

Metotrexatul în patologia oncologică pediatrică

METHOTREXATE IN ONCOLOGICAL PEDIATRIC PATHOLOGY

Dr. Ingrid Miron^{1,2}, Dr. Ștefana Maria Moisă^{1,2}, Dr. Laurențiu Lucaci^{1,3}

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași

²Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Sfânta Maria”, Iași

³Institutul de Boli Cardiovasculare „Prof. Dr. G. Georgescu”, Iași

Rezumat

Metotrexatul, analog structural al acidului folic, este unul dintre cei mai frecvent folosiți antimetaboliți în patologia oncologică pediatrică. Modul de acțiune și efectele toxice sunt bine cunoscute în prezent.

Obiective. Studiul realizat și-a propus să determine modul de eliminare a MTX prin dozarea metotrexatemiei la 24, 48 și 72 ore prin elaborarea unei regresii logice în scopul prezicerii valorii metotrexatemiei la 96 ore, în funcție de valoarea metotrexatemiei la 48h, 72h, valorile TGO TGP, uree, creatinină.

Material și metodă. Valorile constantelor enunțate au fost determinate în cazul a 40 de pacienți.

Rezultate și concluzii. Valoarea metotrexatemiei serice la 96 ore nu depinde nici de valoarea TGO, TGP, uree, creatinină, nici de valoarea MTX la 48 ore, ci doar de cea înregistrată la 72 ore.

Cuvinte cheie: metotrexatemie, toxicitate

Abstract

Methotrexate, a structural analogue of the folic acid, is one of the most frequently used antimetabolites in the pediatric oncologic pathology. Its mode of action and toxic effects are well known nowadays.

Objective. Our study aimed to determine the way methotrexate is eliminated by dosing its serum level at 24, 48 and 72 hours by elaborating a logical regression in order to predict serum methotrexate level at 96 hours based on 48 h, 72 h levels and on ALT, AST, urea creatinine levels.

Material and method. These parameters were investigated for 40 patients.

Results and conclusions. Methotrexate serum level at 96 hours does not depend on AST, ALT, urea, creatinine levels, nor on the methotrexate level determined at 48 hours, it only depends on the methotrexate seric level at 72 hours.

Key words: methotrexate serum level, toxicity

Metotrexatul (MTX) este cel mai larg folosit antimetabolit în oncologia pediatrică, eficient în tratamentul leucemiei acute limfoblastice (LAL), limfomului

malign non-Hodgkin (LMNH), histiocitozei și osteosarcomului.

Adresa de corespondență:

Dr. Ștefana Maria Moisă, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași
e-mail: stephaniemed@yahoo.com

MTX este administrat în mod intermitent pe cale orală, intramusculară, subcutanată, intravenoasă și intratecală. Pentru administrarea intravenoasă poate fi folosită o largă gamă de doze, de la un bolus de 10 mg la o doză de 33.000 mg/m² într-o perfuzie intravenoasă de 20 ore. Doze de 100-300 mg/m², care sunt de obicei administrate prin perfuzie continuă, trebuie urmate de o cură de leucovorină (5-fornyl-tetrahydrofolate) pentru a preveni dezvoltarea unei toxicități severe.

Dozele de încărcare și de perfuzie necesare pentru a obține o concentrație plasmatică constantă (steady-state) pot fi estimate prin formulele următoare:

Doza de încărcare (mg/m²) = 15*[MTX] plasmatic (μM).
Doza de perfuzie (mg/m²/h) = 3*[MTX] plasmatic (μM).

Pentru a obține un nivel plasmatic constant de 10 μM, doza de încărcare trebuie să fie 150 mg/m², urmată de o perfuzie de 30 mg/m²/h.

Farmacologia clinică a MTX a fost extensiv studiată, acesta fiind probabil cel mai bine înțeles agent anticancerigen.

