

Новые возможности контроля эффективности метотрексата при ревматоидном артрите

Муравьев Ю.В.

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: Юрий Владимирович Муравьев;
murawyu@mail.ru

Contact: Yuri Muravyev;
murawyu@mail.ru

Поступила 15.12.14

Обзор посвящен прогнозированию лечебного эффекта метотрексата при ревматоидном артрите с помощью определения его уровня в эритроцитах.

Ключевые слова: метотрексат; ревматоидный артрит; полиглутаматы; период полувыведения; эритроциты.
Для ссылки: Муравьев Ю.В. Новые возможности контроля эффективности метотрексата при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2015;53(3):308–311.

NEW POSSIBILITIES FOR MONITORING METHOTREXATE EFFICACY IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Muravyev Yu.V.

The review deals with the prediction of the therapeutic effect of methotrexate in rheumatoid arthritis, by determining its level in the red blood cells.

Keywords: methotrexate; rheumatoid arthritis; polyglutamates; elimination half-life; red blood cells.

For reference: Muravyev YuV. New possibilities for monitoring methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis.

Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013;53(3):308–311 (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2015-308-311>

Метотрексат (МТ) — препарат, относящийся к группе антиметаболитов, по структуре близкий к фолиевой (птерилглутаминовой) кислоте, от которой отличается заменой аминогруппы на карбоксильную группу в 4-м положении птеридиновой молекулы и добавлением метиловой группы в 10-м положении 4-аминобензойной кислоты, в настоящее время считается основным («anchor drug») в лечении ревматоидного артрита (РА) [1–4].

Терапевтическая эффективность и неблагоприятные реакции (НР), возникающие в процессе лечения МТ, во многом объясняются антифолатными свойствами препарата. Фолиевая кислота в организме человека расщепляется ферментом дегидрофолатредуктазой (ДФР) 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, поэтому инактивация ДФР считается одним из основных фармакологических эффектов МТ, привлекая простотой и специфичностью.

В настоящее время нет основанной на терапевтическом контроле (ТК) валидированной модели, позволяющей прогнозировать лечебный эффект МТ и НР в результате его назначения. Предложенная ранее фармакогенетическая модель прогнозирования лечебного эффекта МТ (включающая пол, ревматоидный фактор, курение, активность болезни по DAS и полиморфизм генов четырех ферментов — аденозин монофосфат дисаминазы, аминоимидазол карбоксамид рибонуклеотид трансформилазы, инозин трифосфат пирофосфатазы и метилентетра-

гидрофосфат дегидрогеназы) до настоящего времени не нашла применения [5]. Поэтому в клинической практике препарат по-прежнему назначается методом проб и ошибок [6–8].

Ранее было показано, что у большинства больных РА плато эффективности достигалось при средней недельной дозе МТ 10 мг/м² [9], в то же время четкой связи между фармакокинетическими параметрами и клиническим ответом, как это наблюдается при назначении многих лекарственных препаратов, не установлено, поскольку 95% МТ в течение первых 24 ч после применения исчезает из плазмы, поступая, главным образом, в эритроциты. Поэтому определение его концентрации в плазме крови хотя и не сложно, но малоинформативно для обычной клинической практики [10]. Более того, заметные колебания концентрации препарата, наблюдающиеся в крови у разных больных, могут быть связаны с наличием двух генотипов фермента альдегид оксидазы (АО), катализирующей окисление МТ в 7-гидроксиметотрексат (7-ОН-МТ) — основной метаболит МТ, от которого только в определенной степени может зависеть польза препарата [11], поскольку уменьшение образования 7-ОН-МТ в результате подавления фолиевой кислотой АО улучшает клинический эффект, в то время как увеличение образования 7-ОН-МТ приводит к повышенной экскреции МТ и уменьшению его эффекта. Поэтому появилось предположение, что лечебный эффект МТ может быть обусловлен его внутриклеточным уровнем, определение которого гораздо сложнее, нежели концентрации препарата в плазме крови [10]. Активно изучается гипотеза, согласно которой определение уров-

ня МТ в эритроцитах позволит прогнозировать лечебный эффект МТ, установив целевой показатель его внутриклеточной концентрации [12–18].

