об отсутствии риска респираторных НР (ОШ=1,03; 95% ДИ 0,90–1,17), легочных инфекций (ОШ=1,02; 95% ДИ 0,88–1,19) и поражения легких, не связанного с инфекциями (ОШ=1,07; 95% ДИ 0,58–1,19), на фоне лечения МТ у пациентов с псориазом, псориатическим артритом и воспалительными заболеваниями кишечника.

Дифференциальная диагностика гепатотоксичности МТ и поражения печени вследствие других причин (само заболевание, сопутствующая терапия, инфекция, коморбидные состояния и др.) нередко затруднена из-за низкой специфичности концентрации печеночных ферментов. По данным метаанализа R. Conway и соавт. [103], которые проанализировали материалы 32 исследований, включавших 13 777 пациентов, в целом применение МТ ассоциировалось с увеличением общего числа «печеночных» НР (ОР=2,16; 95% ДИ 1,73–2,77), умеренного (ОР=2,16; 95% ДИ 1,67–2,79) и выраженного (ОР=2,63; 95% ДИ 1,90–3,64). Однако лечение МТ не приводило к увеличению риска печеночной недостаточности, цирроза печени или «печеночной» летальности (ОР=0,12; 95% ДИ 0,001–1,09). В других недавних исследованиях было показано, что современная стратегия применения МТ и мониторинг НР позволяют существенно снизить частоту гиперферментемии (22%), а увеличение уровней печеночных трансаминаз более чем в 2 раза по сравнению с верхней границей нормы наблюдается менее чем у 1% пациентов [104, 105]. Важно, что при проведении биопсии печени у пациентов с РА, получавших лечение МТ, у которых имело место увеличение концентрации печеночных ферментов, в подавляющем большинстве случаев выявляется поражение

печени, не связанное с применением МТ [106]. По данным систематического обзора C. Salliot и D. van der Heijde [107], в котором были проанализированы материалы исследований, касающиеся длительного (>2 лет) применения МТ, минимальное увеличение концентрации печеночных ферментов имело место у каждого пятого пациента, получавшего МТ, но лишь менее 4% прекратили лечение из-за гепатотоксичности, а развития печеночного фиброза (или цирроза) не отмечено по крайней мере в течение 4 лет наблюдения. Вероятно, для развития клинически значимой патологии печени требуется очень длительное применение МТ в высоких дозах. Следует подчеркнуть, что лечение ингибиторами ФНОα также приводит к увеличению концентрации печеночных ферментов, хотя развитие тяжелого поражения печени отмечается очень редко [108, 109]. Частота поражения печени на фоне лечения ЛЕФ такая же, как и при терапии МТ [104], и существенно нарастает у пациентов, получающих комбинированную терапию МТ и ЛЕФ. Монотерапия СУЛЬФ и особенно комбинированная терапия МТ и СУЛЬФ также ассоциируются с нарастанием частоты печеночных НР [110].

В отношении безопасности МТ представляет интерес проспективное наблюдательное исследование L. Abasolo и соавт. [111], посвященное переносимости различных схем терапии РА, в которое было включено 1202 пациента. Установлено, что прерывание лечения, связанное с развитием НР, достоверно ассоциируется с пожилым возрастом, длительностью терапии, приемом ГК и комбинированной терапией как стандартными БПВП, так и БПВП и ГИБП. Исключение составила комбинированная терапия МТ и ГИБП, которая оказалась самым безопасным методом лечения пациентов с РА (ОШ=0,24; 95% ДИ 0,09–0,6).

Таким образом, риск развития НР на фоне лечения МТ, в первую очередь таких потенциально тяжелых, приводящих к необходимости прервать лечение МТ, как легочные и печеночные, представляется существенно преувеличенным [112, 113], что должно послужить предостережением против необоснованной отмены МТ при РА.

Влияние на сердечно-сосудистую систему

Раннее развитие атеросклероза – характерное проявление РА, служащее основной причиной сокращения продолжительности жизни пациентов [114]. В настоящее время убедительно показано, что МТ не только эффективен в отношении контроля клинической активности РА, но и существенно снижает риск кардиоваскулярной летальности. Эта проблема детально рассмотрена в опубликованных нами обзорах [115, 116] и подтверждена в серии метаанализов проспективных и ретроспективных наблюдательных исследований [117–119].

Механизмы действия МТ на сосудистую стенку во многом связаны с противовоспалительным действием препарата, снижающего концентрацию «провоспалительных» медиаторов атерогенеза. Однако недавно появились новые данные, позволяющие по-новому взглянуть на механизмы антиатерогенного действия МТ. Предполагается, что, поскольку дисфункция эндотелия предшествует развитию атеросклероза, большое значение имеет применение препаратов, способных активировать цитопротективные сигнальные пути, предотвращающие (или отменяющие) дисфункцию эндотелия. Один из этих важных цитопротективных путей регулируется активированной аденозинмонофосфатом (АМФ) киназой (АМФК). Установлено, что в

клетках сосудистого эндотелия АМФК проявляет многообразные протективные эффекты, включающие усиление фосфорилирования синтетазы оксида азота и синтеза этого медиатора, предотвращение апоптоза и окислительного повреждения эндотелиальных клеток [120–124]. По данным С.С. Thornton и соавт. [125], на модели NZWxBXS F1 мышей, у которых развивается воспалительная васкулопатия, МТ существенно снижал выраженность повреждения сосудов и повреждение внутренних органов. Этот эффект был связан с активацией АМФК, опосредуемой фосфорилированием CREB (cyclic AMF response element-binding protein), и не зависел от синтеза аденозина.