MECANISMUL DE ACȚIUNE

MTX este un analog structural al acidului folic, un cofactor necesar pentru sinteza purinelor și timidinei. Ca rezultat al substituirii unei grupări hidroxil cu o grupare amino, la poziția 4 a inelului pteridinic al acidului folic, MTX este un inhibitor al legării dihidrofolat-reductazei (DHFR), enzimă responsabilă de convertirea folaților la forma lor activă, redusă. În prezența unui exces de MTX, depozitele intracelulare de tetrafolat sunt reduse, ceea ce duce la scăderea precursorilor ADN și la inhibarea sintezei ADN. Acumularea acidului dihidrofolat parțial oxidat, ce rezultă din inhibarea DHFR, pare a contribui la inhibarea sintezei *de novo* a purinelor. Un determinant critic al citotoxicității MTX este rata sintezei de timidilat, deoarece sinteza de timidilat din uridilat este singura reacție care oxidează cofactorul tetrahydrofolat la forma inactivă, dihidrofolat. Alt determinant este concentrația intracelulară de MTX în exces față de locusurile de legare ale DHFR, deoarece nivelurile intracelulare ale acestei enzime țintă sunt de 20-30 de ori mai mari decât cele necesare pentru menținerea rezervei de tetrahydrofolat.

MTX folosește aceleași procese de transport transmembranar și căi metabolice ca și folații. El competiționează cu tetrahydrofolatii pentru un sistem de transport dependent de energie pentru pătrunderea în celulă. La poarta de intrare, MTX este rapid și ferm legat de enzima țintă, și captarea este unidirecțională

până când site-urile de legare ale enzimei sunt saturate, ceea ce permite o acumulare intracelulară și mai mare a drogului. Acest lucru face ca MTX, ca și folații naturali, să fie metabolizați la derivați poliglutamați, care nu pot eflua din celulă. Formarea poliglutamatului de MTX potențează citotoxicitatea medicamentului prin permiterea acumulării de MTX liber intracelular și retenția acestuia în celulă, chiar și după ce drogul extracelular este eliminat.

Poliglutamații de MTX sunt inhibitori mai puternici ai DHFR și sunt capabili de a inhiba direct alte enzime din calea de sinteză a timidinei și purinelor. Formarea poliglutamaților de MTX este optimă *in vitro* când celulele sunt expuse unor concentrații mari timp îndelungat, iar copiii cu LAL randomizați ce au primit doze crescute de MTX ca terapie inițială de inducere au avut niveluri mai mari de poliglutatam de MTX în limfoblaști decât pacienții ce au primit MTX în doză mică. Limfoblaștii copiilor cu LAL cu prognostic bun (vârstă tânără, număr redus de globule albe la prezentare, sex feminin), tind să acumuleze poliglutatam de MTX mai eficient decât blaștii pacienților cu risc crescut, ceea ce sugerează că LAL la pacienții cu risc scăzut poate fi mai sensibilă la efectele antileucemice ale MTX. (1-5)

FARMACOCINETICA

La doze standard orale de 7,5-20 mg/m², absorbția MTX este foarte variabilă. Concentrații plasmatice maxime pot apărea la 0,5-5 ore după administrarea orală. Procentul din doză care este absorbit variază între 5 și 97 %. Absorbția este, de asemenea, saturabilă, astfel încât, pe măsură ce crește doza, absorbția scade. Creșterea dozei la pacienții ce au concentrații plasmatice scăzute după administrarea dozei orale standard poate să nu suplinească biodisponibilitatea scăzută. În ciuda acestei variabilități cu doza orală, într-o analiză prospectivă a 127 copii cu LAL ce au primit MTX oral sau intramuscular, nu s-a observat o relație între rata de reușită și parametrii farmacogenetici ai MTX, cum ar fi concentrația maximă plasmatică. Biodisponibilitatea MTX administrat oral este redusă semnificativ dacă administrarea se face concomitent cu hrana. (6)

La administrarea intramusculară sau subcutanată, MTX este complet absorbit. (7)

Copiii au concentrații plasmatice de MTX mai mici și au excretat medicamentul pe cale urinară mai rapid după o perfuzie intravenoasă de 6 ore decât adulții. Volumul de distribuție este, de asemenea, mai mare la copii. La grupul de vârstă pediatrică, clearance-ul MTX normalizat cu suprafața corporală este, de asemenea, dependent

de vârstă. Copiii sub 10 ani au un clearance de 160 ml/min/m², comparativ cu 110 ml/min/m² la cei peste 10 ani. (8)

Dispariția plasmatică a MTX este multifazică, cu un timp de înjumătățire de 8-12 ore. Retenția medicamentului în colecție de fluide extravasculare mari, ca ascita, sau lichidul pleural, este asociată cu o prelungire a timpului de înjumătățire, ca rezultat al eliberării lente în circulație a drogului reținut. Această expunere prelungită la drog poate crește toxicitatea.

