

Farmakogenetika metotrexátu v léčbě revmatoidní artritidy

Tomáš Veleta¹, Tomáš Soukup², Petr Pávek³, Jana Nekvindová⁴, Jiří Vlček⁵, Petr Bradna²

¹Oddělení urgentní medicíny Fakultní nemocnice Hradec Králové

²II. interní gastroenterologická klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK Praha v Hradci Králové

³Katedra farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty UK Praha v Hradci Králové

⁴Ústav klinické biochemie a diagnostiky FN HK a Lékařské fakulty UK Praha v Hradci Králové

⁵Katedra sociální a klinické farmacie Farmaceutické fakulty UK Praha v Hradci Králové

Metotrexát patří k základním lékům používaným při léčbě revmatoidní artritidy (RA). Efektivita léčby revmatoidní artritidy metotrexátem (MTX) se pohybuje mezi 46 % a 65 % (hodnoceno podle kritéria ACR 20). Při léčbě metotrexátem se může vyskytnout celá řada nežádoucích účinků. Alespoň jeden z nich se objeví až u 72,9 % pacientů, závažné projevy toxicity se zjišťují až u 30 % pacientů. Farmakogenetika je nový moderní směr klinické farmakoterapie umožňující personalizaci terapie na základě zjištění genetické predispozice pacienta pro odpověď na danou léčbu. Výzkum farmakogenetiky MTX u revmatoidní artritidy se soustředí na souvislost mezi terapeutickým účinkem či toxicitou MTX a mutacemi genů metabolických drah, transportérů MTX, genů podílejících se na účinku adenosinu, genů HLA-G antigenů a enzymů metabolismu bázi nukleových kyselin. Mezi nejvíce studované patří gen kódující enzym 5,10-methylenetetrahydrofolát reduktázu, jehož mutace má patrně souvislost s vystupňovanými nežádoucími gastrointestinálními účinky MTX. Nadějně výsledky přinesly studie zkoumající polymorfizmy související s metabolismem adenosinu. Byla nalezena statisticky významná souvislost mezi některými těmito polymorfizmy a klinickým účinkem MTX dle DAS28 skóre nebo s výskytem nežádoucích účinků MTX. Wessels a spol. našli souvislost mezi polymorfizmy souvisejícími s metabolismem adenosinu a dobrou odpovědí na MTX u pacientů s RA a navrhli prediktivní diagnostický model pro terapii RA metotrexátem na základě genotypizace. Souhrnně lze říci, že výsledky studií naznačují možnou diagnostickou hodnotu genotypizace pacientů s RA pro predikci úspěšnosti terapie MTX, schopnost tolerovat vyšší dávky MTX v terapii či naopak možnost určit pacienty primárně rezistentní na terapii a s dispozicí k závažným nežádoucím účinkům. V budoucnosti je nutné upřesnění dostupných výsledků ve studiích s větším počtem pacientů a delší dobou sledování.

Klíčová slova: revmatoidní artritida, metotrexát, farmakogenetika, personalizovaná medicína.

Pharmacogenetics of methotrexate in treatment of rheumatoid arthritis

Methotrexate is one of the essential medicines used in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). The efficacy of treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate (MTX) is between 46 % and 65 % (as assessed by ACR 20). A number of undesirable effects are associated with methotrexate treatment. At least one of them occurs in up to 72.9 % of patients, and severe toxicities are identified in up to 30 % of patients. Pharmacogenetics is a new modern way to enable personalization of clinical drug therapy based on the findings of the genetic predisposition of the patient to respond to the treatment. Research into MTX pharmacogenetics in rheumatoid arthritis focuses on the relationship between the therapeutic effect and toxicity of MTX, mutations in the genes of metabolic pathways, MTX transporters, and genes involved in the effect of adenosine, HLA-G antigens and enzymes of the metabolism of nucleic acids. One of the most widely studied genes is the one encoding the enzyme 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, whose mutation is probably related to an extension of adverse gastrointestinal effects of MTX. There have been promising results from studies examining polymorphisms associated with the metabolism of adenosine. There was a significant correlation between some of these polymorphisms and the clinical effect of MTX, according to both DAS28 score and the occurrence of adverse effects of MTX. Wessels et al found a correlation between polymorphisms associated with the metabolism of adenosine and a good response to MTX in RA patients, and have proposed a diagnostic predictive model for RA methotrexate therapy based on genotyping. In summary, the results of the studies suggest a possible diagnostic value for genotyping of patients with RA for prediction of MTX therapy and their ability to tolerate higher doses of MTX therapy, or conversely to determine patients primarily resistant to the therapy by reason of a predisposition to serious side effects. In the future, it will be necessary to analyze the available results in studies with larger numbers of patients and longer follow-up.

Key words: rheumatoid arthritis, methotrexate, pharmacogenetics, personalized medicine.

