

# PROBLEMATIKA VISOKIH ODMERKOV METOTREKSATA PRI ONKOLOŠKIH BOLNIKIH

## PROBLEMS OF HIGH-DOSE METHOTREXATE IN ONCOLOGICAL PATIENTS

Petra Tavčar<sup>1</sup>, Monika Sonc<sup>1</sup>, Vojko Kmetec<sup>2</sup>

Prispelo: 6. 10. 2009 - Sprejeto: 20. 2. 2010

Izvirni znanstveni članek  
UDK 615.277.015.3

### Izvleček

**Izhodišča:** Metotreksat v visokih odmerkih je edini citostatik v onkologiji, ki mu rutinsko določamo serumske koncentracije, saj je v visokih odmerkih potencialno smrten. Uporablja se za zdravljenje osteosarkomov in ne-Hodgkinovih limfomov. Ker so bile serumske koncentracije metotreksata pri bolnikih na Onkološkem inštitutu pogosto povišane, nas je zanimalo, kateri parametri jih zvišujejo.

**Bolniki in metode:** V analizo smo vključili vse bolnike, ki so v enem letu prejeli metotreksat v visokih odmerkih, ne glede na to, ali so bile serumske koncentracije metotreksata povišane ali normalne. Gre za 20 bolnikov, ki so skupaj prejeli 55 visokodoznih terapij metotreksata. Pregledali smo, ali na serumske koncentracije metotreksata vplivajo parametri, kot so proizvajalec metotreksata, pripravljalec infuzije, indeks telesne mase, starost pacienta, očistek kreatinina, ocenjeni očistek kreatinina, pH urina, sočasna kemoterapija s prokarbazinom, sočasna terapija z omeprazolom, acetilsalicilno kislino in nesteroidnimi antirevmatiki. Medsebojne vplive smo statistično ovrednotili s  $\chi^2$ -testom.

**Rezultati:** Med 55 visokoodmernimi terapijami smo pri 28 terapijah ugotovili vsaj eno povišano koncentracijo metotreksata. Ugotovili smo, da so bile koncentracije metotreksata v serumu bolnikov z limfomi značilno povišane pri starejših bolnikih, pri bolnikih z višjim indeksom telesne mase, z očistkom kreatinina pod 100ml/min, in v primeru, da so bolniki sočasno z metotreksatom jemali prokarbazin ali omeprazol.

**Zaključki:** Da bi se izognili neželenim učinkom visokoodmerne kemoterapije, bi bilo treba skrbno prilagoditi visoki odmerek metotreksata glede na pomembnejše dejavnike, ki lahko zvišajo njegovo koncentracijo, in preprečiti interakcije z drugimi zdravili.

**Ključne besede:** metotreksat, visokoodmerna terapija, serumske koncentracije, farmakokinetika, interakcije

Original scientific article  
UDK 615.277.015.3

### Abstract

**Background:** High-dose methotrexate is the only agent used in cancer therapy that requires routine measurements of serum concentrations to avoid potentially fatal high doses of methotrexate. The drug is used to treat osteosarcomas and non-Hodgkin's lymphomas. As serum levels of methotrexate in patients treated at the Institute of Oncology were often elevated, we undertook this study to identify the parameters that increase serum methotrexate levels.

**Patients and Methods:** All patients receiving a one-year course of high-dose methotrexate ( $n=20$ ) were included in the study, regardless of whether they had elevated or normal serum concentrations of methotrexate. Altogether, they received 55 high-dose methotrexate therapies. The following parameters likely to affect serum concentrations of methotrexate were investigated: drug manufacturer, the person preparing the infusion, body mass index, patient's age, creatinine clearance, estimated creatinine clearance, urine pH, concomitant chemotherapy with procarbazine, concomitant therapy with omeprazole, aspirin and nonsteroidal antirheumatic drugs. Interactions were statistically evaluated using the  $\chi^2$ -test.

**Results:** In 28 of the 55 therapies there was at least one case of elevated methotrexate concentrations. Serum methotrexate concentrations in patients with lymphomas were significantly increased in elderly patients, in patients

<sup>1</sup>Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup>Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

Kontaktni naslov: e-pošta: ptavcar@onko-i.si

*with high body mass index, those with creatinine clearance of < 100ml/min, and in patients on procarbazine or omeprazole therapy.*

**Conclusions:** *In order to avoid adverse side-effects of high-dose chemotherapy, the dosage of methotrexate should be carefully adjusted in accord to important factors that may increase its concentration, and possible interactions with other drugs should be prevented.*

**Key words:** methotrexate, high-dose therapy, serum concentrations, pharmacokinetics, interactions

## 1 Uvod

### 1.1 Metotreksat

Leta 1948 je Farber prvi poročal o aminopterinu, analogu folne kisline, ki zavira razmnoževanje levkemičnih celic pri akutnih limfatičnih levkemijah pri otrocih. Njegovo odkritje je začelo novo obdobje kemoterapije z antimetaboliti antagonisti folne kisline. Leto dni kasneje so v terapijo uvedli metotreksat (ametopterin, MTX) zaradi njegove manjše toksičnosti. Metotreksat se uporablja pri različnih hematoloških in nehematoloških rakih, pa tudi v revmatologiji in imunologiji. Kemoterapija z metotreksatom je doživela prelomnico leta 1967, ko je Djerassi dokazal, da na sicer rezistentne tumorske celice lahko vplivamo z visokim odmerkom metotreksata in ga lahko apliciramo v potencialno smrtnih odmerkih, če normalne celice ščitimo s kalcijevim folinatom. Ta princip zdravljenja se danes uporablja pri akutnih limfatičnih levkemijah, limfomih in osteosarkomih. Metotreksat je edina zdravilna učinkovina v onkologiji, za katero se rutinsko določajo serumske koncentracije po visokoodmerni kemoterapiji (1).