MTX este eliminat primar prin excreție renală, suferind filtrare glomerulară și reabsorbție și secreție tubulară. Aproximativ 70-90% din doză este excretat nemodificat în urină, mai ales în primele 6 ore. Clearance-ul renal al MTX îl poate depăși pe cel al creatininei. La pacienții cu disfuncție renală semnificativă, clearance-ul MTX este întârziat, ducând la o expunere prelungită și o toxicitate severă. MTX în doză mare nu trebuie administrat pacienților la care clearance-ul de creatinină este mai scăzut de 50-70% din cel normal. Terapia cu doză mică de MTX trebuie oprită la pacienții ce au un nivel al creatininei serice mai mare de 2 mg/dl. Orice pacient suspectat de a avea disfuncție renală și care primește MTX trebuie să aibă nivelul plasmatic al MTX îndeaproape monitorizat și să primească leucovorină dacă clearance-ul medicamentului este întârziat.

MTX este, de asemenea, metabolizat în ficat la 7-hidroxi-MTX. Deși aceasta este o cale minoră de eliminare, concentrațiile plasmatică de 7-hidroxi-MTX pot fi echivalente sau le pot depăși pe cele de MTX după perfuzia intravenoasă cu MTX doză mare, probabil datorită clearance-ului mai redus de metabolit. 7-Hidroxi-MTX poate compromite citotoxicitatea MTX, competiționând cu el la transportul celular și la poliglutamare. Totuși, odată poliglumat, 7-hidroxi-MTX pare a fi capabil să se lege la DHFR, inhibând-o. Clearance-ul MTX nu este semnificativ alterat în cadrul unei disfuncții hepatice, dar modificarea dozei de MTX la pacienți cu teste funcționale hepatice anormale este indicată pentru a evita lezarea hepatică adițională.

Clearance-ul total metabolic și renal al MTX este de aproximativ 100 ml/min/m², dar poate varia. La pacienții cu clearance de creatinină normal, nu există o bună corelare între clearance-ul MTX și cel al creatininei. Disfuncția tubulară renală, care nu este măsurată prin clearance-ul de creatinină, poate fi cauza acestui fenomen. O doză test mică de MTX poate prezice cu mai multă acuratețe kinetică și concentrația steady-state a unei perfuzii intravenoase cu doză mare de MTX. Un management optim dictează că fiecare cură de MTX în doză mare să fie monitorizată

îndeaproape prin urmărirea funcției renale și a concentrației plasmatică de MTX pentru a determina doza și durata administrării de leucovorină.

TOXICITATE

Efectele primare toxice ale MTX sunt mielosupresia și mucozitățile oro-intestinale, care apar la 5-14 zile după administrare. Dezvoltarea reacțiilor toxice este legată de concentrația medicamentului și de durata de expunere. La pacienții ce primesc o perfuzie intravenoasă cu MTX de 6 ore, o concentrație a MTX la 48 ore mai mare de 1μM a fost asociată cu dezvoltarea unei toxicități severe. Această toxicitate poate fi prevenită prin administrarea la timp a leucovorinei. Prin monitorizarea adecvată și administrarea de leucovorină până când concentrația plasmatică de MTX scade sub 0,1 μM, toxicitatea MTX în doză mare poate fi evitată la majoritatea pacienților.

Nefrotoxicitatea observată la administrarea de MTX doză mare poate întârzia clearance-ul de MTX și potența efectele toxice. Lezarea renală poate fi datorată precipitării MTX sau 7-HO-MTX în urina acidă sau unui efect direct toxic pe tubul renal. Precipitarea drogului poate fi prevenită prin hidratarea viguroasă intravenoasă și alcalinizarea urinei.

Dezvoltarea disfuncției renale în timpul terapiei cu MTX doză mare este o urgență medicală. Pacienții trebuie îndeaproape monitorizați și doza de leucovorină trebuie crescută în paralel cu concentrația plasmatică de MTX. Hemodializa nu s-a dovedit folositoare pentru eliminarea drogului la pacienți cu disfuncție renală decât dacă este folosită în mod repetat. Enzima bacteriană recombinată, carboxipeptidaza-G₂, catabolizează MTX la metaboliți inactivi și reprezintă o abordare nouă și folositoare pentru salvarea pacienților ce dezvoltă nefrotoxicitate la MTX, prin crearea unei căi alternative de eliminare. (9)

Toxicitatea hepatică, constând în creșteri tranzitorii ale transaminazelor serice și, mai rar, hiperbilirubinemie, a fost asociată cu doze standard și mari de MTX, dar este mai frecventă și mai severă la terapia cu doze mari. Fibroza hepatică a fost observată mai ales la pacienți ce primesc terapie cronică cu MTX doză scăzută.