Транспортировка МТ через клеточную мембрану эритроцитов осуществляется так же, как природных фолатов, – восстановленным переносчиком фолатов (ВПФ; reduced folate carrier – RFC) [19, 20]. Поэтому уменьшение транспортной способности ВПФ может быть связано как с потерей эффективности МТ, так и с фолатной недостаточностью [21–23].

Имеются данные, позволяющие считать, что МТ – пролекарство, представляющее собой неактивную молекулу [24]. Нативный МТ – МТ-глутамат (ГЛ) 1 – становится лекарством после проникновения в клетки, где быстро превращается в активные формы МТ-полиглутамата (ПГ)–МТПГ2–5 в результате присоединения под влиянием фермента фолилполиглутамат синтетазы (ФПС) до четырех остатков ГЛ, предупреждая таким образом выход МТ из эритроцитов. Глутамация может быть обратима под действием фермента гамма-глутамил гидролазы – γ -glutamyl hydrolase (ГГГ). Внутриклеточная концентрация МТПГ зависит от баланса активности этих двух ферментов (ФПС и ГГГ), поэтому оценка внутриклеточного уровня МТПГ и факторов, влияющих на его накопление, потенциально полезна для контроля лечения [25]. Таким образом, объяснение клинического эффекта МТ следует из хронологии его полиглутамирования в циркулирующих эритроцитах у больных РА, начавших или прекративших лечение МТ. МТ удерживается в клетках только в полиглутамированной форме, для образования которой ФПС последовательно присоединяет участки глутаминовой кислоты, что является относительно медленным процессом. При отсутствии полиглутамирования МТ быстро выделяется из клеток [26]. Наиболее распространенными формами МТПГ оказались: МТПГ3, составляющий 37% от общего количества МТПГ; МТПГ2 (21%); МТПГ4 (11%) и МТПГ5 (6%). МТПГ накапливается в эритроцитах-предшественниках до выхода их из костного мозга в общий кровоток, и представляется, что это характерно для МТПГ и в других клетках. В среднем необходимо 41,2 нед для достижения постоянного уровня концентрации МТПГ3 в эритроцитах, что хорошо коррелирует с клиническим эффектом МТ, который достигает плато к концу 6-го месяца лечения [27]. Считается, что применение МТ можно в определенной степени оптимизировать, контролируя концентрацию МТПГ в эритроцитах [13, 28]. МТПГ, образовавшиеся в клетках, оказывают ингибирующее действие не только на дегидрофолатредуктазу (ДФФ), но и на другие фолат-зависимые ферменты, включая тимидилатсинтетазу, 5-аминоимдазол-4-карбоксамидорибонуклеотид (АИКАР) трансамилазу [24]. Предполагается, что полное ингибирование ДФФ, приводящее к снижению синтеза ДНК, имеет место главным образом при назначении сверхвысоких доз МТ (100–1000 мг/м²) и составляет основу антипролиферативного действия препарата, имеющего важное значение при лечении онкологических больных. Напротив, при использовании низких доз МТ (применяемых для лечения РА) фармакологические эффекты препарата связаны с действием его глутамированных метаболитов, ингибирующих активность АИКАР, что ведет к внутриклеточному и внеклеточному накоплению аденозина. В связи с этим следует

напомнить, что аденозин – пуриновый нуклеозид, образующийся после внутриклеточного расщепления АТФ, – обладает способностью подавлять агрегацию тромбоцитов и модулировать иммунные и воспалительные реакции, уменьшая секрецию таких цитокинов, как фактор некроза опухоли α (ФНО α) и интерлейкин 6 (ИЛ6) [29, 30].