Klin Farmakol Farm 2013; 27(3–4): 131–135

Metotrexát v léčbě revmatoidní artritidy

V současné době je metotrexát (MTX) jedním z léků první volby pro léčbu pacientů s aktivní revmatoidní artritidou (1) a je rovněž používán v léčbě jiných revmatických nemocí, například juvenilní

idiopatické artritidy nebo psoriatické artritidy (2). Velká část pacientů léčených metotrexátem na tuto léčbu nezačíná, nebo se u nich projeví nežádoucí účinky, které, podle své závažnosti, mohou vést až k přerušení léčby. Tyto odlišnosti v odpovědi na terapii jsou ovlivňovány celou řadou faktorů.

Farmakogenetika se zabývá studiem geneticky podmíněné variability (většinou ve formě jedno-nukleotidových polymorfizmů – single nucleotide polymorphisms, SNPs) v odpovědi organismu na léčivo. Znalost genetických změn vedoucích k této variabilitě a možnost předpovědět reakci

na léčbu může umožnit včasnou změnu dávkování nebo nasazení jiného léčiva tak, aby pacient byl léčen efektivně a s co nejnižším rizikem vzniku nežádoucích účinků.

Účinnost léčby a nežádoucí účinky

Metotrexát prokázal svou účinnost u časně i pozdní a také silně aktivní revmatoidní artritidy (3). Účinnost léčby revmatoidní artritidy metotrexátem se pohybuje mezi 46 % a 65 % (hodnoceno podle kritéria ACR 20) (4, 5). Po aplikaci metotrexátu se může vyskytnout celá řada nežádoucích účinků. Alespoň jeden z nich se objeví až u 72,9 % pacientů, závažné projevy toxicity, které vedou k přerušení léčby, se vyskytují až u 30 % pacientů (6). Mezi nejčastější nežádoucí účinky metotrexátu patří gastrointestinální toxicita (nevolnost, zvracení, průjem, 20–65 %) (7, 8, 9), nezávažná hepatotoxicita (elevace transamináz, 10–43 %) (8, 9, 10, 11), orální ulcerace (37 %) (12) nebo alopecie (až 4 %) (13). Mezi vzácné, ale závažné nežádoucí účinky patří například závažná hepatotoxicita, pulmonální toxicita (nejčastěji intersticiální pneumonitida, 2,1–8 %) (7, 9, 14, 15) a útlum kostní dřeně (lehká leukopenie a trombocytopenie 12 %, pancytopenie 0,8 %) (8, 9, 16). Ke snížení hepatální a slizniční toxicity se doporučuje podávat 5 mg kyseliny listové 24 hodin po metotrexátu jedenkrát týdně. Je však možné, že podávání kyseliny listové mírně snižuje účinnost metotrexátu (3).

I přes výše zmíněná fakta patří metotrexát k nejúčinnějším a nejbezpečnějším lékům ze skupiny DMARDs. Po třech letech zůstává na léčbě více než 50 % pacientů (7), což je více než na jakémkoliv jiném DMARD.

Mezi další přednosti metotrexátu patří možnost použití v kombinaci s jinými DMARDs i biologickými léky a jeho relativně nízká cena, přestože celkové náklady na léčbu jsou částečně zvýšeny nutností pravidelných laboratorních testů (krevní obraz, transaminázy) jako sledování vzniku možných nežádoucích účinků.

Farmakologie metotrexátu

V léčbě revmatoidní artritidy je metotrexát podáván jednou týdně v dávce 20 až 30 mg (1). Většinou je aplikován perorálně nebo subkutánně, možné je i intramuskulární a intravenózní podání. Po perorálním podání se metotrexát téměř kompletně vstřebává aktivním transportem v proximálním jejunu. Biologická dostupnost vykazuje značnou interindividuální variabilitu, pohybuje se mezi 30 % a 90 % (17) a při vyšších dávkách se snižuje, protože aktivní transport ve střevě je zprostředkován nasatitelným přenašečem (18). Maximální koncentrace v plazmě je dosaženo

za 45–120 minut po perorálním podání, biologický poločas je 6–7 hodin, po 24 hodinách je lék v séru nedetekovatelný. Metotrexát je metabolizován především v játrech (při prvním průchodu játry je asi z 10 % přeměněn na neaktivní 7-hydroxy metotrexát), vylučován je ze 30–80 % ledvinami a z 3–23 % žlučí (3, 19).

Intracelulární metabolismus

Foláty a antifoláty (např. metotrexát) vstupují do buněk prostřednictvím dvou mechanismů. Metotrexát je transportován především přenašečem označovaným jako SLC19A1 nebo také *reduced folate carrier* (RFC-1). Může se také navázat na folátové receptory (FR- α a FR- β) a následně být přenesen do buňky endocytózou, ale k těmto receptorům má metotrexát výrazně nižší afinitu než foláty, a proto má tato cesta v jeho metabolismu minimální význam (20). Transport metotrexátu z buňky zajišťují efluxní transportéry z rodiny ABC (ATP-binding cassette) transportérů, především ABCC1–4 a ABCG2 (23, 24). Intracelulárně je metotrexát metabolizován – přidáním dvou až pěti glutamátových skupin vzniká aktivní metabolit, polyglutamát metotrexátu (MTXPG), který není transportován a v buňce se hromadí. Tento proces je katalyzován folylpolyglutamát syntázou (FPGS) a je reverzibilní prostřednictvím gamaglutamyl hydrolázy (GGH) (23).