Alte efecte secundare includ o dermatită caracterizată de eritem și descuamare, reacții alergice și pneumonie acută. Osteopatia MTX se manifestă prin dureri osoase, osteoporoză și risc crescut de fracturare. Neurotoxicitatea dată de MTX doză mare include o encefalopatie acută „de stocare” și leucoencefalopatie cronică, în particular în asociere cu iradierea craniană.

REZISTENȚA

Mecanismele de rezistență la MTX identificate experimental includ: transport membranar deficitar, niveluri crescute ale enzimei țintă DHFR, o afinitate alterată a DHFR pentru MTX, o scădere a poliglutamării MTX și scăderea activității timidilat-sintetazei. Creșteri ale nivelurilor enzimei țintă au fost asociate cu amplificarea genei ce codează DHFR, fenomen care a fost, de asemenea, documentat pentru limfoblastii pacienților care au prezentat rezistență clinică la MTX. Pacienții nou diagnosticați, a căror măduvă conține subpopulații cu hiperproducție de DHFR au avut remisiuni de mai scurtă durată comparativ cu pacienții ai căror limfoblaști au exprimat niveluri scăzute de DHFR.

INTERACȚIUNI MEDICAMENTOASE

Câteva medicamente au fost asociate cu o toxicitate crescută la coadministrarea cu MTX. Cea mai importantă acțiune include agenți ce interferă cu excreția MTX prin competiție pentru secreția tubulară. Aceste medicamente sunt: probenecid, salicilați, peniciline, indometacin, ketoprofen, ibuprofen.

Drogurile nefrotoxice, ca aminoglicozidele și cisplatinul, pot altera, de asemenea, clearance-ul MTX. Interacțiuni farmacodinamice ce duc la efecte citotoxice sinergice au fost raportate la MTX+fluorouracil, MTX+citarabină, MTX+asparaginază.

EXPERIENȚA CLINICII IV PEDIATRIE, SECȚIA ONCOLOGIE, ÎN FOLOSIREA METOTREXATULUI

Am realizat un studiu retrospectiv în lunile ianuarie-iulie 2005 care și-a propus să determine modul de eliminare a MTX prin dozarea metotrexatemiei la 24, 48 și 72 ore. Lotul de studiu a fost format din 40 pacienți cu vârste cuprinse între 2 ani și 3 luni și 17 ani și 8 luni, diagnosticați cu LAL, aflați la acel moment în tratament cu MTX.

După administrarea de metotrexat în tratamentul leucemiei acute limfoblastice este indicată determinarea metotrexatemiei serice; dacă valoarea înregistrată la 48 ore este mai mare de 0,15 mmol/l. Se administrează calciu folinat (leucovorină) pentru a diminua toxicitatea metotrexatului și se recomandă măsurarea metotrexatemiei la 72 ore; dacă valoarea determinată la 72 ore a scăzut sub 0,15 mmol/l, riscul toxic este considerat acceptabil, în caz contrar mai administrându-se o doză de leucovorină.

Valoarea metotrexatemiei serice la 48 ore a fost patologică la 66,7% din copii, la 72 ore – la 8,3%, și la 96

ore – la 2,8% din cazuri (Tabelul 1, Fig. 1). Curba generală de eliminare a metotrexatului este ilustrată în Fig. 2.

TABELUL 1. Valoarea metotrexatemiei în lot la 48, 72 și 96 de ore

lot 2	≤ 0,15		> 0,15		Total
MTX-48 ore	12	33.3%	24	66.7%	36
MTX-72 ore	33	91.7%	3	8.3%	36
MTX-96 ore	35	97.2%	1	2.8%	36