Утверждение о том, что клинический эффект лечения МТ больных РА зависит от уровня МТПГ в эритроцитах, подтверждается рядом публикаций [12–14, 28, 31]. При этом концентрация длинных цепей – МТПГ3; МТПГ3–5 и суммарного МТПГ1–5 – коррелирует только с лечебным эффектом, в то же время связи с НР не установлено. Длинные цепи МТПГ более эффективно, нежели короткие, подавляют ключевые ферменты фолатного пути [32, 33]. Однако имеется и противоположная точка зрения [34]. Следует отметить, что перевод с перорального на парентеральное применение МТ повышает концентрацию МТПГ, а достижение терапевтического порога концентрации МТПГ в эритроцитах (60 нмоль/л) было связано со значительным увеличением лечебного эффекта МТ (хороший ответ на МТ). Пока остается не совсем понятным, какой из МТПГ следует оценивать для контроля лечения, поскольку специально проведенное исследование образования МТПГ и корреляции их концентрации с клиническим ответом (по DAS28) у не получавших ранее МТ больных РА показало, что именно короткая цепь МТПГ – МТПГ2 – является потенциальным индикатором клинического ответа и может служить маркером для контроля лечения [35]. Согласно результатам другого исследования, наиболее распространенными формами МТПГ оказались МТПГ3 (37%); МТПГ2 (21%); МТПГ4 и МТПГ5 (соответственно 11 и 6% от общего количества МТПГ).

Период полувыведения МТПГ3 составлял 4,3 нед; очевидно, поэтому больные РА не испытывают обострения в среднем около 1 мес после прекращения применения МТ [36]. Установлено также, что доза МТ достоверно коррелирует с длинными цепями МТПГ – МТПГ3, МТПГ4, МТПГ5, МТПГ1–5, МТПГ3–5, а длительное лечение МТ связано с более высокой концентрацией МТПГ4, МТПГ5, МТПГ3–5, МТПГ1–5, при этом применение преднизолона достоверно повышало уровень МТПГ2, МТПГ3, МТПГ4, МТПГ1–5, МТПГ3–5. Нестероидные противовоспалительные препараты достоверно снижали концентрацию МТПГ3, МТПГ1–5, МТПГ3–5, курение также достоверно снижало концентрацию этих соединений [37]. Еще в одном исследовании было показано, что после перевода больных РА с перорального на подкожное введение МТ концентрация МТПГ в эритроцитах повышалась и становилась устойчивой не менее чем через 6 мес. Снижение активности РА было связано с повышением содержания длинных цепей МТПГ [38].

Быстрое и эффективное подавление воспаления (достижение ремиссии/низкой активности) – главная цель лечения РА, однако МТ начинает действовать спустя недели и даже месяцы. Гипотетически целенаправленный мониторинг концентрации препарата, другими словами – ТК МТ, позволил бы решить вопрос о необходимости изменения терапии, чтобы достичь более быстрого и хорошего эффекта. Доза МТ, необходимая разным больным РА для достижения целевых уровней воспали-

тельной активности, значительно различается и почти непредсказуема. На практике ее повышают («быстрая эскалация дозы»), чтобы добиться лечебного эффекта; в результате у больных, с одной стороны, появляется возможность получить более высокую дозу препарата, чем необходимо для контроля РА, что чревато развитием НР, а с другой — не достичь лечебного эффекта, если доза МТ будет недостаточно высока, что нередко приводит к его преждевременной отмене/замене. Ряд исследователей доказали пользу контроля концентрации МТПГ в эритроцитах, однако пока этот метод не нашел практического применения [39]. Наибольшее подавление активности РА связывают с образованием длинных цепей МТПГ — МТПГЗ–5, — поэтому обсуждается целесообразность проведения дальнейших исследований для решения воп-

роса о полезности измерения концентрации МТПГ в эритроцитах с целью персонализации лечения больных РА [40]. В настоящее время решение этой проблемы является ключевым, поскольку давно назрела необходимость объективного контроля рационального применения МТ при РА [25].