MTXPG přímo inhibuje enzymy důležité pro syntézu purinů a pyrimidinů – thymidylát syntázu (TYMS) a dihydrofolát reduktázu (DHFR). TYMS konvertuje deoxyuridylyát na deoxythymidylyát v procesu *de novo* syntézy pyrimidinů. DHFR redukuje dihydrofolát na tetrahydrofolát, prekurzor biologicky aktivního 5-methyl tetrahydrofolátu, nutného pro konverzi homocysteinu na methionin, a tím pro syntézu polyaminů (24, 25). Enzym 5,10-methylen-tetrahydrofolát reduktáza (MTHFR) není přímým cílem MTXPG, ale jeho funkce je závislá na intracelulární hladině folátů a je tedy nepřímo ovlivněn působením MTXPG na DHFR. Dalším enzymem přímo inhibovaným MTXPG je 5-aminoimidazol-4-karboxamid ribonukleotid formyltransferáza (ATIC), která zprostředkovává konverzi 5-aminoimidazol-4-karboxamid ribonukleotidu (AICAR) na formyl-AICAR. Hromadění AICAR a jeho metabolitů má přímý inhibiční vliv na enzymy, důležité pro metabolismus adenosinu (adenosin deamináza, adenosinmonofosfát deamináza), a tím způsobuje hromadění adenosinu a následně jeho zvýšenou koncentraci v extracelulárním prostoru (26).

Mechanismus účinku

Přesný mechanismus účinku metotrexátu u revmatoidní artritidy není znám.

Pravděpodobně jde o kombinaci působení imunosupresivního a protizánětlivého. Jedním z nejdéle známých možných mechanismů účinku metotrexátu je inhibice proliferace lymfocytů a dalších buněk, účastnících se synoviálního zánětu, prostřednictvím inhibice syntézy purinů a pyrimidinů. Dalším možným mechanismem účinku je zvýšení koncentrace volných kyslíkových radikálů, vedoucí k apoptóze aktivovaných lymfocytů. Toho je dosaženo blokadou DHFR, a následným snížením syntézy polyamidů sperminu a spermidinu, které za normálních okolností volné kyslíkové radikály vychytávají (27, 28).

Prostřednictvím inhibice enzymu ATIC metotrexát způsobuje zvýšení extracelulární koncentrace adenosinu. Ten má poměrně silný imunosupresivní účinek – váže se na adenosinové A2A receptory na povrchu celé řady buněk imunitního systému (T lymfocyty, NK buňky, monocyty, makrofágy, neutrofilové) a různými mechanismy tlumí jejich aktivitu při vývoji zánětlivé reakce (27, 29).

Farmakogenetika metotrexátu

Transportní proteiny

SLC19A1 (RFC-1) je protein, zajišťující aktivní transport metotrexátu do buňky. Změna jeho funkce může vést ke zvýšení nebo snížení intracelulární hladiny metotrexátu, a tím pádem k různé reakci na léčbu. Polymorfismus RCF 80G>A vede k záměně argininu za histidin na kodonu 27 v první transmembránové doméně (TMD1) proteinu SLC19A1 (30, 31, 32). Souvislost tohoto polymorfismu se změněným transportem metotrexátu nebo jeho intracelulární hladinou zatím nebyla jednoznačně prokázána. Ve studiích, které publikoval Dervieux et al. měli pacienti s revmatoidní artritidou a genotypem RFC 80AA nižší počet otekých kloubů, nižší hodnoty na vizuálně analógové škále (VAS) (33) a zároveň u nich byla naměřena vyšší hladina MTXPG než u pacientů s jinými genotypy (34, 35). Naproti tomu v jiné studii z roku 2006 nebyla prokázána souvislost mezi různými RFC genotypy a účinností metotrexátu nebo jeho nežádoucími účinky (36).

Jak již bylo zmíněno, metotrexát je z buněk aktivně transportován proteiny z rodiny ABC transportérů. Polymorfismus genu ABCB1 3435C>T může ovlivnit funkci P-glykoproteinu, membránového transportního proteinu, zodpovědného za eflux metotrexátu (37). Pacienti s genotypem ABCB1 3435TT oproti pacientům s genotypem ABCB1 3435CC častěji špatně reagují na léčbu metotrexátem (38) a podle některých studií může být tento genotyp spojen také s vyšším výskytem nežádoucích účinků (39, 40). Rovněž bylo prokázáno, že polymorfismus dalšího genu z rodiny ABC trans-

Tabulka 1. Přehled polymorfismů studovaných v souvislosti s farmakogenetikou metotrexátu