У пациентов, страдающих РА, отмечается снижение противовоспалительной и антиоксидантной активности липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) [126, 127] и ослабление способности осуществлять обратный транспорт холестерина (ХС) из клеток [128]. Следует напомнить, что обратный транспорт ХС из макрофагов осуществляется главным образом за счет мембранных транспортеров, к которым относятся SR-B1 (scavenger receptor class B type 1), ABCA1 (ATP-binding cassette A1) и ABCG1 (ATP-binding cassette G1) [129, 130]. При этом параметр, получивший название «способность к обратному транспорту холестерина» (СЕС — serum cholesterol efflux capacity), коррелирует с функцией сосудистой стенки и риском развития атеросклероза [131–134]. По данным N. Ronda и соавт. [135], лечение МТ ассоциируется с увеличением концентрации ЛПВП, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и ХС в сыворотке на фоне опосредованного ABCA1 и SR-B1 усиления обратного транспорта ХС. Установлено также, что лечение АДА приводило к увеличению концентрации ЛПВП, существенному снижению способности сыворотки вызывать насыщение ХС макрофагов, захватыванию ХС макрофагами. Эти данные свидетельствуют о том, что снижение кардиоваскулярного риска на фоне лечения МТ (и ингибиторами ФНО α) при РА связано не только с противовоспалительными эффектами этих препаратов, но и со способностью оказывать специфический антиатерогенный эффект, опосредуемый прямым влиянием на функцию липопротеидов, их транспорт и поглощение ХС макрофагами.

Выраженное противовоспалительное и антиатерогенное действие, хороший профиль безопасности и многочисленные данные о кардиопротективном эффекте МТ при РА и псориазе послужило основанием для проведения РПКИ, целью которого было подтверждение гипотезы о воспалительной природе атеросклероза [135, 136] как в общей популяции пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС) [137, 138], так и у больных РА [139]. В исследование CIRT (The Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) [137, 138] планируется включить 7000 пациентов, перенесших инфаркт миокарда (ИМ) и страдающих сахарным диабетом 2-го типа или метаболическим синдромом. Больные будут разделены на две группы: получающие низкие дозы МТ (15–20 мг/нед) и плацебо. Первичной конечной точкой исследования будет нефатальный ИМ, нефатальный инсульт или летальный исход, связанный с кардиоваскулярной патологией, а вторичной конечной точкой — общая летальность, или потребность в реваскуляризации миокарда, или застойная сердечная недостаточность в сочетании с первичными конечными точками. В исследование РПКИ CADERA (Coronary Artery Disease Evaluation in Rheumatoid Arthritis) войдут пациенты, кото-

рые будут получать терапию МТ (со стандартными БПВП или без них) и комбинированную терапию МТ и ЭТЦ. Конечной точкой исследования будет широкий спектр показателей магнитно-резонансной томографии, отражающих патологию коронарных сосудов и миокарда.

Необходимо особо подчеркнуть, что, по данным длительного (25 лет) наблюдательного исследования, включавшего 5626 пациентов, лечение пациентов с РА МТ в течение более чем 1 года ассоциируется с 70% снижением летальности (ОШ=0,30; 95% ДИ 0,09–1,03) [140]. Полагают, что из-за невозможности проведения в силу этических ограничений длительных контролируемых исследований, направленных на оценку вклада лечения МТ в продолжительность жизни пациентов с РА, эти данные убедительно свидетельствуют в пользу необходимости широкого применения МТ в течение максимально возможного времени с целью улучшения жизненного прогноза пациентов [141].

Подкожная форма метотрексата

Согласно пункту 13 проекта рекомендаций по лечению РА, подготовленных группой экспертов Ассоциации ревматологов России, «при недостаточной эффективности (или плохой переносимости) таблетированной формы МТ, до смены терапии БПВП и назначения ГИБП, следует перевести пациентов на парентеральную (подкожную) форму препарата (*уровень доказательности В*); у пациентов с РА с высокой активностью, которым показано назначение высокой дозы МТ (≥ 15 мг), рекомендуется начинать лечение с подкожной формы препарата (*уровень доказательности С*) [4].

Действительно в настоящее время получено много данных, свидетельствующих о более высокой эффективности и переносимости подкожной лекарственной формы МТ по сравнению с таблетированной формой препарата [5, 142]. Остановимся только на недавних публикациях, подчеркивающих целесообразность включения подкожной формы МТ в план ведения пациентов с РА. G.S. Hazlewood и соавт. [143] представили материалы многоцентрового проспективного когортного исследования, включавшего 666 пациентов с ранним РА (длительность <6 мес), из которых 417 получали пероральную форму МТ, а 249 — подкожную. Пациенты, получавшие подкожную форму МТ, в среднем получали более высокую дозу препарата (22,3 мг/нед), чем принимавшие МТ перорально (17,2 мг/нед). Через год смена терапии потребовалась 77% пациентов, получавших МТ перорально, и только 49% пациентов в группе подкожного введения МТ. Применение подкожной формы МТ ассоциировалось с более низким риском неэффективности лечения (ОШ=0,55; 95% ДИ 0,39–0,79). Применение подкожной формы МТ ассоциировалось с более существенным снижением усредненного индекса DAS28 (-0,38) и тенденцией к нарастанию шансов достижения ремиссии (ОШ=1,2; 95% ДИ 1,1–1,3). R.V. Muller и соавт. [144] провели ретроспективный анализ группы пациентов (n=77), которым было инициировано лечение подкожной формой МТ в качестве первого БПВП. В течение 1,8 года наблюдения 53% пациентов продолжали получать МТ подкожно и не нуждались в интенсификации терапии в отношении назначения ГИБП. До назначения терапии средние значения индекса DAS28 у пациентов, получавших монотерапию подкожной формой МТ (DAS28=4,9) и комбинированную терапию МТ и ГИБП (DAS28=4,7), достоверно не различались. Примечательно, что частота достижения ремиссии и низкой активности у

пациентов, использующих комбинированную терапию МТ и ГИБП (69,7 и 78,8% соответственно), была умеренно ниже, чем у пациентов, получавших монотерапию подкожной формой МТ (75,7 и 81,1% соответственно).

Таким образом, назначение подкожной формы МТ при раннем РА в качестве препарата «первого ряда» имеет очевидные преимущества перед применением его пероральной формы, в отношении как эффективности (снижение потребности в интенсификации терапии, более частое достижение ремиссии и низкой активности болезни), так и безопасности (сходная частота НР, несмотря на прием более высокой дозы МТ), и позволяет снизить потребность в назначении дорогостоящих ГИБП.