#### 1.1.1 Mehanizem delovanja

Metotreksat je antimetabolit – kompetitivni zaviralec dihidrofolat reduktaze (DHFR). DHFR je encim, ki reducira folno kislino v tetrahidrofolno kislino, ki je kofaktor pri prenosu 1-C fragmentov pri sintezi purinov in pirimidinov za DNA. Metotreksat je specifičen za S-fazo celičnega cikla (faza izgradnje DNA) (2). V intracelularni prostor prehaja s pasivno difuzijo in prek dveh transportnih sistemov (RFC – reduced folate carrier in mFBP – membrane-associated folate binding protein). Znotraj celice pripline encim folna kislina-poliglutamat sintetaza (FPGS) metotreksatu do šest glutaminskih kislin. Proces je odvisen od koncentracije metotreksata in časa izpostavljenosti ter vrste celic (poliglutamacija je obsežnejša v tumorskih celicah v primerjavi z normalnimi celicami). Tako nastali metotreksat-poliglutamat (MTX-PG) ima negativni

naboj in ne more zapustiti celice po transporterjih RFC in mFBP niti ne more pasivno difundirati, zato dlje ostaja v celici. MTX-PG ima prav tako kot metotreksat visoko afiniteto za DHFR (3), poleg tega pa zavira še encim timidilat sintetazo (TS, ki katalizira reakcijo sinteze timidilata iz deoksiuridilata) in encima, ki sodeluje pri sintezi purinov (glicinamid ribonukleotid transformilaza – GAR in aminoimidazol karboksamid ribonukleotid transformilaza – AICAR) (4).

#### 1.1.2 Farmakokinetika

Metotreksat se iz gastrointestinalnega trakta dobro absorbira v odmerkih do  $25\text{mg}/\text{m}^2$ , višji odmerki pa se ne absorbirajo popolno, zato se jih rutinsko aplicira intravensko. Po intravenski aplikaciji se metotreksat iz plazme izloča trifazno. Hitri fazi porazdelitve po celotni telesni tekočini sledi druga faza, ki izkazuje izločanje preko ledvic ( $t_{1/2} = 2 - 3\text{h}$ ), tej pa sledi tretja faza ( $t_{1/2} = 8 - 10\text{h}$ ). Če je tretja faza podaljšana zaradi ledvične odpovedi, je lahko to vzrok za večino toksičnih učinkov na kostni mozeg in gastrointestinalni trakt. Metotreksat se porazdeli po celotni telesni tekočini vključno s patološkimi ascitesi in plevralnimi izlivmi, vendar je ta porazdelitev v telesne votline počasna, lahko pa deluje kot rezervoar za metotreksat, kar vodi v dolgotrajno zvišane plazemske koncentracije metotreksata in podaljšanje razpolovne dobe (5).

Približno 50 % metotreksata je vezanega na plazemske beljakovine. Z albuminov ga lahko izpodrinejo številne zdravilne učinkovine, vključno s sulfonamidi, salicilati, tetraciklini, kloramfenikolom in fenitoinom.

Metabolizira se le manjša količina metotreksata, ki prispe v krvni obtok. Glavni metabolit je neaktivni 7-OH-metotreksat, ki je slabše vodotopen in zato nefrotoksičen. Nefrotoksičnost omilimo, če skrbimo za zadostno hidracijo organizma in alkalnost urina.

Pod vplivom bakterij v prebavnem traktu nastaja neaktivni metabolit 2,4-diamino- $\text{N}^{10}$ -metilpteroinska kislina (DAMPA).

90 % metotreksata se izloči skozi ledvice v nespremenjeni obliki v 48 urah, največ v prvih 8–12 urah. Izločanje poteka z glomerulno filtracijo in aktivno tubulno sekrecijo. Po intravenski aplikaciji visokih

odmerkov metotreksata so visoke tudi koncentracije metotreksata, izločenega v urinu, in lahko presežejo 20mmol/l, s čimer je presežena tudi topnost pri pH 7,0. V ledvicah se tako odlagajo kristalčki metotreksata, kar vodi v odpoved ledvic. Temu se izognemo z dobro hidracijo in alkalinizacijo urina.

### 1.1.3 Interakcije z zdravili

Sočasno aplicirane zdravilne učinkovine lahko povečajo toksičnost metotreksata, če ga izpodrivate s plazemskih beljakovin ali zavirajo njegovo izločanje preko ledvic.

Metotreksat lahko s plazemskih beljakovin izpodrinejo:

- salicilati,
- sulfonamidi,
- tetraciklini,
- fenitoin,
- benzodiazepini.

Še pomembnejše so interakcije metotreksata z zdravilnimi učinkovinami, ki zmanjšajo njegovo izločanje preko ledvic:

- aminoglikozidi,
- nesteroidni antirevmatiki in salicilati (zavirajo sintezo prostaglandinov v ledvicah in zmanjšajo perfuzijo ledvic; njihovo uporabo naj bi prekinili 10 dni pred visokoodmerno kemoterapijo, saj v literaturi poročajo o več smrtnih zaradi hematološke in gastrointestinalne toksičnosti),
- penicilini (tekmujejo za tubulno sekrecijo),
- cisplatin (v kumulativnem odmerku 300mg/m<sup>2</sup>) (6),
- probenecid,
- sulfonamidi,
- trimetoprim (aditivna inhibicija DHFR, sinergistični antifolatni učinki),
- omeprazol (zavira H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPazo v ledvicah in s tem aktivno sekrecijo metotreksata),
- pantoprazol (zavira izločanje 7-OH-metotreksata),
- ciprofloxacin (zavira ledvični tubulni transport).

Od ostalih interakcij bi omenili interakcijo s prokarbazinom, katere mehanizem ni poznan, priporoča pa se 72-urni razmak med aplikacijami prokarbazina in visokoodmernega metotreksata.

Za veliko večino zdravilnih učinkovin interakcije z metotreksatom niso raziskane. V praksi velja pravilo, da se v kritičnem intervalu 48 ur po začetku kemoterapije z metotreksatom izognemo sočasni aplikaciji zdravil, ki lahko potencialno zmanjšajo izločanje preko ledvic (5, 7, 8, 9).