Gen	Funkce	Polymorfismus	Vliv na	
			toxicitu	efekt
SLC19A1 (RCF-1)	aktivní transport MTX do buňky	80G > A	není souvislost (37)	80AA – dobrá odpověď na léčbu (34), není souvislost s efektem (37)
ABCB1	eflux MTX	3435C > T	3435TT – vyšší výskyt nežádoucích účinků (40, 41)	3435TT – špatná odpověď na léčbu (39)
ABCC2	eflux MTX	IVS 23 + 56 T > C	souvislost s toxicitou (40)	neznámý
GGH	polyglutamace MTX – reverzní efekt	401C > T	GGH 401TT – nižší hladiny MTXPG, souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (35)	
		452C > T	snížení aktivity GGH a intracelulární hromadění dlouhých řetězců MTXPG (42), souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (43)	
		16T > C	neznámý	
MTHFR	metylace homocysteinu	677C > T	alela T – zvýšené riziko hepatotoxicity (46, 47, 48)	není souvislost (44, 47, 48)
		1298A > C	rozporuplná data	1298AA – výraznější pokles CRP a FW při nižší spotřebě MTX (47)
MTHFD1	de novo syntéza purinů	1958G > A	neznámý	1958AA – snížený efekt MTX
TYMS	de novo syntéza pyrimidinů	opakování 28 párů bazí v oblasti 5'-UTR	neznámý	homozygoti pro 2 opakování – lepší odpověď na léčbu, menší spotřeba MTX (36, 55)
		delece 6 párů bazí na pozici 1494 v oblasti 3'-UTR	snížená exprese a stabilita TYMS mRNA (56, 57), souvislost s toxicitou nebo efektem neznámá	
DHFR	konverze homocysteinu na methionin	829C > T	zvýšená exprese DHFR (59), souvislost s toxicitou nebo efektem neznámá	
		473G > A	souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (37)	
		35289G > A	souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (37)	
ATIC	metabolismus adenosinu	347C > G	347G – vyšší výskyt nežádoucích účinků (61, 62)	347CC – dobrá odpověď na léčbu (61)
ITPA	metabolismus adenosinu	94C > A	neznámý	94CC – dobrá odpověď na léčbu (61)
AMPD1	metabolismus adenosinu	34C > T	neznámý	34T – dobrá odpověď na léčbu (61)
ADORA2A	receptor pro adenosin	5 různých polymorfismů	souvislost s gastrointestinální toxicitou (64)	není souvislost (64)

portérů, ABCC2 IVS 23 + 56 T > C, může souviset se změnou hladiny metotrexátu a s jeho toxicitou u pacientů s revmatoidní artritidou (39).

Polyglutamace metotrexátu

Bylo popsáno několik polymorfismů pro geny GGH a FPGS, u některých z nich ale není známa jejich souvislost se změnou efektivity nebo nežádoucích účinků při léčbě metotrexátem. Dervieux et al. popsal souvislost polymorfismu promoteru GGH 401C > T se změnou hladiny MTXPG. Pacienti s genotypem GGH 401TT měli nižší hladinu MTXPG ve srovnání s pacienty s jinými genotypy (34). Polymorfismus GGH 452C > T je spojen se snížením aktivity GGH a intracelulárním hromaděním dlouhých řetězců MTXPG (41), nicméně nebyla prokázána jeho souvislost se změnou odpovědi na léčbu nebo s toxicitou (42).

Dalším popisovaným SNP je GGH 16T > C, jeho funkční dopady prozatím nejsou známy, stejně jako polymorfismů genu FPGS.

Folátový metabolismus

Nejlépe prostudovaným genem v intracelulárním metabolismu metotrexátu je MTHFR. Enzym **MTHFR** je klíčový pro konverzi 5,10-metyltetrahydrofolátu na 5-metyltetrahydrofolát, který je nezbytný pro metylaci homocysteinu

a vznik methioninu (43). Výrazné snížení funkce enzymu může vést k hyperhomocysteinémii a následně k poškození endotelu, zvýšenému riziku trombóz a vzniku aterosklerózy. Genetické změny zkoumané v souvislosti s metabolizmem metotrexátu způsobují většinou pouze menší deficit MTHFR. Do současnosti bylo popsáno více než 10 polymorfismů pro gen MTHFR, detailněji však byly prostudovány pouze dva (44).

SNP 677C > T způsobuje záměnu alaninu za valin na kodonu 222. Vzniká termolabilní varianta enzymu MTHFR s nižší enzymatickou aktivitou. Genotyp 677TT má prevalenci 8–10 %, aktivita enzymu je v tomto případě asi 30 %. Heterozygotů (677CT) s aktivitou enzymu kolem 60 % je v populaci zhruba 40 %. U pacientů s alespoň jednou alelou T bylo prokázáno zvýšené riziko vzniku nežádoucích účinků, především hepatotoxicity (45, 46, 47). Podle většiny dostupných dat není tento polymorfismus spojen se změnou efektivity léčby (43, 46, 47).

