

lek. Sylwia Elert-Kopeć, Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii WIM

Promotor: prof. dr hab. n. med. Witold Tlustochowicz

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Bartłomiej Kisiel

Wpływ stężenia poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie na aktywność reumatoidalnego zapalenia stawów

STRESZCZENIE

Wstęp: Ze względu na skuteczność, bezpieczeństwo i niski koszt metotreksat już od wielu lat pozostaje lekiem pierwszego rzutu w leczeniu RZS. Chociaż metotreksat jest bardzo skuteczny, główną jego wadą jest duża zmienność osobnicza w odpowiedzi na leczenie. W codziennej praktyce klinicznej nie ma wiarygodnych predyktorów odpowiedzi na leczenie metotrekstem. Oznaczanie stężenia metotreksatu w surowicy krwi jest mało przydatne w określaniu skuteczności terapii, z uwagi na to, że eliminacja leku z surowicy zachodzi w ciągu 24 godzin od momentu podania. W związku z tym poszukuje się markerów laboratoryjnych, które ułatwiłyby przewidywanie odpowiedzi na leczenie, a tym samym poprawiłyby skuteczność terapii metotrekstatem.

Cele: Celem badania była ocena zależności między stężeniem poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie (RBC MTXPGs) a aktywnością reumatoidalnego zapalenia stawów. Dodatkowo zaplanowano ocenić, czy zmiana dawki i drogi podania metotreksatu może mieć wpływ na stężenie poliglutaminianu metotreksatu i na aktywność reumatoidalnego zapalenia stawów. Poszukiwano również korelacji między stężeniem RBC MTXPGs a wybranymi parametrami klinicznymi, demograficznymi, biochemicznymi i serologicznymi mogącymi mieć wpływ na obraz kliniczny RZS.

Metody: Badaniem objęto 99 chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów rozpoznanym na podstawie kryteriów EULAR/ACR, leczonych przez co najmniej 3 miesiące metotrekstatem w postaci doustnej lub podskórnej. Na wizycie rekrutacyjnej było 31 chorych, u których z uwagi na nieskuteczność dotychczasowej terapii podjęto decyzje o modyfikacji terapii polegającej na zwiększeniu dawki i/lub zamianie drogi podania metotreksatu z doustnej na podskórną, 36 chorych, którzy z uwagi na niezadowalającą odpowiedź na dotychczasowe leczenie zostali skierowani na kwalifikację do leczenia biologicznego oraz 33 chorych, którzy

w opinii lekarza prowadzącego pozostawali w remisji. Wizytę kontrolną przeprowadzono po roku dla całej grupy oraz dodatkowo po 3 miesiącach, u chorych, u których dokonano modyfikacji terapii. Na wszystkich wizytach oceniano aktywność choroby na podstawie skali SDAI, CDAI, DAS28 OB, kwestionariusza zdrowia HAQ, oceny aktywności choroby według skali VAS_{pacjenta} i VAS_{lekarza}, ocenę bólu na podstawie skali VAS_{ból}, a także oceniano remisję choroby według kryteriów EULAR/ACR. Na każdej wizycie przeprowadzono podstawowe badania laboratoryjne, niezbędne do monitorowania aktywności choroby oraz do oceny skuteczności i ewentualnych działań niepożądanych metotreksatu. Stężenie poliglutaminianu metotreksatu oznaczano przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej, a za docelową komórkę, w której dokonywano pomiaru obrano erytrocyt.

Wyniki: Na wizycie V1 wykazano istotną zależność między poziomem stężenia RBC MTXPGs a aktywnością choroby u chorych na RZS ($p=0,008$). Chorzy z wyższym stężeniem RBC MTXPGs osiągnęli niższe wartości wskaźników monitorujących przebieg RZS. Wartość stężenia RBC MTXPGs ≥ 58 nmol/l uznano za próg terapeutyczny, który zwiększa prawdopodobieństwo uzyskania remisji lub niskiej aktywności choroby w trakcie terapii metotreksatem. Korelacji między stężeniem RBC MTXPGs a aktywnością choroby według skali SDAI nie zaobserwowano na wizycie V2 i V3 ($p=0,19$; $p=0,94$).

Wśród chorych na RZS, u których zwiększono dawkę MTX, obserwowano istotny wzrost stężenia RBC MTXPGs ($p = 0,006$) oraz redukcję aktywności choroby wg skali SDAI i DAS28 OB ($p=0,009$; $p=0,002$).

U chorych na RZS zmiana drogi podania metotreksatu z doustnej na pozajelitową istotnie zwiększyła stężenie RBC MTXPGs ($p=0,002$) oraz zmniejszyła aktywność choroby wg skali SDAI i DAS28 OB ($p<0,001$, dla każdej skali).

Pacjenci w starszym wieku osiągnęli wyższe stężenia RBC MTXPGs, RBC MTXPG(1-3) oraz RBC MTXPG(>3) ($p=0,01$; $p=0,03$; $p=0,03$). Wyższe stężenie krótkołańcuchowego RBC MTXPG(1-3) obserwowano w grupie chorych ze zwiększoną aktywnością AST ($p=0,035$). Nie zaobserwowano istotnej korelacji między stężeniem RBC MTXPGs a danymi, tj. płeć, czas trwania choroby, czy też czas trwania terapii MTX.