## 1.2 Visokoodmerna terapija z metotreksatom

Poznavanje znotrajcelične farmakologije metotreksata nam pomaga razložiti učinkovitost metotreksata v visokih odmerkih. Prva prednost se pokaže pri transportu metotreksata čez celične membrane. Energijsko odvisni nasitljivi transportni sistemi normalno pospešujejo prenos endogenih folatov. Ko se ti sistemi zasitijo, začne metotreksat pasivno difundirati v celico. Proces pasivne difuzije je odvisen od ekstracelularne koncentracije učinkovine in je ključnega pomena pri tumorskih celicah, ki so izgubile mehanizme za aktivni transport. Druga prednost je metabolizem metotreksata v metotreksat-poliglutamat (MTX-PG), ki je odvisen tako od ekstracelularne koncentracije učinkovine kot tudi od časa izpostavljenosti. Nastanek poliglutamata (posebno z daljšo verigo – 4 do 6 glutaminskih kislin) zmanjša izgubljanje učinkovine iz celice, poleg tega pa nastali metabolit močno zavira encime DHFR, TS,GAR in AICAR (3).

Cilj visokoodmerne kemoterapije z metotreksatom je pri osteosarkomih doseči maksimalno serumsko koncentracijo 10<sup>-3</sup> mol/l, saj so ti tumorji ponavadi slabo prekrvavljeni, visoka serumska koncentracija pa zagotavlja zadostno znotrajcelično koncentracijo citostatika tudi v celicah, ki so izgubile transportne mehanizme za folate. Tako koncentracijo dosežemo, če apliciramo metotreksat v visokem odmerku (8–12g/m<sup>2</sup>) s štiriurno infuzijo. Pri ne-Hodgkinovih limfomih pa je učinkovitejše vzdrževanje terapevtske koncentracije 10<sup>-3</sup>–10<sup>-4</sup> mol/l, da zajame čim več malignih celic v fazi sinteze DNA (faza S) (5, 10), zato v 30 minutah najprej apliciramo 10 % celotnega odmerka, 90 % odmerka pa dajemo v kontinuirani infuziji 23,5 ur, da vzdržujemo želeno koncentracijo. Celotni odmerek znaša pri limfomih 1,5–5 g/m<sup>2</sup>.

Visoki odmerki metotreksata so potencialno smrtni. Preden so začeli skrbno spremljati laboratorijske parametre bolnikov in določati serumske koncentracije metotreksata ter aplicirati rešilne odmerke folinata, so v literaturi poročali o znateni toksičnosti terapije. Pred letom 1977 so tako v povezavi z visokoodmernim metotreksatom zabeležili kar 6 % smrti, od tega jih je bilo štiri petine zaradi hude mielosupresije, ki se je kazala kot sepsa ali hemoragija, preostala petina pa jih je bilo povezanih z ledvično odpovedjo. Sodobni protokoli zato zahtevajo skrbno predpripravo bolnika ter natančno izvajanje predpisanih postopkov med kemoterapijo in po njej.

Bolniki visokoodmerno kemoterapijo z metotreksatom relativno dobro prenašajo, če

- je ohranjena ledvična funkcija (serumski kreatinin v mejah normale, hitrost glomerulne filtracije pa vsaj 60 ml/min),
- skrbimo za zadostno hidracijo,
- zagotavljamo alkalnost urina,
- preprečimo interakcije z drugimi zdravili,
- merimo serumske koncentracije metotreksata in jim prilagodimo rešilne odmerke kalcijevega folinata. Visoka doza metotreksata je lahko smrtna, če ji ne sledi aplikacija reduciranih folatov za preprečitev metabolne blokade. Dokazali so, da se preživetje podaljša samo, če se folinat aplicira z določenim časovnim zamikom po visokoodmerni terapiji (če se aplicira sočasno, terapija nima učinka), vendar najkasneje 42 do 48 ur po začetku terapije (3).

Prisotnost plevralnega izliva ali ascitesa je absolutna kontraindikacija za začetek aplikacije visokoodmernega metotreksata.

## 2 Namen raziskave

Ker so bile serumske koncentracije metotreksata pogosto nad predvidenimi, je bil namen našega dela ugotoviti, kateri parametri zvišujejo serumske koncentracije metotreksata in povečujejo verjetnost nastanka toksičnih učinkov terapije. Pri tem nas je zanimalo, ali na serumske koncentracije v določenih časovnih točkah vplivajo parametri, kot so proizvajalec metotreksata (če bi bila presežena koncentracija zdravilne učinkovine v viali), pripravljalec infuzije (če bi pomotoma dajali prevelike odmerke v infuziji), indeks telesne mase, starost pacientov, očistek kreatinina, ocenjeni očistek kreatinina, pH urina, sočasna terapija s prokarbazinom, omeprazolom, acetilsalicilno kislino in nesteroidnimi antirevmatiki. Raziskava je bila opravljena v skladu z načeli Helsinško-tokijske deklaracije.

## 3 Bolniki in metode

### 3.1 Bolniki

V analizo smo vključili vse bolnike, ki so na Onkološkem inštitutu med 1. 1. 2005 in 17. 1. 2006 prejeli metotreksat v visokih odmerkih, ne glede na to, ali so bile serumske koncentracije metotreksata povišane ali normalne. Zbrane imamo podatke za 20 bolnikov, ki so skupaj prejeli 55 visokoodmernih terapij metotreksata, med njimi je bilo 16 bolnikov z limfomi (47 terapij) in širje bolniki z osteosarkomi (8 terapij).

Bolniki z limfomi so prejeli metotreksat v odmerku 2,9–5,0 g/m<sup>2</sup>, in sicer 10 % odmerka s 30-minutno, 90

% odmerka pa z dolgotrajno infuzijo (23,5 ure). Bolniki s sarkomi so dobili 6,1–8,9 g/m<sup>2</sup> metotreksata s štiriurno infuzijo.