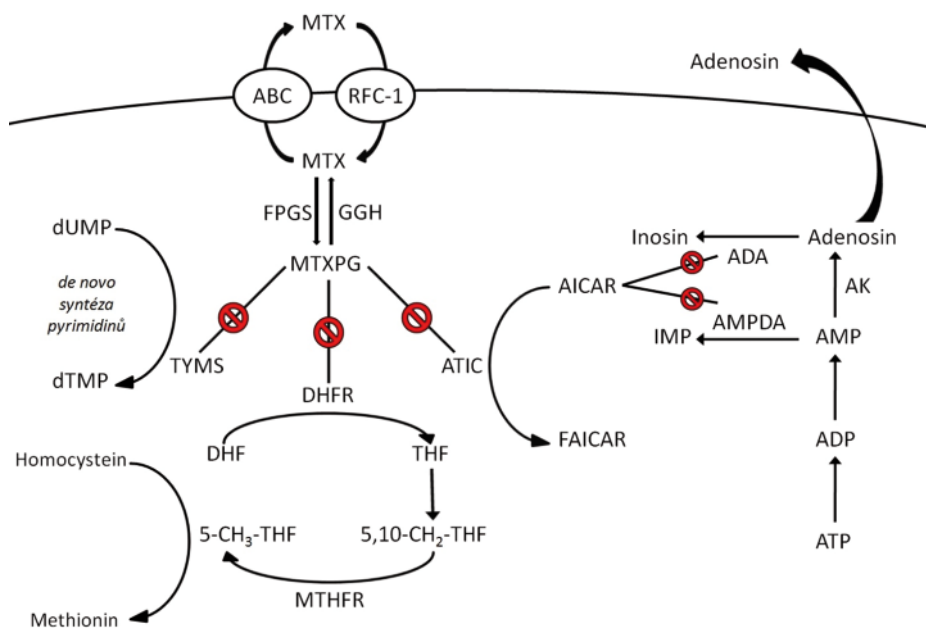
Druhým polymorfismem je 1298A > C, který vede k záměně glutaminu a alaninu na kodonu 222 a k syntéze enzymu se sníženou aktivitou (na rozdíl od předchozího polymorfismu není termolabilní). Alela C se v populaci vyskytuje asi ve 32 %. U homozygotů je enzymatická aktivita 60 % (48, 49). Urano et al. (46) publikoval stu-

dii, ve které pacienti s alespoň jednou alelou C měli signifikantně nižší spotřebu metotrexátu ve srovnání s pacienty s genotypem 1298AA, navíc u nich v průběhu léčby došlo k výraznějšímu snížení hladiny CRP a sedimentace, ale nebyl výrazný rozdíl v počtu oteklých a bolestivých kloubů. Data o vztahu tohoto polymorfismu a toxicity metotrexátu jsou rozporuplná, některé studie ukazují možnou souvislost s genotypem 1298AA (50, 51), jiné s genotypem 1298CC (36).

Methylenetetrahydrofolát dehydrogenáza (MTHFD1) je enzym skládající se ze třech domén (5,10-methylenetetrahydrofolát dehydrogenáza, 5,10-methylenetetrahydrofolát cyklohydroláza a 10-formyltetrahydrofolát syntáza) a je zodpovědný za vznik 10-formyltetrahydrofolátu (10-formyl THF) z 5,10-methylenetetrahydrofolátu. 10-formyl-THF je, stejně jako 5-metyltetrahydrofolát, důležitým kofaktorem v procesu de novo syntézy purinů. Polymorfismus MTHFD1 1958G > A, konkrétně genotyp AA, je dáván do souvislosti se sníženým účinkem metotrexátu (59).

TYMS, klíčový enzym v de novo syntéze pyrimidinů, je přímým cílem MTXPG. Jeho inhibice vede k depleci dTMP, snížené inkorporaci uracilu, chromozomálnímu poškození a následně buněčné smrti (52). Byla popsána sekvence opakujících se bazí (28 párů bazí) v genu TYMS. Tato sekven-

Obrázek 1. Intracelulární metabolismus metotrexátu



5,10-CH₂-THF – 5,10-methylentetrahydrofolát; 5-CH₃-THF – 5-methyltetrahydrofolát; ABC – ATP-binding cassette transportéry; ADA – adenosin deamináza; ADP – adenosindifosfát; AICAR – 5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid; AK – adenosin kináza; AMP – adenosinmonofosfát; AMPDA – adenosinmonofosfát deamináza; ATIC – 5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid formyltransferáza; ATP – adenosintrifosfát; DHF – dihydrofolát; DHFR – dihydrofolát reduktáza; dTMP – deoxythimidinmonofosfát; dUMP – deoxyuridinmonofosfát; FAICAR – 10-formyl-5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid; FPGS – folyl-polyglutamát syntáza; GGH – gamaglutamyl hydroláza; IMP – inosinmonofosfát; MTHFR – 5,10-metylen-tetrahydrofolát reduktáza; MTX – metotrexát; MTXPG – metotrexát polyglutamát; RCF-1 – reduced folate carrier; THF – tetrahydrofolát; TYMS – thymidylvált syntáza