Wnioski: W badanej grupie chorych wykazano, że:

- 1) Istnieje negatywny związek między stężeniem poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie a aktywnością reumatoidalnego zapalenia stawów, co sugeruje przydatność

oceny tego markera w optymalizacji terapii u chorych na RZS. Osiągnięcie progu terapeutycznego dla stężenia poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie istotnie zwiększa prawdopodobieństwo uzyskania remisji lub niskiej aktywności choroby wg skali SDAI.

- 2) Zarówno zwiększenie dawki, jak również zmiana drogi podania metotreksatu z doustnej na podskórną, wiąże się z istotnym zwiększeniem stężenia poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie oraz ze zmniejszeniem aktywności choroby u chorych na RZS.
- 3) Stężenie poliglutaminianu metotreksatu w erytrocycie wzrasta z wiekiem chorego, a wzrost stężenia krótkołańcuchowych form poliglutaminianu metotreksatu koreluje z parametrami dysfunkcji wątroby.

SUMMARY

The concentration of Methotrexate in red blood cells and its effect on the activity of rheumatoid arthritis

Introduction: Due to its effectiveness, safety and low cost, methotrexate for many years has been used as first line treatment in rheumatoid arthritis. Although Methotrexate is very effective, its main disadvantage is the large inter-patient variability in clinical response. In everyday clinical practice we have got no reliable markers to predict response to methotrexate treatment. Measuring methotrexate concentration in blood serum is of little usefulness in determining treatment effectiveness due to the fact that it is totally eliminated from serum within 24 hours after administration. We are still looking for markers that would allow us to predict response and consequently increase effectiveness of methotrexate therapy.

Aim: Aim of this research was to determine, if there is an association between concentration of methotrexate polyglutamate (MTXPGs) and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. In addition we planned to verify if change of methotrexate dose and rout of its administration has an effect on MTXPGs concentration and disease activity. We were also trying to find if there is a correlation between MTXPGs concentration and different clinical, demographic, biochemical and serological parameters that may have an influence on rheumatoid arthritis course.

Methods: 99 adult patients with rheumatoid arthritis were included in this research. Each patient had his disease diagnosed according to EULAR/ACR criteria and was treated with methotrexate for at least 3 months administered either orally, or subcutaneously. During enrollment visit we encountered 31 patients who, because of ineffectiveness of their current therapy, required change in either methotrexate dose or administration method from oral to subcutaneous, 36 patients who due to unsatisfactory response to the previous treatment, were referred for qualification for biological treatment and 33 patients who, in the opinion of attending physician, remained in remission. The follow-up visit was carried out after a year in all groups and additionally after 3 months in a group of patients, who had their therapy modified. At all visits, we assessed disease activity according to the SDAI, CDAI, DAS28 ESR scale, health questionnaire HAQ, patient's VAS and physician's VAS scores. Pain was assessed by the VAS pain scale, and disease remission was assessed according to the EULAR/ACR criteria. At each visit, basic laboratory tests necessary to monitor disease activity and to evaluate the effectiveness and possible side effects of methotrexate therapy were carried out. Concentration of methotrexate polyglutamate was measured using a high performance liquid chromatography, and a red blood cell was chosen as the target cell for measurement.

Results: At visit V1, a significant correlation between the RBC MTXPGs concentration and disease activity in patients with RA was demonstrated ($p = 0,008$). Patients with a higher concentration of RBC MTXPGs achieved lower values of indicators monitoring course of RA. Concentration of RBC MTXPGs ≥ 58 nmol/l was determined as the therapeutic threshold which increases the likelihood of achieving remission or low disease activity during methotrexate therapy. At visits V2 and V3, we observed no correlation between concentration of RBC MTXPGs and disease activity according to the SDAI scale ($p=0,19$; $p=0,94$).

Among group of RA patients who had their dose of MTX increased, we observed a significant increase in concentration of RBC MTXPGs ($p=0,006$) and a decrease in disease activity according to the SDAI and DAS28 ESR scale ($p=0,009$; $p=0,002$).

In RA patients, changing the route of methotrexate administration from oral to parenteral significantly increased concentration of RBC MTXPGs ($p=0,002$) and decreased disease activity according to the SDAI and DAS28 ESR scale ($p<0,001$ for all).

Elderly patients achieved higher concentration of RBC MTXPGs, RBC MTXPG(1-3) and RBC MTXPG(>3) ($p=0,01$; $p=0,03$; $p=0,03$). A higher concentration of short-chain RBC MTXPG(1-3) was observed in a group of patients with increased AST activity ($p=0,035$). There was no

significant correlation between concentration of RBC MTXPGs and data, such as sex, disease duration or MTX therapy duration.

Conclusions: According to our study results, it can be concluded that:

- 1) There is a negative correlation between concentration of methotrexate polyglutamate in the red blood cell and RA activity. Monitoring RBC MTXPGs concentration in patients with rheumatoid arthritis may be useful for optimizing therapy. Achieving therapeutic levels of methotrexate polyglutamate concentration in the red blood cell can highly increase probability of disease remission, or its low activity according to SDAI scale.
- 2) Increasing methotrexate dose, or changing its route of administration from oral to subcutaneous is correlated with significant increase of concentration of methotrexate polyglutamate in the red blood cell and with decreasing disease activity in RA patients.
- 3) Concentration of methotrexate polyglutamate in the red blood cell is increasing in elderly patients and higher concentration of short chain methotrexate polyglutamate forms is correlated with higher levels of liver dysfunction markers.