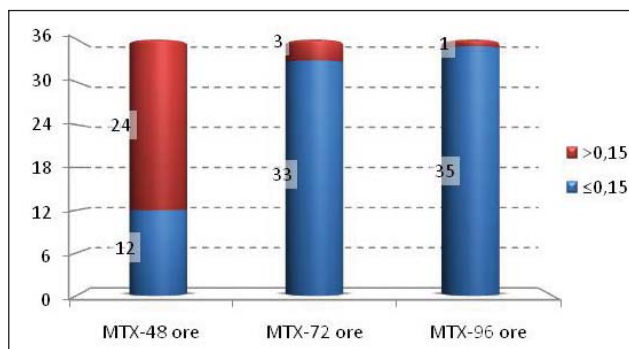


FIGURA 1. Valoarea metotrexatemiei în lot la 48, 72 și 96 ore

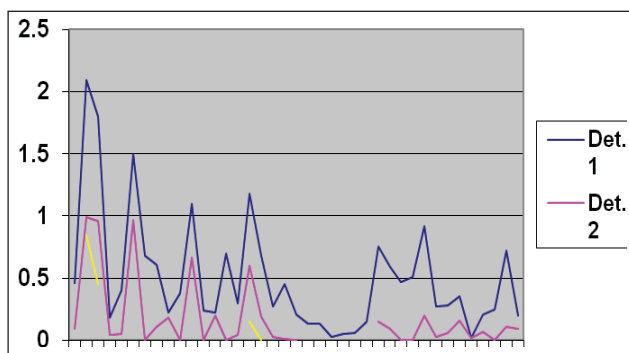


FIGURA 2. Curba de eliminare a metotrexatului în lot

Am elaborat o regresie logică, în scopul prezicerii valorii metotrexatemiei la 96 ore, în funcție de valoarea metotrexatemiei la 48h, 72h, valorile TGO TGP, uree, creatinină. Am definit încadrarea pacienților în una din următoarele categorii de eliminare a MTX: ușor, intermediar, lent și foarte lent, în funcție de valoarea metotrexatemiei la 72 ore.

Concluzia analizei setului de date este că valoarea metotrexatemiei serice la 96 ore nu depinde nici de valoarea TGO, TGP, uree, creatinină, nici de valoarea MTX la 48 ore, ci doar de cea înregistrată la 72 ore.

Cea mai plauzibilă explicație pentru faptul că unii pacienți elimină întotdeauna cu dificultate metotrexatul, în ciuda unei hidratare corecte și a administrării de doze corecte de folinat rămâne aceea că sunt acetilatori lenți. Aceștia prezintă un defect genetic al enzimei N-acetiltransferaza 2 (NAT2), care joacă un rol important în detoxifierea, activarea și metabolizarea unor medicamente.

TABELUL 2. Model matematic de prezicere a valorii metotrexatemiei la 96 ore în funcție de valoarea la 48, 72 ore, TGO, TGP, uree, creatinină

		Parametri estimați						95% interval de confidență	
		Estimat	Eroare standard	Wald	df	Sig.	Limită inf.	Limită sup.	
Threshold	[MTX96h_categ = 1]	6,487	6,761	0,921	1	0,337	-6,763	19,738	
	[MTX96h_categ = 2]	8,590	6,964	1,521	1	0,217	-5,059	22,240	
	[MTX96h_categ = 3]	38,062	14,832	6,586	1	0,010	8,992	67,131	
Location	MTX48h	1,214	3,515	0,119	1	0,730	-5,675	8,104	
	MTX72h	36,144	14,427	6,277	1	0,012	7,869	64,420	
	TGO	0,019	0,166	0,013	1	0,908	-0,307	0,345	
	TGP	0,005	0,109	0,002	1	0,967	-0,210	0,219	
	uree	-1,150	9,314	0,015	1	0,902	-19,406	17,105	
	creatinină	-0,045	9,232	0,000	1	0,996	-18,140	18,050	

Link function: Logit.

Se disting 3 categorii de persoane: acetilatori rapizi, intermediari și lenți.

Boala este transmisă autosomal recesiv. În populația europeană, fenotipurile sunt distribuite în mod egal, în timp ce 50% din populația Americii este formată din acetilatori lenți. Acetilatorii lenți sunt cei cu mutații în ambele alele ale genei (două alele nefuncționale NAT2). Aceștia au o capacitate de metabolizare extrem de scăzută a medicamentelor, nivelul drogului în sânge fiind astfel mai mare pe o perioadă de timp mai lungă; pacienții sunt predispuși la efecte adverse severe, atunci când sunt tratați cu doze standard ale acestor compuși. La acești pacienți se recomandă administrarea de doze reduse cu 20-50%. Nu se administrează deodată două sau mai multe droguri care se metabolizează prin aceeași cale.

Acetilatorii intermediari sunt pacienți heterozigoți, care pot fi tratați cu respectivii compuși, dar la doze mai mici. Nici la acești pacienți nu se administrează deodată două sau mai multe droguri care se metabolizează prin aceeași cale.

Acetilatorii rapizi metabolizează medicamentele incriminate în mod normal; pot primi tratamente cu doze standard.