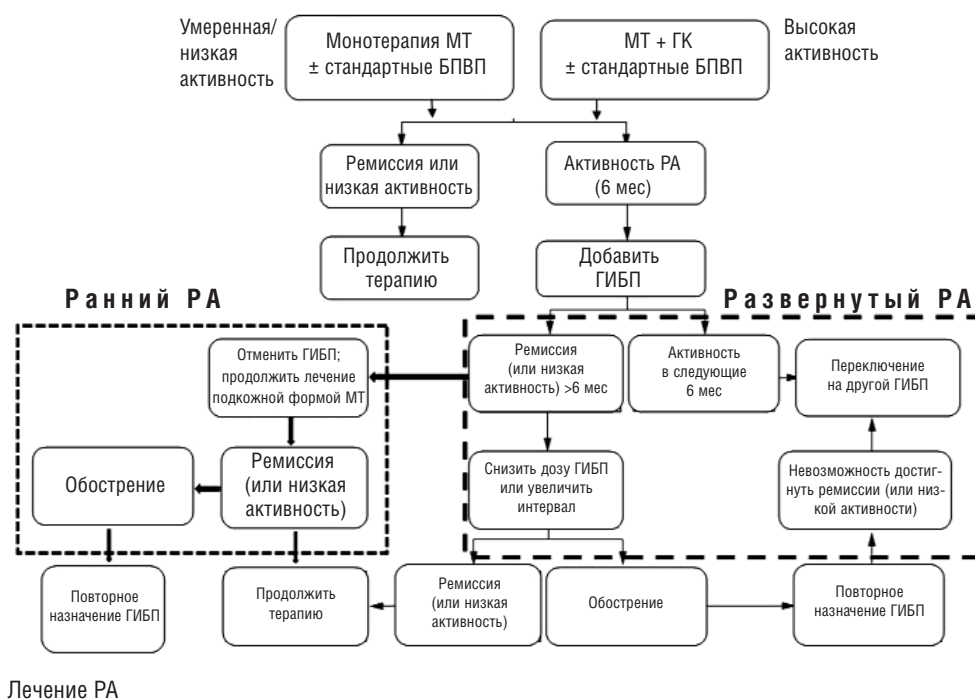
Фармакологическим обоснованием клинического эффекта подкожной формы МТ является то, что ее биодоступность выше, чем таблетированной, особенно при назначении рекомендуемых высоких доз МТ и их быстрой эскалации [59, 145, 146]. Например, при использовании дозы МТ 25 мг/нед при пероральном приеме биодоступность препарата составляет 0,64 по сравнению с парентеральной формой применения [146].

В связи с этим заслуживают специального обсуждения данные, полученные в недавних исследованиях и свидетельствующие о том, что увеличение дозы МТ в диапазоне от 10 до 20 мг/нед не приводит к существенному увеличению эффективности комбинированной терапии МТ и

АДА [147–149]. С нашей точки зрения, которая совпадает с мнением других ревматологов [150], с учетом существенного снижения биодоступности пероральной формы МТ в дозе >15 мг/нед, к этим данным надо относиться с осторожностью. Необходимы специальные исследования, направленные на сравнение эффективности низких доз перорально принимаемого МТ и высоких доз подкожной его формы в контексте их сравнительной эффективности в рамках комбинированной терапии с ГИБП.

В заключение необходимо подчеркнуть, что одним из важнейших направлений лечения РА является оптимизация терапии при достижении ремиссии [151]. Следует помнить, что, согласно пункту 23 проекта рекомендаций по лечению РА, подготовленных группой экспертов Ассоциации ревматологов России, «в случае достижения стойкой ремиссии возможно постепенное тщательно контролируемое снижение дозы или отмена ГИБП (*уровень доказательности В/С*)».

Данные, накопленные в течение последних лет, которые суммированы в обзоре, позволяют представить общий план ведения пациентов с РА, основанный на рекомендациях J.S. Smolen и D. Aletaha [151], в модификации, заключающейся в рекомендации использовать для поддержания ремиссии монотерапию МТ (с переводом в случае необходимости на подкожную форму препарата), особенно у пациентов с ранним РА (см. рисунок).



Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Окончательная версия рукописи была одобрена автором. Автор не получал гонорар за статью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siebert S, Tsoukas A, Robertson J, McInnes I. Cytokines as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. *Pharmacol Rev.* 2015 Apr;67(2):280–309. doi: 10.1124/pr.114.009639
2. Burmester GR, Feist E, Dörner T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis. *Nar Rev Rheumatol.* 2014;10:77–88. doi: 10.1038/nrrheum.2013.168
3. Насонов ЕЛ, редактор. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Москва: ИМА-ПРЕСС; 2013. 549 с. [Nasonov EL, editor. *Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita* [Genetically engineered biological agents in the treatment of rheumatoid arthritis]. Moscow: IMA-PRESS; 2013. 549 p.]
4. Насонов ЕЛ, Мазуров ВИ, Каратеев ДЕ и др. Проект рекомендаций по лечению ревматоидного артрита Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России» – 2014 (часть 1). Научно-практическая ревматология. 2014;52(5):477–94 [Nasonov EL, Mazurov VI, Karateev DE, et al. Spondyloarthritis: Evolution of a concept. Project: recommendations on treatment of rheumatoid arthritis developed by All-Russian Public organization «Association of Rheumatologists of Russia» – 2014 (part 1). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2014;52(5):477–94 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-477-494
5. Насонов ЕЛ. Лечение ревматоидного артрита 2012: место метотрексата. Научно-практическая ревматология. 2012;51(приложение):1–24 [Nasonov EL. Treatment of rheumatoid arthritis 2012: place of methotrexate. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2012;51 Suppl:1–24 (In Russ.)].
6. Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Чичасова НВ. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита – 2013: общая характеристика и дискуссионные проблемы. Научно-практическая ревматология. 2013;51(6):609–22 [Nasonov EL, Karateev DE, Chichasova NV. EULAR recommendations for the treatment of rheumatoid arthritis – 2013: general characteristics and disputable problems. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2013;51(6):609–22 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2013-609-22
7. Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Чичасова НВ. Новые рекомендации по лечению ревматоидного артрита (EULAR, 2013): место метотрексата. Научно-практическая ревматология. 2014;52(1):8–26 [Nasonov EL, Karateev DE, Chichasova NV. New recommendations for the management of rheumatoid arthritis (EULAR, 2013): the role of methotrexate. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2014;52(1):8–26 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-8-26
8. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:492–509. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204573
9. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:964–75. doi: 10.1136/ard.2009.126532
10. Smolen JS, Breedveld FC, Burmester GR, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2015 May 12. doi: 10.1036/annrheumdis-2015-320752
11. Smolen JS, Aletaha D. Rheumatoid arthritis therapy reappraisal: strategies, opportunities and challenges. *Nat Rev Rheumatol.* 2015 May;11(5):276–89. doi: 10.1038/nrrheum.2015.8
12. Cipriani P, Ruscitti P, Carubbi F, et al. Methotrexate in rheumatoid arthritis: optimizing therapy among different formulations. Current and emerging paradigms. *Clin Ther.* 2014;36:427–35. doi: 10.1016/j.clinthera.2014.01.014
13. Насонов ЕЛ. Метотрексат: перспективы применения в ревматологии. Москва: Филоматис; 2005. 200 с. [Nasonov EL. *Metotrexat: perspektivy primeneniya v revmatologii* [Methotrexate: Prospects for use in rheumatology]. Moscow: Filomatis; 2005. 200 p.]
14. Cronstein BN. Low-doses methotrexate: a mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rev.* 2005;57:163–72. doi: 10.1124/pr.57.2.3
15. Hasko G, Cronstein B. Regulation of inflammation by adenosine. *Frontiers Immunol.* 2013 ;4:85. doi: 10.3389/fimmu.2013.00085
16. Wessels JAM, Huizinga TWJ, Guchelaar H-J. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2008;47(3):249–55. doi: 10.1093/rheumatology/kem279
17. Chan ESL, Cronstein BN. Methotrexate-how does it really work. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:175–8. doi: 10.1038/nrrheum.2010.5
18. Blits M, Jansen G, Assaraf YG, et al. Methotrexate normalizes up-regulated folate pathway genes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2013;65:2791–802. doi: 10.1002/art.38094
19. Duceux J, Durez P, Galant C, et al. Global molecular effects of tocilizumab therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2014;66:15–23. doi: 10.1002/art.38202
20. Насонов ЕЛ, Александрова ЕН, Авдеева АС, Рубцов ЮП. Т-регуляторные клетки при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2014;52(4):430–7 [Nasonov EL, Aleksandrova EN, Avdeeva AS, Rubtsov YuP. T regulatory cells in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2014;52(4):430–7 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-430-437
21. Lina C, Conghua W, Nan L, Ping Z. Combined treatment of etanercept and MTX reserves Th1/Th2, Th17/Treg imbalance in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol.* 2011;31:596–606. doi: 10.1007/s10875-011-9542-6
22. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF therapy. *J Exp Med.* 2004;200:277–85. doi: 10.1084/jem.20040165
23. Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, et al. Treg cell function in rheumatoid arthritis is compromised by CTLA-4 promoter methylation resulting in a failure to activate the indolamine 2,3-deoxygenase pathway. *Arthritis Rheum.* 2014;66:2344–54. doi: 10.1002/art.38715
24. Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, et al. Methotrexate restores regulatory T cell function through demethylation of the FoxP3 upstream enhancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2015;67:1182–92. doi: 10.1002/art.39031
25. Cedar H, Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigm. *Nat Rev Genet.* 2009;10:295–304. doi: 10.1038/nrg2540
26. Kennedy A, Schmiudt EM, Cribbs AP, et al. A novel upstream enhancer of FOXP3, sensitive to methylation-induced silencing, exhibit dysregulated methylation in rheumatoid arthritis T reg cells. *Eur J Immunol.* 2014;44:2668–78. doi: 10.1002/eji.201444453
27. Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, et al. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:19396–401. doi: 10.1073/pnas.0806855105
28. Leandro M. B cells and rheumatoid factors in autoimmunity. *Int J Rheum Dis.* 2015;18:379–81. doi: 10.1111/1756-185X.12690
29. Böhm I. Decrease of B-cells and autoantibodies after low-dose methotrexate. *Biomed Pharmacol.* 2003;57:278–82. doi: 10.1016/S0753-3322(03)00086-6
30. Anolik JH, Ravikumar R, Barnard J, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis inhibits memory B lymphocytes via effect on lymphoid germinal centers and follicular dendritic cell network. *J Immunol.* 2008;180:688–92. doi: 10.4049/jimmunol.180.2.688
31. Glaesener S, Quach TD, Onken N, et al. Distinct effects of methotrexate and etanercept on the B cell compartment in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.*