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. Насонов ЕЛ. Метотрексат: перспективы применения в ревматологии. Москва: Филоматис; 2005. 200 с. [Nasonov EL. *Metotrexat: perspektivy primeneniya v revmatologii* [Methotrexate: prospects of application in rheumatology]. Moscow: Filomatis; 2005. 200 p.]
2. Kay J, Westhovens R. Methotrexate: the gold standard without standardization. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:1081–2. doi: 10.1136/ard.2008.102822
3. Pincus T, Yazici Y, Sokka T, et al. Methotrexate as the «anchor drug» for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21:179–85.
4. 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;159:2542–50. doi: 10.1001/archinte.159.21.2542
5. 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;56:1765–75. doi: 10.1002/art.22640
6. Муравьев ЮВ. Вопросы стандартизации применения метотрексата в ежедневной практике ревматолога (обзор). Терапевтический архив. 2011;(5):33–7 [Murav'ev YuV. Questions of standardization of methotrexate in the daily practice of a rheumatologist (a review). *Terapevticheskii arkhiv*. 2011;(5):33–7 (In Russ.)].
7. Муравьев ЮВ, Евлоева НВ, Лебедева ВВ, Насонов ЕЛ. Современная практика лечения метотрексатом ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2012;50(4):117–9 [Murav'ev YuV, Evloeva NV, Lebedeva VV, Nasonov EL. The modern practice of methotrexate treatment of rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2012;50(4):117–9 (In Russ.)].
8. Муравьев ЮВ. Дозирование метотрексата при лечении ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2013;51(4):456–9 [Murav'ev YuV. Dosage of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;51(4):456–9 (In Russ.)].
9. Furst DE, Koehnke R, Burmeister LF, et al. Increasing methotrexate effect with increasing dose in the treatment of resistant rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1989;16(3):313–20.
10. Bannwarth B, Pehourcq F, Schaefferbeke T, Dehais J. Clinical pharmacokinetics of low-dose pulse methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacokinet*. 1996;30:194–210. doi: 10.2165/00003088-199630030-00002
11. Baggott JE, Morgan SL. Methotrexate catabolism to 7-hydroxymethotrexate in rheumatoid arthritis alters drug efficacy and retention and is reduced by folic acid supplementation. *Arthritis Rheum*. 2009 Aug;60(8):2257–61. doi: 10.1002/art.24685
12. Dervieux T, Furst D, Lein DO, et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transferase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2766–74. doi: 10.1002/art.20460
13. 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
14. Angelis-Stoforidis P, Vajda FJ, Christophidis N. Methotrexate polyglutamate levels in circulating erythrocytes and polymorphisms correlate with clinical efficacy in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 1999;17:313–20.
15. Kremer JM, Lee JK. The safety and efficacy of the use of methotrexate in long-term therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1986;29:822–31. doi: 10.1002/art.1780290702
16. Hroch M, Tukova J, Dolezalova P, Chladek J. An improved high-performance liquid chromatography method for quantification of methotrexate polyglutamates in red blood cells of children with juvenile idiopathic arthritis. *Biopharm Drug Dispos*. 2009;30:138–48. doi: 10.1002/bdd.654
17. Becker ML, Gaedigk R, van Haandel L, et al. The effect of genotype on methotrexate polyglutamate variability in juvenile idiopathic arthritis and association with drug response. *Arthritis Rheum*. 2011;63:276–85. doi: 10.1002/art.30080
18. Becker ML, van Haandel L, Gaedigk R, et al. Analysis of intracellular methotrexate polyglutamates in patients with juvenile idiopathic arthritis: effect of route of administration on variability in intracellular methotrexate polyglutamate concentrations. *Arthritis Rheum*. 2010;62:1803–12. doi: 10.1002/art.27434
19. Goldman ID. The characteristics of the membrane transport of amethopterin and the naturally occurring folates. *Ann N Y Acad Sci*. 1971;186:400–22. doi: 10.1111/j.1749-6632.1971.tb46996.x
20. Westerhof GR, Schornagel JH, Kathmann I, et al. Carrier- and receptor-mediated transport of folate antagonists targeting folate-dependent enzymes: correlates of molecular structure and biological activity. *Mol Pharmacol*. 1995;48:459–71.
21. Jansen G, Mauritz R, Drori S, et al. A structurally altered human reduced folate carrier with increased folic acid transport mediates a novel mechanism of antifolate resistance. *J Biol Chem*. 1998;273:189–98. doi: 10.1074/jbc.273.46.30189
22. Jansen G, Pieters R. The role of impaired transport in (pre)clinical resistance to methotrexate: insights on new antifolates. *Drug Resist Updat*. 1998;1(3):211–8. doi: 10.1016/S1368-7646(98)80042-3