### 3.2 Vrednotene količine

Pri limfomih sta nas zanimali frekvenca povišanih vrednosti metotreksata v serumu po 24, 36, 42 in 48 urah od začetka terapije ter skupna frekvenca povišanih vrednosti po 54. uri. Normalne serumske koncentracije metotreksata morajo po protokolu NHL BFM 90 znašati pod 100 µmol/l po 24 urah od začetka terapije, pod 3,0 µmol/l po 36 urah, pod 1,0 µmol/l po 42 urah in pod 0,4 µmol/l po 48 urah. Te koncentracije so določene empirično; višje koncentracije so potencialno nevarne zaradi večje verjetnosti nastanka stranskih učinkov po visokoodmerni kemoterapiji.

Pri sarkomih nas je zanimala frekvenca povišanih vrednosti po 24, 48 in 72 urah ter skupna frekvenca po 93. uri. Serumske koncentracije morajo biti po protokolu SSG XIV nižje kot 20 µmol/l po 24 urah, 2 µmol/l po 48 urah in 0,2 µmol/l po 72 urah od začetka terapije.

Serumske koncentracije metotreksata določajo v laboratoriju Pediatrične klinike na TDxFLx aparatu Abbott s pomočjo fluorescenčno polarizacijsko imunokemične analize (FPIA, točnost 97,6 +/- 2,8 %, natančnost KV 10 %).

### 3.3 Statistična analiza

S  $\chi^2$ -testom smo ugotavljali, ali na povišane vrednosti metotreksata vplivajo proizvajalec, pripravljalec infuzije, indeks telesne mase, starost, očistek kreatinina, ocenjeni očistek kreatinina, pH urina, sočasna terapija s prokarbazinom, omeprazolom, acetilsalicilno kislino in nesteroidnimi antirevmatiki. Za vsak parameter posebej smo pri določeni časovni točki za limfome naredili kontingenčno tabelo 2 x 2 z opazovanimi frekvencami in jih primerjali s pričakovanimi.

Postavili smo ničelno hipotezo, da med spremenljivkama (koncentracija metotreksata, izbran parameter) ni povezave, in njej alternativno hipotezo, da med spremenljivkama obstaja povezava.

$\chi^2_{exp}$  smo izračunali po formuli z Yatesovo korekturo.

$\chi^2_{tab}$  smo odčitali iz tabel pri stopnjah prostosti m = 1 in stopnji tveganja  $\alpha = 0,05$ .

$\chi^2_{tab} (m=1, \alpha = 0,05) = 3,84$  (enostransko tveganje)

Pri  $\chi^2_{exp} > \chi^2_{tab}$  lahko ničelno hipotezo zavrnemo in sprejmemo alternativno hipotezo, da sta spremenljivki povezani.

## 4 Rezultati

### 4.1 Bolniki

V raziskavo je bilo vključenih 20 bolnikov, od tega štirje z osteosarkomi in 16 z limfomi. Povprečna starost bolnikov z limfomi je bila 47,3 let (od 21 do 71 let), s sarkomi pa 27,7 let (od 19 do 36 let) (slika 1).

### 4.2 Vrednotene količine

Na sliki 2 je prikazana pogostost pojavljanja (frekvenca) povišanih in normalnih serumskih vrednosti metotreksata pri bolnikih z limfomi in sarkomi v določenih časovnih točkah.

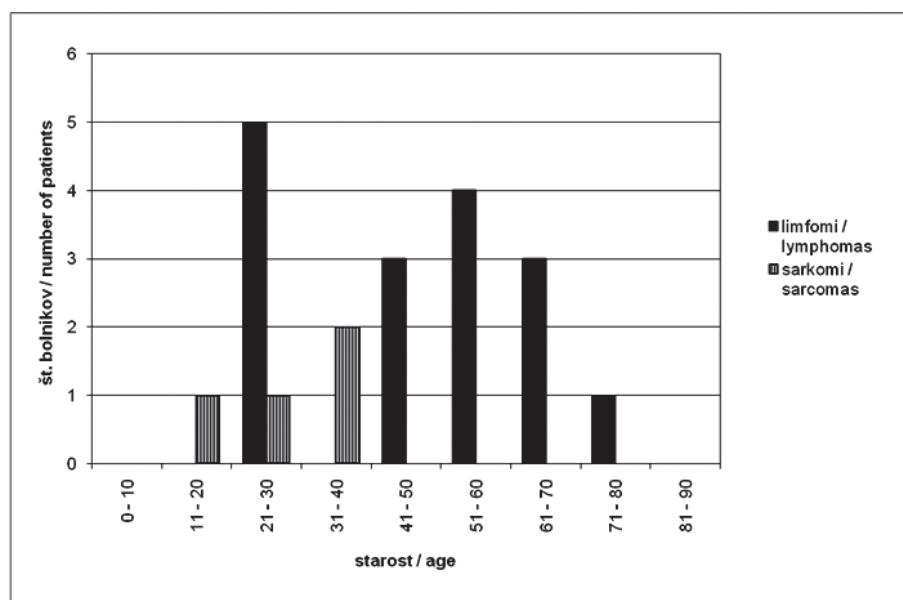
### 4.3 Statistična analiza

V statistično analizo smo vključili le bolnike z limfomi, saj je število bolnikov s sarkomi, ki so se zdravili z visokimi odmerki metotreksata, premajhno za statistično obravnavo. Za vsako kombinacijo parametra in koncentracije metotreksata pri limfomih smo testirali hipotezo o njuni povezanosti, kar nam pokaže izračunana vrednost  $\chi^2_{\text{exp}}$ . Po primerjavi

$\chi^2_{\text{exp}}$  s  $\chi^2_{\text{tab}}$  lahko ugotovimo, ali je razlika v povišanju koncentracij metotreksata zaradi določenega parametra signifikantna (S) ali nesignifikantna (NS). Opazovani parametri so:

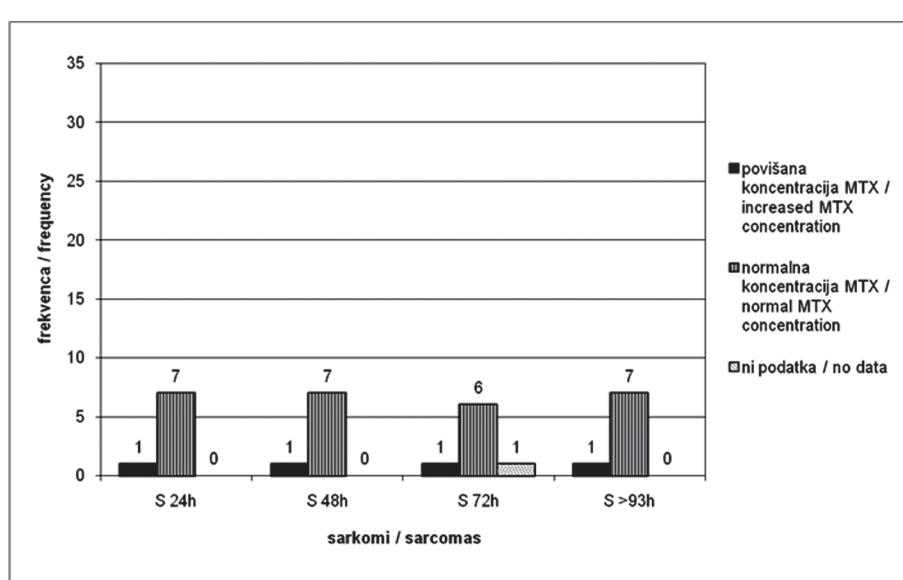
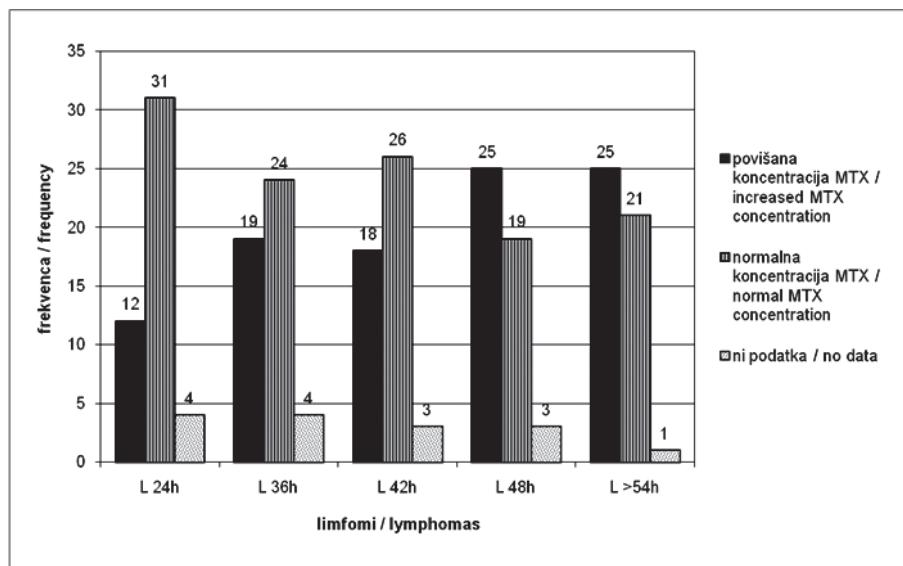
- proizvajalec metotreksata: Lederle, Pliva
- pripravljalci infuzije metotreksata: lekarna, oddelek
- starost bolnikov: <50 let,  $\geq$ 50 let
- indeks telesne mase (BMI):  $<25 \text{ kg/m}^2$ ,  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$
- očistek kreatinina ( $\text{Cl}_{\text{CR}}$ ):  $<100 \text{ ml/min}$ ,  $\geq 100 \text{ ml/min}$
- ocenjeni očistek kreatinina, izračunan po Cockcroft-Gaultovi enačbi ( $e\text{Cl}_{\text{CR}}$ ):  $<100 \text{ ml/min}$ ,  $\geq 100 \text{ ml/min}$
- najnižji pH urina: pH pod 7, pH 7 ali več
- sočasna kemoterapija s prokarbazinom: s prokarbazinom, brez prokarbazina
- sočasna terapija z omeprazolom: z omeprazolom, brez omeprazola
- sočasna terapija z nesteroidnimi antirevmatiki oziroma acetilsalicilno kislino: z NSAR/ASA, brez NSAR/ASA

V tabeli 1 so zbrani podatki o vplivu določenega parametra na povišanje serumskih koncentracij metotreksata.



Slika 1. Starostna struktura bolnikov z limfomi in sarkomi, ki so prejeli visokoodmerno kemoterapijo z metotreksatom

Figure 1. The age structure of patients with lymphomas and sarcomas treated with high-dose methotrexate chemotherapy.



**Slika 2.** Pogostost pojavljanja normalnih in povišanih serumskih koncentracij metotreksata  
**A:** pri bolnikih z limfomi (po 24, 36, 42, 48 in več kot 54 urah od začetka terapije) in  
**B:** pri bolnikih s sarkomi (po 24, 48, 72 in več kot 93 urah).

Figure 2. Incidence of normal and increased serum concentrations of methotrexate

**A:** in patients with lymphomas (at 24, 36, 42, 48 and at more than 54 hours after the initiation of therapy) and  
**B:** in patients with sarcomas (at 24, 48, 72 and at more than 93 hours after the initiation of therapy).

Tabela 1. Vpliv parametrov na povišane vrednosti metotreksata v serumu v določenih časovnih točkah za limfome. Številke prikazujejo izračunano vrednost  $\chi^2_{exp}$ , pri  $\chi^2_{exp} > 3,84$  govorimo o signifikantnem (S), pri  $\chi^2_{exp} < 3,84$  pa o nesignifikantnem (NS) vplivu parametra na povišane koncentracije metotreksata.