ce zřejmě funguje jako enhancer – se zvyšujícím se počtem opakování se zvyšuje exprese TYMS mRNA i enzymatická aktivita TYMS in vitro (53). U pacientů homozygotních pro dvě opakování byla prokázána lepší odpověď na léčbu metotrexátem než u pacientů se třemi opakováními, kteří zároveň potřebují větší dávky léku (35, 54). Dalším známým polymorfismem TYMS je delece šesti párů bazí (TTAAAG) na pozici 1494 v oblasti označované jako 3'-UTR (3'-nepřekládaná, netranslatovaná oblast; 3'-untranslated region) (55). Ačkoliv význam tohoto polymorfismu není zcela objasněn, některé studie poukazují na souvislost se sníženou expresí a stabilitou TYMS mRNA (55, 56).

DHFR je enzym nezbytný pro redukci dihydrofolátu na tetrahydrofolát a je přímo inhibován MTXPG. Podle in vitro výsledků mohou mít mutace genu DHFR souvislost se sníženou efektivitou metotrexátu (57). Podle japonské studie Gota et al. z roku 2001 (58) vede polymorfismus DHFR 829C>T ke zvýšené expresi DHFR. Naopak ve studii, kterou publikoval Wessels et al. (59) a které se zúčastnilo 205 pacientů, nebyla prokázána souvislost polymorfizmů DHFR 473G>A a 35289G>A s efektivitou ani toxicitou metotrexátu.

Metabolizmus adenosinu

Ovlivnění metabolismu adenosinu patří k nejdůležitějším mechanismům protizánětliv-

vého působení metotrexátu. V této oblasti jsou dobře známy především mutace genů kódujících tři enzymy adenosinového metabolismu. AICAR transferáza (ATIC) je přímo inhibována působením MTXPG. MTXPG prostřednictvím inhibice ATIC ovlivňuje inosintrifosfát pyrofosfatázu (ITPA), enzym zajišťující konverzi inosintrifosfátu (ITP) na inosinmonofosfát (IMP) a adenosinmonofosfát deaminázu (AMPD1), konvertující AMP na IMP. Wessels et al. (60) popsal souvislost polymorfismů těchto genů (ATIC 347C > G, ITPA 94C>A, AMPD1 34C>T) s efektivitou metotrexátu. Konkrétně se jedná o lepší odpověď na léčbu u genotypů ATIC 347CC, ITPA 94CC a AMPD1 34T. Zároveň byl popsán možný vliv genotypu ATIC 347G na vyšší výskyt nežádoucích účinků (60, 61).

Dervieux et al. (62) popsal souvislost polymorfizmů genů pro methionin syntázu a methionin reduktázu (MTR, MTRR) s toxicitou metotrexátu, nicméně data z této malé studie nebyla zatím potvrzena na větším statistickém souboru.

Vazba adenosinu na povrch buněk imunitního systému je zprostředkována receptorem A2 (ADORA2A). Byla popsána souvislost pěti SNPs tohoto genu s rozvojem nežádoucích účinků metotrexátu, přičemž většinou se jednalo o gastrointestinální toxicitu. Naopak nebyla potvrzena souvislost těchto polymorfizmů s účinností metotrexátu (63).

Závěr

Výzkum v oblasti farmakogenetiky metotrexátu poukázal na poměrně velké množství genových polymorfizmů, které mohou mít vliv na efektivitu léčby metotrexátem nebo jeho nežádoucí účinky. Celá řada těchto dat je však, bohužel, rozporuplná. Mezi nejvýznamnější limitace patří to, že se většinou jedná o ojedinělé studie s malým počtem pacientů, jejichž výsledky zatím nebyly potvrzeny na větším statistickém souboru. Navíc většina těchto studií zkoumá malé, homogenní populace, což může značně ovlivnit frekvenci výskytu jednotlivých genotypů. Dalším omezením, které brání využití těchto poznatků v klinické praxi, je fakt, že velké množství zkoumaných genotypů se v populaci vyskytuje s poměrně malou frekvencí, takže jejich mapování není použitelné jako rutinní screenin-
gová metoda u pacientů léčených metotrexátem.