- 2014;66:2590–600. doi: 10.1002/art.38736
32. Tussiwand R, Bosco N, Ceredig R, Rolink AG. Tolerance checkpoints in B-cell development: Johnny B good. *Eur J Immunol*. 2009;39:2317–8. doi: 10.1002/eji.200939633
 33. Супоницкая ЕВ, Александрова ЕН, Насонов ЕЛ. Клиническое значение BAFF/BLyS и APRIL при системной красной волчанке и ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2014;52(5):545–52 [Suponitskaya EV, Aleksandrova EN, Nasonov EL. Clinical significance of BAFF/BLyS and APRIL in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(5):545–52 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-545-552
 34. Coffey G, Betz A, Graf J, et al. Methotrexate and spleen tyrosine kinase inhibitor cooperate to inhibit responses to peripheral blood B cells in rheumatoid arthritis. *Pharm Res Per*. 2013;e0006. doi: 10.1002/prp2.16
 35. Насонов ЕЛ, Денисов ЛН, Станислав МЛ. Интерлейкин 17 – новая мишень для антицитокиновой терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология. 2013;51(5):545–52 [Nasonov EL, Denisov LN, Stanislav ML. Interleukin-17 is a new target for anti-cytokine therapy of immune inflammatory rheumatic diseases. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;51(5):545–52 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1547
 36. Taylor PC, Genovese MC, Greenwood M, et al. OSKIRA-4: a phase IIb randomised, placebo-controlled study of the efficacy and safety of fostamatinib monotherapy. *Ann Rheum Dis*. 2014 Jul 29. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-205361
 37. Nijjar JS, Tindell A, McInnes IB, Siebert S. Inhibition of spleen tyrosine kinase in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2013;52:1556–62. doi: 10.1093/rheumatology/ket225
 38. Weinblatt ME, Genovese MC, Ho M, et al. Effects of fostamatinib, an oral spleen tyrosine kinase inhibitor, in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate: results from a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Arthritis Rheum*. 2014;66:3255–64. doi: 10.1002/art.38851
 39. Genovese MC, van der Heijde DM, Keystone EC, et al. A phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study of 2 dosing regimens of fostamatinib in patients with rheumatoid arthritis with an inadequate response to a tumor necrosis factor- α antagonist. *J Rheumatol*. 2014;41:2120–8. doi: 10.3899/jrheum.140238
 40. Насонов ЕЛ. Новые подходы к фармакотерапии ревматоидного артрита: тофацитиниб. Научно-практическая ревматология. 2014;52(2):209–21 [Nasonov EL. New approaches to pharmacotherapy of rheumatoid arthritis: tofacitinib. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(2):209–221 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-209-221
 41. O'Shea JJ, Holland SM, Straudt LM. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency and cancer. *N Engl J Med*. 2013;368:161–70. doi: 10.1056/NEJMr1202117
 42. Meyer SC, Levine RL. Molecular pathways: molecular basis for sensitivity and resistance to JAK kinase inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2014;20:2051–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0279
 43. Thomas S, Fisher KH, Snowden JA, et al. Methotrexate is a JAK/STAT pathway inhibitor. *PLoS ONE*. 2015; doi: 10.1371/journal.pone.0130078
 44. Keystone EC, Oaylor PC, Drescher E, et al. Safety and efficacy of baricitinib at 24 weeks in patients with rheumatoid arthritis who have had an inadequate response to methotrexate. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:333–40. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206478
 45. Kuroiwa Y, Takakusagi Y, Kusayanagi T, et al. Identification and characterisation of the direct interaction between methotrexate (MTX) and high-mobility group box 1 (HMGB1) protein. *PLoS One*. 2013 May 3;8(5):e63073. doi: 10.1371/journal.pone.0063073
 46. Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8:195–202. doi: 10.1038/nrrheum.2011.222
 47. Spurlock CF III, Tossberg JT, Fucis HA, et al. Methotrexate increases expression of cell cyclic checkpoint genes via JNK activation. *Arthritis Rheum*. 2012;64:1780–9. doi: 1002/art.34342
 48. Hashizume M, Yoshida H, Tanaka K, et al. Interleukin-6 regulates anti-sarthritis effect of methotrexate via reduction of SCL19A1 expression in a mouse model. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:R96. doi: 10.1186/ar3821
 49. Авдеева АС, Новиков АА, Александрова ЕН и др. Динамика уровней цитокинов на фоне терапии метотрексатом и адалимумабом у пациентов с ранним ревматоидным артритом (исследование РЕМАРКА). Научно-практическая ревматология. 2014;52(3):254–62 [Avdeeva AS, Novikov AA, Aleksandrova EN, et al. Changes of cytokine levels during therapy with methotrexate and adalimumab in patients with early rheumatoid arthritis (REMARCA study). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(3):254–62 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-254-262
 50. Yellin M, Paliienko I, Balanescu A, et al. A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the efficacy and safety of MDX-1100, a fully human anti-CCXL10 monoclonal antibody, in combination with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64:1730–9. doi: 10.1002/art.34330
 51. Boyle DL, Soma K, Hodge J, et al. The JAK inhibitor tofacitinib suppresses synovial JAK1-STAT signaling in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:1311–6. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206028
 52. Муравьев ЮВ. Новые возможности контроля эффективности метотрексата при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2015;53(3):308–11 [Muravyev YuV. New possibilities for monitoring methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;53(3):308–11 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2015-308-311
 53. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, et al. Polyglutamation of methotrexate. Is methotrexate a prodrug? *J Clin Invest*. 1985;76:907–12. doi: 10.1172/JCI112088
 54. Dervieux T, Zablocki R, Kremer J. Red blood cell methotrexate polyglutamates emerge as a function of dosage intensity and route of administration during pulse methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2010;49:2337–45. doi: 10.1093/rheumatology/keq216
 55. De Rotte MCFJ, den Boer E, Calasan B, et al. Personalized medicine of methotrexate therapy. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*. 2012;37:50–3.
 56. De Rotte MCFJ, den Boer E, de Jong PHP, et al. Methotrexate polyglutamates in erythrocytes are associated with lower disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:408–14. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203725
 57. De Rotte MCFJ, de Jong PHP, Pluijm SMF, et al. Association of low baseline levels of erythrocyte folate with treatment nonresponse at three months in rheumatoid arthritis patients receiving methotrexate. *Arthritis Rheum*. 2013;65:2803–13. doi: 10.1002/art.38113
 58. De Rotte MC, de Jong PH, Quax RA, et al. Glucocorticoids and methotrexate have a synergistic working on decrease of rheumatoid arthritis disease activity. *Ann Rheum Dis*. 2013;72 Suppl:S396. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-eular.1207
 59. Stamp LK, Barclay ML, O'Donnell JL, et al. Effects of changing from oral to subcutaneous methotrexate on red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:2540–7. doi: 10.3899/jrheum.110481
 60. Wolbink GJ, Aarden LA, Dijkmans BA. Dealing with immunogenicity of biologicals: assessment and clinical relevance. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21:211–5. doi: 10.1097/BOR.0b013e328329ed8b