Table 1. The influence of parameters on elevated serum methotrexate levels at certain time points –patients with lymphomas. This influence is considered significant (S) when the calculated value  $\chi^2_{exp}$  is higher than 3.84; it is not significant (NS) when  $\chi^2_{exp}$  is lower than 3.84

$\chi^2_{exp}$ S / NS	Vpliv parametra na povišane koncentracije metotreksata / The influence of parameter on increased methotrexate concentrations				
Parameter / parameter	L 24h	L 36h	L 42h	L 48h	L>54h
Proizvajalec / Manufacturer	1,13 NS	0,11 NS	0,14 NS	0,14 NS	0,06 NS
Pripr. inf. / Person preparing infusion	0,01 NS	0,46 NS	0,19 NS	0,11 NS	0,04 NS
Starost / Age	0,46 NS	<b>12,52</b> <b>S</b>	<b>11,80</b> <b>S</b>	<b>10,40</b> <b>S</b>	<b>14,52</b> <b>S</b>
Indeks telesne mase / Body mass index (BMI)	2,58 NS	<b>8,62</b> <b>S</b>	4,61 S	4,37 S	5,61 S
Očistek kreatinina / Creatinine clearance (ClCR)	0,45 NS	<b>4,42</b> <b>S</b>	2,79 NS	3,05 NS	<b>4,78</b> <b>S</b>
Ocenjeni očistek kreatinina / Estimated creatinine clearance (eClCR)	0,01 NS	<b>8,05</b> <b>S</b>	<b>7,74</b> <b>S</b>	<b>5,10</b> <b>S</b>	<b>8,63</b> <b>S</b>
pH urina / Urine pH	1,74 NS	0,61 NS	0,002 NS	0,02 NS	0,001 NS
Prokarbazin / Procarbazine	2,67 NS	<b>13,67</b> <b>S</b>	<b>9,99</b> <b>S</b>	<b>10,24</b> <b>S</b>	<b>11,26</b> <b>S</b>
Omeprazol / Omeprazole	4,79 S	<b>5,09</b> <b>S</b>	<b>4,18</b> <b>S</b>	<b>17,60</b> <b>S</b>	<b>5,90</b> <b>S</b>
Nesteroidni antirevmatiki / acetilsalicilna kislina / Nonsteroidal antirheumatic drugs / acetylsalicylic acid (NSAR/ASA)	0,20 NS	0,08 NS	0,02 NS	0,11 NS	0,04 NS

## 5 Razprava

Uporaba visokih odmerkov metotreksata je indicirana v primerih slabo prekravljenih tumorjev (osteosarkomi) in tumorjev, ki zahtevajo visoke koncentracije učinkovine v centralnem živčnem sistemu (tumorji v centralnem živčnem sistemu, profilaksa pri akutni limfatični levkemiji in ne-Hodgkinovem limfomu). Metotreksat je v visokih odmerkih zelo toksičen in zahteva skrbno predpripravo bolnika ter natančno izvajanje predpisanih postopkov med kemoterapijo in po njej. V najhujših primerih je terapija z njim lahko celo smrtna zaradi hude zavore kostnega mozga ali ledvične odpovedi. Ker je uporaba visokoodmernega

metotreksata indicirana za tumorje, ki so potencialno ozdravljivi in se pogosto pojavljajo v zgodnejši življenjski dobi oziroma pri mlajših odraslih, je nedopustno, da bi terapija pustila na bolnikih trajne posledice. V našem primeru smo imeli štiri bolnike s sarkomi in 16 bolnikov z limfomi. Bolniki s sarkomi so bili stari od 19 do 36 let, bolniki z limfomi pa od 21 do 71 let.

Od 55 visokoodmernih terapij smo kar pri 28 ugotovili povišano vsaj eno koncentracijo metotreksata, od tega je bilo 27 terapij pri limfomih in ena pri sarkomih. Statistična analiza je pokazala, da so bile koncentracije povišane ne glede na to, ali smo za pripravo infuzije uporabili metotreksat proizvajalca Lederle ali Pliva, kar smo tudi pričakovali, saj sta nam

oba proizvajalca z analiznimi certifikati zagotovila ustreznost izdelka.

Prav tako ni pomembno, ali smo infuzijo pripravljali v lekarni ali pa so jo pripravljale sestre na oddelku. S tem smo izključili možnost sistematične napake, da bi pomotoma v infuzijo pripravljali prevelike odmerke metotreksata.

Dokazali smo, da so se povišane koncentracije metotreksata značilno pojavljale pri bolnikih z limfomi, ki so bili starejši od 50 let. Tudi v literaturi poročajo o hujših neželenih učinkih pri starejših bolnikih, ki se izrazijo kot huda mielosupresija ali ledvična toksičnost, v primerjavi z mlajšimi bolniki, pri katerih se neželeni učinki izrazijo v milejši obliki (slabost, mukozitis, diareja) (3). Možna razloga je starostno pogojena okvara mehanizmov izločanja metotreksata (zaradi propadanja nefronov se hitrost glomerulne filtracije po 40. letu zmanjšuje za približno 1 ml/min na leto), manjši volumen distribucije (s starostjo narašča delež maščob v telesu, delež celotne telesne tekočine pa se zmanjšuje) in znižana vrednost serumskih albuminov ter s tem zvišan delež proste učinkovine v plazmi (11, 12). Pri naših bolnikih sta se zaradi povišanih koncentracij metotreksata najpogosteje pojavljala stomatitis in mielosupresija, pri enem pa je prišlo celo do progresivne ledvične odpovedi.

Tudi indeks telesne mase nad  $25 \text{ kg/m}^2$  je pokazal značilen vpliv na višje koncentracije metotreksata. Čeprav v literaturi poročajo o zvišanem očistku metotreksata pri zvišanem volumnu distribucije in nespremenjeni konstanti hitrosti eliminacije (13, 14), smo v našem primeru dobili pri čezmerno težkih in debelih ljudeh zvišane koncentracije metotreksata. Odmerek večine citostatikov se namreč preračunava glede na telesno površino pacienta, saj z njim korelira večina fizioloških funkcij (15). Čezmerno težki in debeli ljudje imajo večji delež maščob glede na celotno telesno težo in jih zato lahko predoziramo, če odmerek preračunavamo iz dejanske telesne teže namesto iz idealne.