V budoucnosti je tedy nutné upřesnění dostupných výsledků ve studiích s větším počtem pacientů a delší dobou sledování. Potom bude možné vybrat konkrétní polymorfismy, vhodné pro použití v běžné klinické praxi, vytvořit jednoduchou, rychlou, spolehlivou a finančně dostupnou metodu jejich sledování a začlenit tak farmakogenetické poznatky jako součást personalizované medicíny do péče o pacienty léčené metotrexátem.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

Literatura

1. Smolen JS, Landewé 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(6): 964–975.
2. Wisser K, Katchamart W, Loza E, et al. Multinational evidence-based recommendations for the use of methotrexate in rheumatic disorders with a focus on rheumatoid arthritis: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad international panel of rheumatologists in the 3E Initiative. *Ann Rheum Dis* 2009; 68(7): 1086–1093.
3. Pavelka K. Metotrexát. In: Pavelka K, et al. *Farmakoterapie revmatických onemocnění*. Praha: Grada Publishing a.s., 2005: 91–99.
4. Bartholomew JM, Martin JW, Fleischmann RM, et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343(22): 1586–1593.
5. Strand V, Cohen S, Schiff M, et al. Treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide compared with placebo and methotrexate. *Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. Arch Intern Med.* 1999; 159(21): 2542–2550.
6. 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: 1100–1104.
7. Kremer JM, Phelps CT. Long-term prospective study of the use of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Update after a mean of 90 months. *Arthritis Rheum.* 1992; 35(2): 138–145.
8. Schnabel A, Herlyn K, Burchard C, Reinhold-Keller E, Gross WL. Long-term tolerability of methotrexate at doses exceeding 15 mg per week in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 1996; 15(5): 195–200.
9. McKendry RJ, Dale P. Adverse effects of low dose methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1993; 20(11): 1850–1856.
10. Weinblatt ME, Trentham DE, Fraser PA, et al. Long-term prospective trial of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988; 31(2): 167–175.