61. Jani M, Barton A, Warren R, et al. The role of DMARDs in reducing the immunogenicity of TNF inhibitors in chronic inflammatory diseases. *Rheumatology*. 2014;53:213–22. doi: 10.1093/rheumatology/ket260
62. Александрова ЕН, Насонов ЕЛ. Иммуногенность ингибиторов фактора некроза опухоли α при лечении ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2012;53 (приложение 4):22–7 [Aleksandrova EN, Nasonov EL. Immunogenicity inhibitors of tumor necrosis factor α in the treatment of rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2012;53 Suppl 4:22–7 (In Russ.)].
63. Garces S, Demengeot J, Benito-Garcia E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(12):1947–55. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202220
64. Joseph A, Neff K, Richard J, et al. Transient low-dose methotrexate induces tolerance to murine anti-thymocyte globulin and together they promote long-term allograft survival. *J Immunol*. 2012;189:732–43. doi: 10.4049/jimmunol.1103601
65. Bendtzen K. Is there a need for immunopharmacologic guidance of anti-tumor necrosis factor therapies? *Arthritis Rheum*. 2011;63:867–70. doi: 10.1002/art.30207
66. Dervieux T, Weinblatt ME, Kivitz A, et al. Methotrexate polyglutamation in relation to infliximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:908–10. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202591
67. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink GJ. Methotrexate reduces immunogenicity in adalimumab treated rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:1914–5. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201544
68. Насонов ЕЛ. Новые рекомендации по лечению ревматоидного артрита (EULAR, 2013): место глюкокортикоидов. Научно-практическая ревматология. 2015;53(3):238–50 [Nasonov EL. New guidelines for the management of rheumatoid arthritis (EULAR, 2013): The place of glucocorticoids. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;53(3):238–50 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2015-238-250
69. Verstappen SMM, Owen S-A, Hyrich KL. Prediction of response and adverse events to methotrexate. *Int J Clin Rheumatol*. 2012;7:559–67. doi: 10.2217/ijr.12.57
70. Romao VC, Cahao H, Fonseca JE. Old drugs, old problems: where do we stand in prediction of rheumatoid arthritis responsiveness to methotrexate and other synthetic DMARDs? *BMC Medicine*. 2013;11:17. doi: 10.1186/1741-7015-11-17
71. Favalli EG, Biggioggero M, Meroni PL. Methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis in the biologics era: still an «anchor» DRUG? *Autoimmune Rev*. 2014;13:1102–8. doi: 10.1016/j.autrev.2014.08.026
72. Lopez-Olivo MA, Siddhanamatha HR, Shea B, et al. Methotrexate for treating rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;6:CD000957
73. Agenova S, Steenberg HW, van Nies JAB, et al. Disease-modifying antirheumatic drug-free sustained remission in rheumatoid arthritis: an increasingly achievable outcome with subsidence of disease symptoms. *Ann Rheum Dis*. 2015. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-207080
74. Zhang J, Xie F, Delzell E, et al. Impact of biologic agents with and without concomitant methotrexate and at reduced doses in older rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Care Res*. 2015;67:624–32. doi: 10.1002/acr.22510
75. Curtis JR, Zhang J, Xie F, et al. Use of oral and subcutaneous methotrexate in rheumatoid arthritis patients in United States. *Arthritis Care Res*. 2014;11:1604–11. doi: 10.1002/acr.22383
76. Aga A-B, Lie E, Uhling T, et al. Time trends in disease activity, response and remission rates in rheumatoid arthritis during the past decade: results from the NOR-DMARD study 2000–2010. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:381–8. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204020
77. Asai S, Kojima T, Oguchi T, et al. Effects of concomitant methotrexate on large joint replacement in patients with rheumatoid arthritis treated with tumor necrosis factor inhibitors: a multicenter retrospective cohort study in Japan. *Arthritis Care Res*. 2015. doi: 10.1002/acr.22596
78. L'Ami M, Kneepkens E, Krieckaert C, et al. The effect of methotrexate in treatment with adalimumab and etanercept in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74 Suppl 2:708. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-eular.2689
79. Buckley F, Finckh A, Huizinga TWJ, et al. Comparative efficacy of novel DMARDs as monotherapy and in combination with methotrexate in rheumatoid arthritis patients with inadequate response to conventional DMARDs: a network meta-analysis. *J Man Care Spec Pharm*. 2015;21:409–23.
80. Jorgensen TS, Tarp S, Furst DE, et al. Added-value of combining methotrexate with a biological agent compared to biological monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: a systemic review and meta-analysis of randomized trials. *Ann Rheum Dis*. 2015;74 Suppl 2:239. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-eular.3396
81. Burmester GR, Rigby W, van Vollenhoven R, et al. Tocilizumab (TCZ) in combination and monotherapy versus methotrexate (MTX) in MTX-naïve patients (pts) with early rheumatoid arthritis (RA): clinical and radiographic outcomes from a randomised, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(Suppl):OP041. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-eular.246
82. Smolen JS, Alehaha D. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab and attainment remission: the role of acute phase reactant. *Arthritis Rheum*. 2011;63:43–52. doi: 10.1002/art.27740
83. Takeuchi T, Kaneko Y, Atsumi T, et al. Adding tocilizumab or switching to tocilizumab monotherapy in RA patients with inadequate response to methotrexate: 24-week results from a randomized controlled study (SURPRISE study). *Ann Rheum Dis*. 2013;72 Suppl 3:62. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-eular.245
84. Kojima T, Yabe Y, Kaneko A, et al. Importance of methotrexate therapy concomitant with tocilizumab treatment in achieving better clinical outcome for rheumatoid arthritis patients with high disease activity: an observational cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:113–20. doi: 10.1093/rheumatology/keu302
85. Takahashi N, Kojima T, Funashi N, et al. Concomitant methotrexate scarcely augment the clinical efficacy of abatacept in patients with rheumatoid arthritis: a propensity score matching analysis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74 Suppl 2:729. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-eular.2121
86. Emery P, Burmester GR, Bykerk V, et al. Evaluating drug-free remission with abatacept in early rheumatoid arthritis: results from the phase 3b multicenter, randomized, active-controlled AVERT study of 24 months, with a 12 months, double-blind treatment period. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:19–26. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206106
87. Graudal N, Hubeck-Graudal T, Faurschou M, et al. Combination therapy with and without tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid arthritis. A meta-analysis of randomized trials. *Arthritis Care Res*. 2015 May 18. doi: 10.1002/acr.22618
88. Carson CW, Cannon GW, Egger MJ, et al. Pulmonary disease during the treatment of rheumatoid arthritis with low dose pulse methotrexate. *Semin Arthritis Rheum*. 1987;16:186–95. doi: 10.1016/0049-0172(87)90021-7
89. McKendry RJ, Dale P. Adverse effects of low dose methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1993;20:1850–6.
90. Sostman HD, Matthay RA, Putman CE, Smith GJ. Methotrexate-induced pneumonitis. *Medicine (Baltimore)*. 1976;55:371–88. doi: 10.1097/00005792-197609000-00002
91. Salliot C, van der Heijde D. Long-term safety of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature research. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:1100–4. doi: 10.1136/ard.2008.093690
92. Sathi N, Chikura B, Kaushik VV, et al. How common is methotrexate pneumonitis? A large prospective study investigates.