Očistek kreatinina pod  $100 \text{ ml/min}$  je le delno vplival na povišanje serumskih koncentracij metotreksata, bolj konzistentne rezultate smo dobili z ocenjenim očistkom kreatinina, saj smo dokazali signifikanten vpliv na koncentracije pri bolnikih z limfomi. Serumski keatinin je sicer indikator hitrosti glomerulne filtracije, vendar je še mnogo drugih parametrov, ki opisujejo delovanje ledvic in bi jih lahko upoštevali pri odmerjanju metotreksata.  $\alpha_1$ - mikroglobulin je beljakovina, ki se prosti filtrira v glomerulih in normalno resorbira v tubulih. Povišane vrednosti  $\alpha_1$ - mikroglobulina v urinu govorijo o disfunkciji ledvičnih tubulov. Albumin in

imunoglobulin G sta indikatorja poškodbe glomerulov. Serumski cistatin C je boljši napovedni dejavnik za hitrost glomerulne filtracije kot serumski kreatinin, ker je neodvisen od starosti (16). V prihodnje bi bilo smiselno testirati tudi te parametre in jih upoštevati pri odmerjanju visokoodmernega metotreksata. Vendar hitrost glomerulne filtracije ni edino merilo izločanja metotreksata prek ledvic, saj se ta izloča tudi z aktivno tubulno sekrecijo.

pH urina pod 7,0 nam ni pokazal značilnega vpliva na zvišanje serumskih koncentracij metotreksata, verjetno zato, ker smo v analizi upoštevali samo najnižjo vrednost, do katere je padel pH, ne pa povprečnega pH urina. V praksi se namreč pH meri po vsakem uriniranju in če pade v območje kislega, dobi pacient takoj natrijev hidrogenkarbonat za alkalinizacijo urina, torej skušamo čim prej preprečiti kristalizacijo metotreksata in 7-OH-metotreksata v ledvičnih tubulih.

Značilno povišanje serumskih koncentracij metotreksata se je pokazalo pri bolnikih z limfomi, ki so sočasno z visokoodmernim metotreksatom prejemali citostatik prokarbazin. Interakcija je sicer opisana v literaturi, vendar ji pripisujejo manjši pomen. Mehanizem interakcije ni poznan, pripelje pa do slabšega delovanja ledvic, če se citostatika aplicirata sočasno. Bolnikom, ki so prejemali prokarbazin več dni zapored in je bilo njihovo delovanje ledvic normalno, so aplicirali visokoodmerni metotreksat. Delovanje ledvic se je poslabšalo po 24 do 48 urah od začetka terapije z metotreksatom. Zato priporočajo vsaj 72-urni razmik med aplikacijami prokarbazina in metotreksata (5).

Dokazali smo tudi, da je omeprazol značilno vplival na serumskie koncentracije metotreksata. Interakcija je klinično pomembna, saj poveča verjetnost nastanka toksičnih učinkov metotreksata. Omeprazol zavira  $H^+, K^+$ -ATPazo v ledvicah in s tem aktivno tubulno sekrecijo metotreksata. Metotreksat se namreč poleg glomerulne filtracije izloča z aktivno tubulno sekrecijo v distalnih ledvičnih tubulih s pomočjo mehanizma, ki zahteva prisotnost protona  $H^+$ .  $H^+, K^+$ -ATPazna črpalka izloča  $H^+$  v ledvične tubule in reabsorbira  $K^+$  ione. Aktivna tubulna sekrecija metotreksata zahteva delovanje te črpalke, saj se metotreksat izloča skupaj s  $H^+$  (17). V literaturi poročajo o zvišanih serumskih vrednostih metotreksata, ki so takoj po ukinitvi terapije z omeprazolom padle na normalno vrednost. Med visokoodmerno terapijo z metotreksatom priporočajo začasno ukinitve terapije z omeprazolom, če pa to ni mogoče, naj pacient dobi ustrezno alternativo, npr. pantoprazol ali ranitidin. Čeprav je tudi pantoprazol tako kot omeprazol zaviralec protonske črpalke, pa ne poročajo o neželenih učinkih, saj naj bi zmanjševal

le izločanje 7-OH-metotreksata, ne pa tudi samega metotreksata (5). Vsi zavirali protonske črpalke so namreč predzdravila, ki se aktivirajo v kislem okolju. Pri pH 5,0 v ledvičnih tubulih se omeprazol aktivira do aktivne učinkovine hitreje kot pantoprazol in se veže na sulfhidrilne skupine cisteina na H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPazi v ledvicah ter tako prepreči izločanje H<sup>+</sup> v ledvične tubule (18).

V enem primeru visokoodmerne kemoterapije se je sočasno dajala acetilsalicilna kislina, v štirih primerih pa nesteroidni antirevmatiki. Med bolniki s sarkomi ni nihče prejemal nesteroidnih antirevmatikov oziroma acetilsalicilne kisline. S statistično analizo nam ni upelo dokazati, da bi ta zdravila vplivala na koncentracije metotreksata, čeprav literatura navaja bistveno podaljšan razpolovni čas metotreksata in celo primere smrti zaradi gastrointestinalne in hematološke toksičnosti. Podaljšan razpolovni čas metotreksata je posledica zavrite sinteze prostaglandinov v ledvicah in zmanjšane perfuzije ledvic. Če je le mogoče, terapijo z nesteroidnimi antirevmatiki oziroma acetilsalicilno kislino prekinemo že 10 dni pred načrtovanim visokoodmernim metotreksatom (5).

Pri tem bi izpostavili primer 25-letnega bolnika z Burkittovim limfomom, ki je prejel tri cikluse visokoodmerne kemoterapije z metotreksatom. Pred terapijo so bili vsi laboratorijski parametri normalni. V prvem ciklusu je prejemal 100 mg acetilsalicilne kisline na dan, v drugih dveh pa 5000 IE nizkomolarnega heparina deltaparina. V prvem ciklusu so bile vse koncentracije po 36. uri nad normalno in so ostale povisane kar osem dni. V drugem in tretjem ciklusu, ko bolnik ni prejemal acetilsalicilne kisline, pa so bile vse ravni metotreksata pod kritičnimi vrednostmi.