11. Yazici Y, Erkan D, Harrison MJ, Nikolov NP, Paget SA. Methotrexate use in rheumatoid arthritis is associated with few clinically significant liver function test abnormalities. *Clin Exp Rheumatol*. 2005; 23(4): 517–512.
12. Ince A, Yazici Y, Hamuryudan V, Yazici H. The frequency and clinical characteristics of methotrexate (MTX) oral toxicity in rheumatoid arthritis (RA): a masked and controlled study. *Clin Rheumatol*. 1996; 15(5): 491–494.
13. Albrecht K, Müller U. Side effects and management of side effects of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2010; 28(Suppl. 61): S95–S101.
14. Golden MR, Katz RS, Balk RA, Golden HE. The relationship of preexisting lung disease to the development of methotrexate pneumonitis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1995; 22(6): 1043–1047.
15. Ohosone Y, Okano Y, Kameda H, et al. Clinical characteristics of patients with rheumatoid arthritis and methotrexate induced pneumonitis. *J Rheumatol*. 1997; 24(12): 2299–2303.
16. Nakazaki S, Murayama T, Katoh S. Cytopenia associated with low dose pulse methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ryumachi*. 2001; 41(6): 929–937.
17. Lebbe C, Beyeler C, Gerber NJ, Reichen J. Intraindividual variability of the bioavailability of low dose methotrexate after oral administration in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1994; 53(7): 475–477.
18. Matherly LH, Goldman DI. Membrane transport of folates. *Vitam Horm*. 2003; 66: 403–456.
19. van Roon EN, van de Laar MAFJ. Methotrexate bioavailability. *Clin Exp Rheumatol*. 2010; 28(Suppl): S27–S32.
20. Spinella MJ, Brigle KE, Sierra EE, Goldman ID. Distinguishing between folate receptor-alpha-mediated transport and reduced folate carrier-mediated transport in L1210 leukemia cells. *J Biol Chem*. 1995; 270: 7842–7849.
21. Hooijberg JH, Broxterman HJ, Kool M, et al. Antifolate resistance mediated by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *Cancer Res*. 1999; 59(11): 2532–2535.
22. Kool M, van der Linden M, de Haas M, et al. MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96(12): 6914–6919.
23. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacology*. 2000; 47(2–3): 247–257.
24. van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, De Abreu RA, van de Putte LB. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Semin Arthritis Rheum*. 1998; 27(5): 277–292.
25. Szeto DW, Cheng YC, Rosowsky A, et al. Human thymidylate synthetase – III. Effects of methotrexate and folate analogs. *Biochem Pharmacol*. 1979; 28(17): 2633–2637.
26. Chan ES, Cronstein BN. Molecular action of methotrexate in inflammatory diseases. *Arthritis Res*. 2002; 4(4): 266–273.
27. Cronstein BN. Low-dose methotrexate: a mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rev*. 2005; 57: 163–172.
28. Wessels JA, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2008; 47: 249–255.
29. Palmer TM, Trevethick MA. Suppression of inflammatory and immune responses by the A (2a) adenosine receptor: an introduction. *Br J Pharmacol*. 2008; 153(Suppl 1): S27–S34.
30. Rothem L, Aronheim A, Assaraf YG. Alterations in the expression of transcription factors and the reduced folate carrier as a novel mechanism of antifolate resistance in human leukemia cells. *J Biol Chem*. 2003; 278(11): 8935–8941.
31. Rothem L, Stark M, Kaufman Y, Mayo L, Assaraf YG. Reduced folate carrier gene silencing in multiple antifolate-resistant tumor cell lines is due to a simultaneous loss of function of multiple transcription factors but not promoter methylation. *J Biol Chem*. 2004; 279(1): 374–384.
32. Chango A, Emery-Fillon N, de Courcy GP, et al. A polymorphism (80G>A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. *Mol Genet Metab*. 2000; 70(4): 310–315.
33. Dervieux T, Furst D, Lein DO, et al. Pharmacogenetic and metabolite measurements are associated with clinical status in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate: results of a multicentred cross sectional observational study. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64(8): 1180–1185.
34. Dervieux T, Kremer J, Lein DO, et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics*. 2004; 14(11): 733–739.
35. Dervieux T, Furst D, Lein DO, et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(9): 2766–2774.
36. Wessels JA, de Vries-Bouwstra JK, Heijmans BT, et al. Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(4): 1087–1095.
37. Norris MD, De Graaf D, Haber M, et al. Involvement of MDR1 P-glycoprotein in multifactorial resistance to methotrexate. *Int J Cancer*. 1996; 65(5): 613–619.
38. Takatori R, Takahashi KA, Tokunaga D, et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2006; 24(5): 546–554.
39. Ranganathan P, Culverhouse R, Marsh S, et al. Methotrexate (MTX) pathway gene polymorphisms and their effects on MTX toxicity in Caucasian and African American patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2008; 35(4): 572–579.
40. Kooloos WM, Wessels JA, van der Straaten T, Allaart CF, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Functional polymorphisms and methotrexate treatment outcome in recent-onset rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics*. 2010; 11(2): 163–175.
41. Cheng Q, Wu B, Kager L, et al. A substrate specific functional polymorphism of human gamma-glutamyl hydrolase alters catalytic activity and methotrexate polyglutamate accumulation in acute lymphoblastic leukaemia cells. *Pharmacogenetics*. 2004; 14(8): 557–567.
42. van der Straaten RJ, Wessels JA, de Vries-Bouwstra JK. Exploratory analysis of four polymorphisms in human GGH and FPGS genes and their effect in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(2): 141–150.
43. van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, et al. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum*. 2001; 44(11): 2525–2530.
44. Brinker RR, Ranganathan P. Methotrexate pharmacogenetics in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2010; 28(Suppl 61): S33–S39.
45. van Ede AE, Laan RF, Rood MJ. Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum*. 2001; 44(7): 1515–1524.
46. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics*. 2002; 12(3): 183–190.
47. Hider SL, Mack LF, Shadforth MF, et al. Single nucleotide polymorphisms within MTHFR are associated with abnormal liver function tests in RA patients receiving MTX. *Rheumatology*. 2006; 45(Suppl. 1): 104.
48. van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet*. 1998; 62(5): 1044–1051.
49. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*. 2002; 64(3): 169–172.
50. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis*. 2004; 63(10): 1227–1231.
51. Hughes LB, Beasley TM, Patel H. Racial or ethnic differences in allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and their influence on response to methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006; 65(9): 1213–1218.
52. Ranganathan P, McLeod HL. Methotrexate pharmacogenetics: the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(5): 1366–1377.
53. Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. *Pharmacogenomics J*. 2001; 1(1): 65–70.
54. Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, et al. Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med*. 2003; 11(5): 593–600.
55. Ulrich CM, Bigler J, Velicer CM, et al. Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9(12): 1381–1385.
56. Merkelbach-Bruse S, Hans V, Mathiak M, et al. Associations between polymorphisms in the thymidylate synthase gene, the expression of thymidylate synthase mRNA and the microsatellite instability phenotype of colorectal cancer. *Oncol Rep*. 2004; 11(4): 839–843.
57. Banerjee D, Mayer-Kuckuk P, Capiaux G, et al. Novel aspects of resistance to drugs targeted to dihydrofolate reductase and thymidylate synthase. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1587(2–3): 164–173.
58. Goto Y, Yue L, Yokoi A, et al. A novel single-nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the human dihydrofolate reductase gene with enhanced expression. *Clin Cancer Res*. 2001; 7(7): 1952–1956.
59. Wessels JA, van der Kooij SM, le Cessie S, et al. A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007; 56(6): 1765–1775.
60. Wessels JA, Kooloos WM, De Jonge R, et al. Relationship between genetic variants in the adenosine pathway and outcome of methotrexate treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(9): 2830–2839.
61. Weisman MH, Furst DE, Park GS, et al. Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(2): 607–612.
62. Dervieux T, Greenstein N, Kremer J. Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(10): 3095–3103.
63. Hider SL, Mack LF, Armstrong DJ, et al. Single nucleotide polymorphisms within adenosine receptor A2a are associated with gastrointestinal (GI) adverse events on MTX therapy. *Rheumatology*. 2006; 45(Suppl. 1): i104.

Článek přijat redakcí: 16. 9. 2013
Článek přijat k publikaci: 22. 10. 2013

MUDr. Tomáš Veleta

OUM FN Hradec Králové

Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

tomas.veleta@centrum.cz