- Clin Rheumatol.* 2012;31:79–83. doi: 10.1007/s10067-011-1758-6
93. Dawson JK, Desmond J, Graham DR. Investigation of the chronic pulmonary effects of low-dose oral methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study incorporating HRCT scanning and pulmonary function tests. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41:262–7. doi: 10.1093/rheumatology/41.3.262
94. Cottin V, Tebib J, Massonnet B, et al. Pulmonary function in patients receiving long-term low-dose methotrexate. *Chest*. 1996;109:933–8. doi: 10.1378/chest.109.4.933
95. Saravanan V, Kelly CA. Pulmonary function after methotrexate in rheumatoid arthritis: a one-year follow up study. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41 Suppl 2:S145.
96. Bongartz T, Nannini C, Medina-Velasquez YF, et al. Incidence and mortality of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum.* 2010;62:1583–91. doi: 10.1002/art.27405
97. Antin-Ozerkis D, Evans J, Rubinowitz A, et al. Pulmonary manifestations of rheumatoid arthritis. *Clin Chest Med.* 2010;31:451–78. doi: 10.1016/j.ccm.2010.04.003
98. Cortet B, Perez T, Roux N, et al. Pulmonary function tests and high resolution computed tomography of the lungs in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:596–600. doi: 10.1136/ard.56.10.596
99. Бестаев ДВ, Каратеев ДЕ, Насонов ЕЛ. Интерстициальное поражение легких при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2012;50(6):63–9 [Bestaev DV, Karateev DE, Nasonov EL. Interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2012;50(6):63–9 (In Russ.)].
100. Conway R, Low C, Coughlan RJ, et al. Methotrexate and lung disease in rheumatoid arthritis – a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthritis Rheum.* 2014;66:803–12. doi: 10.1002/art.38322
101. Rojas-Serrano J, Gonzalez-Velasquez E, Mejia M, et al. Interstitial lung disease related to rheumatoid arthritis: evolution after treatment. *Reumatol Clin.* 2012;8:68–71. doi: 10.1016/j.reuma.2011.12.008
102. Conway R, Low C, Coughlan RJ, et al. Methotrexate use and risk of lung disease in psoriasis, psoriatic arthritis, and inflammatory bowel disease: systemic literature review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ.* 2015;350:h1269. doi: 10.1136/bmj.h1269
103. Conway R, Low C, Coughlan RJ, et al. Risk of liver injury among methotrexate users: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Semin Arthritis Rheum.* 2015 May 19. doi: 10.1016/j.semarthrit.2015.05.003. [Epub ahead of print].
104. Curtis JR, Beukelman T, Onofrei A, et al. Elevated liver enzyme tests among patients with rheumatoid arthritis or psoriatic arthritis treated with methotrexate and/or leflunomide. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:43–7. doi: 10.1136/ard.2008.101378
105. Dirven L, Klarenbeek NB, van den Broek M, et al. Risk of alanine transferase (ALT) elevation in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate in a DAS-steered strategy. *Clin Rheumatol.* 2013;32:585–90. doi: 10.1007/s10067-012-2136-8
106. Quintin E, Scoazec JY, Marotte H, Miossec P. Rare incidence of methotrexate-specific lesions in liver biopsy of patients with arthritis and elevated liver enzymes. *Arthritis Res Ther.* 2010;12:R143. doi: 10.1186/ar3085
107. Salliot C, van der Heijde D. Long-term safety of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature research. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1100–4. doi: 10.1136/ard.2008.093690
108. Sokolove J, Strand V, Greenberg JD, et al. Risk of elevated liver enzymes associated with TNF inhibitor utilisation in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1612–7. doi: 10.1136/ard.2009.112136
109. Rossi RE, Parisi I, Despott EJ, et al. Anti-tumour necrosis factor agent and liver injury: literature review, recommendations for management. *World J Gastroenterol.* 2014;20:17352–9. doi: 10.3748/wjg.v20.i46.17352
110. Katchamart W, Trudeau J, Phumethum V, Bombardier C. Efficacy and toxicity of methotrexate (MTX) monotherapy versus MTX combination therapy with non-biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1105–12. doi: 10.1136/ard.2008.099861
111. Abasolo L, Leon L, Rodriguez-Rodriguez L, et al. Safety of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents for rheumatoid arthritis patients in real-life conditions. *Semin Arthritis Rheum.* 2015;44:506–13. doi: 10.1016/j.semarthrit.2014.11.003
112. Yazici H. Methotrexate and not much harm to the lungs. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32 Suppl 87:S10.
113. Rojas-Serrano J, Mateos-Toledo H, Mejia M. Methotrexate and lung disease in rheumatoid arthritis: comment on the article by Conway et al. *Arthritis Rheum.* 2014;66:2641–2. doi: 10.1002/art.38733
114. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation? *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Jul;11(7):390–400. doi: 10.1038/nrrheum.2015.40
115. Попкова ТВ, Герасимова ЕВ, Новикова ДС, Насонов ЕЛ. Метотрексат и риск сердечно-сосудистых осложнений при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2012;50(6):70–9 [Popkova TV, Gerasimova EV, Novikova DS, Nasonov EL. Methotrexate and the risk of cardiovascular events in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2012;50(6):70–9 (In Russ.)].
116. Popkova TV, Novikova DS, Gasparyan AY, Nasonov EL. Cardiovascular effects of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Curr Med Chem.* 2015;22:1903–10. doi: 10.2174/0929867322666150415122039
117. Micha R, Imamura F, von Ballmoos MV, et al. Systemic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2011;108:1362–70. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.054
118. Westlake SL, Colebatch AN, Baird J, et al. The effect of methotrexate on cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: asystemic literature review. *Rheumatology.* 2010;49:295–307. doi: 10.1093/rheumatology/kep366
119. Roubille C, Richer V, Startino T, et al. The effect of tumor necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systemic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2015;74:480–9. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206624
120. Morrow VA, Foufelle F, Connell JM, et al. Direct activation of AMP-activated protein kinase stimulates nitric-oxide synthesis in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278:31629–39. doi: 10.1074/jbc.M212831200
121. Kukidome D, Nishikawa T, Sonoda K, et al. Activation of AMP-activated protein kinase reduces hyperglycemia-induced mitochondrial reactive oxygen species production and promotes mitochondrial biogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *Diabetes.* 2006;55:120–7. doi: 10.2337/diabetes.55.01.06.db05-0943
122. Liu C, Liang B, Wang Q, et al. Activation of AMP-activated protein kinase p1 alleviates endothelial cell apoptosis by increasing the expression of anti-apoptotic proteins Bcl-2 and survivin. *J Biol Chem.* 2010;285:15346–55. doi: 10.1074/jbc.M110.102491
123. Wang S, Zhang M, Liang B, et al. AMPK p2 deletion causes aberrant expression and activation of NAD(P)H oxidase and consequent endothelial dysfunction in vivo: role of 26S proteasomes. *Circ Res.* 2010;106:1117–28. doi: 10.1161/CIRCRESA-HA.109.212530
124. Schulz E, Doppeide J, Schuhmacher S, et al. Suppression of the JNK pathway by induction of a metabolic stress response prevents vascular injury and dysfunction. *Circulation.* 2008;118:1347–57. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.784289
125. Thornton CC, Al-Rashed F, Calay D, et al. Methotrexate-mediated