Acetaminofenul este un inhibitor al NAT2, în timp ce acidul retinoic este un inductor al NAT2.

Pentru a reduce toxicitatea metotrexatului se administrează calciu folinat, cu formula moleculară $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$.

Calciul folinat este un derivat al acidului tetrahidrofolic, care este un metabolit și forma activă a acidului folic. Acidul folinic intră în celulele normale în detrimentul celor canceroase după administrarea de metotrexat și

antagonizează efectul acestuia, reducând efectele toxice. Intrarea preferențială în celulele normale se face prin diferențele existente în mecanismul de transport membranar. Calciul folinat este convertit la 5-metil-tetrahidrofolat, care este metabolitul activ. Eliminarea este logaritmică.

Calciul folinat se administrează pentru reducerea toxicității în tratamentul cu metotrexat doza înaltă, în supradoza de metotrexat și în tratamentul unor anemii megaloblastice. Este contraindicat în anemia pernicioasă și a anemiilor megaloblastice datorate deficitului de vitamina B12.

Reacțiile adverse sunt rare și includ hiperpirexie, urticarie, reacții anafilactoide, grețuri, vărsături.

Se administrează cât mai precoce în cazurile de supradoză de metotrexat, iar după administrarea de doze terapeutice de MTX, calciul folinat se administrează în funcție de valoarea metotrexatemiei, câte 15 mg la fiecare 6 ore, 10 doze, iar în caz de eliminare lentă a MTX, câte o doză până când metotrexatemia scade sub 0,05 microM. Pacienții cu eliminare întârziată a metotrexatului pot dezvolta insuficiență renală acută, de aceea metotrexatemia și creatinina trebuie dozate cel puțin o dată pe zi, și trebuie efectuate în mod corect hidratarea și alcalinizarea urinei. În caz de supradoză de metotrexat, se administrează calciu folinat 10 mg/m² intravenos sau intramuscular la fiecare 6 ore, până când metotrexatemia scade sub 0,01 microM.

CONCLUZII

Valoarea metotrexatemiei serice la 96 de ore nu depinde nici de valoarea TGO, TGP, uree, creatinină, nici de valoarea MTX la 48 de ore, ci doar de cea înregistrată la 72 de ore.

Cea mai plauzibilă explicație pentru faptul că unii pacienți elimină întotdeauna cu dificultate metotrexatul, în ciuda unei hidratări corecte și a

administrării de doze corecte de folinat rămâne aceea că sunt acetilatori lenți.

BIBLIOGRAFIE

1. Mantadakis E., Cole P.D., Kamen B.A. – High-dose methotrexate in acute lymphoblastic leukemia: where is the evidence for its continued use? *Pharmacotherapy*. 2005 May; 25(5):748-55.
2. Sterba J., Valík D., Bajciová V., Kadlecová V., Gregorová V., Mendelová D. – High-dose methotrexate and/or leucovorin rescue for the treatment of children with lymphoblastic malignancies: do we really know why, when and how? *Neoplasma*. 2005;52(6):456-63.
3. Veerman A.J., Hähnen K., Kamps W.A., et al. – High cure rate with a moderately intensive treatment regimen in non-high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. Results of protocol ALL VI from the Dutch Childhood Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 14 (3): 911-8, 1996.
4. Matloub Y., Bostrom B.C., Hunger S.P., et al. – Escalating intravenous methotrexate improves event-free survival in children with standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2011;118 (2): 243-51
5. Mahoney D.H. Jr, Shuster J.J., Nitschke R., et al. – Intensification with intermediate-dose intravenous methotrexate is effective therapy for children with lower-risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia: A Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 18 (6): 1285-94, 2000
6. Finkerton CR, Glasgow JFT, et al: Can food influence the absorption of methotrexate in children with acute lymphoblastic leukaemia? *Lancet* 1980; 2:944.
7. Jundt J.W., Browne B.A., Fiocco G.P., Steele A.D., Mock D. – A comparison of low dose methotrexate bioavailability: oral solution, oral tablet, subcutaneous and intramuscular dosing. *J Rheumatol*. 1993;20:1845–9.
8. Moe P.J., Holen A. – High-dose methotrexate in childhood ALL. *Pediatr Hematol Oncol* 2000; 17(8):615-622
9. Nesbit M., Krivit W., et al. – Acute and chronic effect of methotrexate on hepatic, pulmonary, and skeletal systems. *Cancer* 1976; 37:1048.