23. Rots MG, Pieters R, Kaspers GJ, et al. Classification of ex vivo methotrexate resistance in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia. *Br Haematol.* 2000;110:791–800. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.02070.x
24. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, et al. Polyglutamation of methotrexate. Is methotrexate a prodrug? *J Clin Invest.* 1985;76(3):907–12. Review. doi: 10.1172/JCI112088
25. Kremer JM. Still trying to understand methotrexate. *J Rheumatol.* 2014;41(11):2099–101. doi: 10.3899/jrheum.141081
26. Dalrymple JM, Stamp LK, O'Donnell JL, et al. Pharmacokinetics of oral methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58:3299–308. doi: 10.1002/art.24034
27. Weinblatt ME, Trentham DE, Fraser PA, et al. Long-term prospective trial of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31:167–75. doi: 10.1002/art.1780310203
28. 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;64:1180–5. doi: 10.1136/ard.2004.033399
29. Cronstein BN. Going with flow: methotrexate, adenosine, and blood flow. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:421–2. doi: 10.1136/ard.2005.049601
30. Riksen NP, Barrera P, van den Broek PH, et al. Methotrexate modulates the kinetics of adenosine in humans *in vivo*. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:466–70. doi: 10.1136/ard.2005.048637
31. Dervieux T, Greenstein N, Kremer J. Pharmacogenetic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3095–103. doi: 10.1002/art.22129
32. Baggott JE, Vaughn WH, Hudson BB. Inhibition of 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide transformylase, adenosine deaminase and 5'-adenylate deaminase by polyglutamates of methotrexate and oxidized folates and by 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside and ribotide. *Biochem J.* 1986;236(1):193–200.
33. Allegra CJ, Drake JC, Jolivet J, Chabner BA. Inhibition of phosphoribosyl aminoimidazole carboxamide transformylase by methotrexate and dihydrofolic acid polyglutamates. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82(15):4881–5. doi: 10.1073/pnas.82.15.4881
34. Stamp LK, O'Donnell JL, Chapman PT, et al. Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2009;60:2248–56. doi: 10.1002/art.24653
35. Hobl EL, Jilma B, Erlacher L, et al. A short-chain methotrexate polyglutamate as outcome parameter in rheumatoid arthritis patients receiving methotrexate. *Clin Exp Rheumatol.* 2011 Dec 7. [Epub ahead of print].
36. Kremer JM, Rynes RI, Bartholomew LE. Severe flare of rheumatoid arthritis after discontinuation of long-term methotrexate therapy. Double-blind study. *Am J Med.* 1987;82(4):781–6. doi: 10.1016/0002-9343(87)90015-5
37. Stamp LK, O'Donnell JL, Chapman PT, et al. Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2009;60(8):2248–56. doi: 10.1002/art.24653
38. 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(12):2540–7. doi: 10.3899/jrheum.110481
39. Stamp LK, Barclay M. Therapeutic drug monitoring in rheumatic diseases: utile or futile? *Rheumatology (Oxford).* 2014;53(6):988–97. doi: 10.1093/rheumatology/ket355
40. Pan S, Stamp LK, Duffull SB, et al. Assessment of the relationship between methotrexate polyglutamates in red blood cells and clinical response in patients commencing methotrexate for rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacokinet.* 2014;53(12):1161–70. doi: 10.1007/s40262-014-0179-5

**Ответы на вопросы к лекции
Б.С. Белова, Г.М. Тарасовой
«Инфекционный эндокардит
в практике ревматолога:
вопросы клинической
картины и диагностики» (с. 298):**

- 1 – В,
- 2 – Д,
- 3 – Д,
- 4 – Б,
- 5 – Б,
- 6 – А,
- 7 – Г,
- 8 – Д,
- 9 – А.