- ed activation of an AMPK-CREB-dependent pathway: a novel mechanism for vascular protection in chronic systemic inflammation. *Ann Rheum Dis*. 2015 Jan 9. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206305
126. Watanabe J, Charles-Schoeman C, Miao Y, et al. Proteomic profiling following immunoaffinity capture of high-density lipoprotein: association of acute-phase proteins and complement factors with proinflammatory high-density lipoprotein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64:1828–37. doi: 10.1002/art.34363
127. McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54:2541–9. doi: 10.1002/art.21976
128. Ronda N, Favari E, Borghi MO, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:609–15. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202914
129. Favari E, Calabresi L, Adorni MP, et al. Small discoidal pre-HDL particles are efficient acceptors of cell cholesterol via ABCA1 and ABCG1. *Biochemistry*. 2009;48:11067–74. doi: 10.1021/bi901564g
130. Rosenson RS, Brewer HB Jr, Davidson WS, et al. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation*. 2012;125:1905–19. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066589
131. Favari E, Ronda N, Adorni MP, et al. ABCA1-dependent serum cholesterol efflux capacity inversely correlates with pulse wave velocity in healthy subjects. *J Lipid Res*. 2013;54:238–43. doi: 10.1194/jlr.P030452
132. Vigna GB, Satta E, Bernini F, et al. Flow-mediated dilation, carotid wall thickness and HDL function in subjects with hyperalphalipoproteinemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24:777–83. doi: 10.1016/j.numecd.2014.02.010
133. Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011;364:127–35. doi: 10.1056/NEJMoa1001689
134. Doonan RJ, Hafiane A, Lai C, et al. Cholesterol efflux capacity, carotid atherosclerosis, and cerebrovascular symptomatology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:921–6. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302590
135. Ronda N, Greco D, Adorni MP, et al. New identified antiatherosclerotic activity of methotrexate and adalimumab. Complementary effects on lipoprotein function and macrophage cholesterol metabolism. *Arthritis Rheum*. 2015;67:1155–64. doi: 10.1002/art.39039
136. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:219–38. doi: 10.1016/j.jacc.2009.09.009
137. Ridker PM. Testing the inflammatory hypothesis of atherothrombosis: scientific rationale for the cardiovascular inflammation reduction trial (CIRT). *J Thromb Hemostasis*. 2009;7 Suppl 1:332–9. doi: 10.1111/j1538-7836.2009.03404x
138. Everett B, Pradhan AD, Solomon DH, et al. Rationale and design of the cardiovascular inflammation reduction trial: a test of the inflammatory hypothesis of atherothrombosis. *Am Heart J*. 2013;166:199–207. doi: 10.1016/j.ahj.2013.03.018
139. Erhayim B, Pavitt S, Baxter P, et al. Coronary artery disease evaluation in rheumatoid arthritis (CADERA): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2014;15:436. doi: 10.1186/1745-6215-15-436
140. Wasko MC, Dasgupta A, Hubert H, et al. Propensity-adjustment association of methotrexate with overall survival in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013;65:334–42. doi: 10.1002/art.37723
141. Landewe RB. Methotrexate saves lives: a pearl of observational research. *Arthritis Rheum*. 2013;65:307–9. doi: 10.1002/art.37725
142. Cipriani P, Ruscitti P, Carubbi F, et al. Methotrexate in rheumatoid arthritis: optimizing therapy among different formulations. Current and emerging paradigms. *Clin Ther*. 2014;36:427–35. doi: 10.1016/j.clinthera.2014.01.014
143. Hazlewood GS, Thorne JC, Pope JE, et al. The comparative effectiveness of oral versus subcutaneous methotrexate for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206504
144. Muller RB, von Kempis J, Haile ER, Schiff MH. Effectiveness, tolerability, and safety of subcutaneous methotrexate in early rheumatoid arthritis: a retrospective analysis of real-world data from the St.Gallen cohort. *Semin Arthritis Rheum*. 2015. doi: 10.1016/j.semarthritis.2015.02.009
145. Yazici Y, Bata Y. Parenteral methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bull Hosp Joint Dis*. 2013;71 Suppl 1:S46–8.
146. Schiff MH, Jaffe JS, Freundlich B. Head-to-head, randomized, crossover study of oral versus subcutaneous methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: drug-exposure limitations of oral methotrexate at dose 15 mg may be overcome with subcutaneous administration. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:1549–51. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-205228
147. Burmester G-R, Kivitz AJ, Kupper H, et al. Efficacy and safety of ascending methotrexate dose in combination with adalimumab: a randomised CONCERTO trial. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:1037–44. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204769
148. Vogelzang EH, Pouw MF, Nurmohamed M, et al. Adalimumab trough concentrations in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis treated with concomitant disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:474–5. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206588
149. Manders SH, Kievit W, Adang E, et al. Effectiveness of TNF inhibitor treatment with various methotrexate doses in patients with rheumatoid arthritis: results from clinical practice. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:e24. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-207005
150. Zeidler H. The issue of bioavailability of oral low dose methotrexate: should we choose only 10 mg of MTX a week in conjunction with anti-TNF therapy? *Ann Rheum Dis*. 2014;73:e50. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-205701
151. Smolen JS, Aletaha D. Rheumatoid arthritis therapy reappraisal: strategies, opportunities and challenges. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(5):276–89. doi: 10.1038/nrrheum.2015.8