Vse statistično signifikantne vplive parametrov na povisane koncentracije metotreksata smo dokazali le pri bolnikih z limfomi, saj bolnikov s sarkomi zaradi premajhnega vzorca nismo vključili v statistično analizo. Od osmih visokodoznih kemoterapij so bile koncentracije metotreksata povisane le v enim primeru. 24-letni bolnik z osteosarkomom tibije je le enkrat prejel visoki odmerek metotreksata, saj so bile koncentracije povisane kar 14 dni in se je kljub rešilnim odmerkom s kalcijevim folinatom razvila progresivna ledvična insuficienca. Od parametrov, ki smo jih opazovali, so bili vsi v mejah normale. Edini možni vzrok bi lahko bila predhodna kemoterapija s cisplatinom v odmerku 100 mg/m<sup>2</sup>, ki ga je bolnik prejel šest tednov pred visokodoznim metotreksatom, vendar v literaturi poročajo, da se očistek metotreksata signifikantno zniža šele po predhodni kemoterapiji s cisplatinom v kumulativnem odmerku nad 300 mg/m<sup>2</sup> (6).

Poleg očistka kreatinina bi torej v terapiji z visokoodmernim metotreksatom morali v smislu zniževanja odmerka upoštevati tudi indeks telesne mase in starost bolnika ter se izogibati sočasni terapiji s prokarbazinom, omeprazolom, nesteroidnimi antirevmatiki oziroma acetilsalicilno kislino, da bi bile ravni metotreksata pod kritičnimi vrednostmi in bi bili bolniki deležni čim manj neželenih učinkov, po drugi strani pa bi bile koncentracije metotreksata dovolj visoke, da bi uničile rakave celice. Multivariatna analiza je namreč pokazala, da je serumska koncentracija metotreksata edini signifikantni prognostični dejavnik za zmanjšano verjetnost ponovitve bolezni (19). Inhibicija de novo sinteze purinov je odvisna od intracelularne koncentracije metotreksat-poliglutamata. Prav tako pa se je pokazalo tudi premo sorazmerje med sistemsko toksičnostjo in serumsko koncentracijo metotreksata (19). Visoke koncentracije metotreksata se lahko relativno dobro prenašajo krajsi čas, daljša izpostavljenost nizkim koncentracijam pa lahko vodi v življensko ogroženost. Da bi se izognili resnim neželenim učinkom visokoodmerne kemoterapije, v literaturi priporočajo predhodno določitev farmakokinetičnih parametrov pri vsakem bolniku posebej s testnim odmerkom 50 mg/m<sup>2</sup>, na podlagi česar se nato prilagodi visoki odmerek metotreksata (1).

$$Cl_{MTX} = \frac{D_{testMTX}}{AUC_{testMTX}}$$

$$k_{0,HDMTX} = c_{p,HDMTX} \cdot Cl_{MTX}$$

$$D_{HDMTX} = k_{0,HDMTX} \cdot T_{HDMTX}$$

Cl<sub>MTX</sub> – očistek metotreksata

D<sub>testMTX</sub> – testni odmerek metotreksata (50mg/m<sup>2</sup>)

AUC<sub>testMTX</sub> – površina pod krivuljo plazemskeh koncentracij metotreksata po testnem odmerku

k<sub>0,HDMTX</sub> – hitrost infuzije visokoodmernega metotreksata

c<sub>p,HDMTX</sub> – želena *steady-state* plazemska koncentracija visokoodmernega metotreksata

D<sub>HDMTX</sub> – odmerek visokoodmernega metotreksata

T<sub>HDMTX</sub> – čas trajanja infuzije visokoodmernega metotreksata

Če pri visokoodmerni kemoterapiji koncentracije v 42 do 48 urah narastejo nad 10 µmol/l, kot

alternativo kalcijevemu folinatu priporočajo aplikacijo karboksipeptidaze G2 (CPDG2), ki hidrolizira metotreksat v neaktivno 2,4-diamino-N<sup>10</sup>-metilpteroinsko kislino (DAMPA) in glutaminsko kislino ter tako že v nekaj minutah zniža koncentracijo metotreksata za faktor 1 do 2 na logaritemski skali. Toksičnost CPDG2 je minimalna, vendar se lahko tako kot pri vseh tujih proteinih pojavi anafilaktične reakcije (20, 21).

## 6 Zaključek

Visoki odmerki metotreksata se uporabljajo za zdravljenje osteosarkomov in ne-Hodgkinovih limfomov, torej tumorjev, ki so potencialno ozdravljni in se pogosto pojavljajo v zgodnejši življenski dobi. Visoki odmerki metotreksata so lahko smrtno nevarni, vendar bolniki terapijo relativno dobro prenašajo, če skrbimo za zadostno hidracijo, alkalnost urina, če preprečimo interakcije z drugimi zdravili in če merimo serumske koncentracije metotreksata ter jim prilagodimo rešilne odmerke kalcijevega folinata.

Na osnovi pridobljenih podatkov in statistične analize smo ugotovili:

- Koncentracije metotreksata v serumu bolnikov z limfomi so bile značilno povišane pri starejših bolnikih, pri bolnikih z višjim indeksom telesne mase, z očistkom kreatinina pod 100 ml/min in v primeru, da so bolniki sočasno z metotreksatom jemali prokarbazin ali omeprazol.
- Proizvajalec metotreksata, pripravljalec infuzije, pH urina in sočasna terapija z nesteroidnimi antirevmatiki oziroma acetilsalicilno kislino niso pokazali značilnih vplivov na ravni serumskega metotreksata bolnikov z limfomi, čeprav v zadnjih dveh primerih literatura navaja tudi smrtnje primere.

Da bi se izognili neželenim učinkom visokoodmerne kemoterapije, bi bilo treba skrbno prilagoditi visoki odmerek metotreksata. Idealno bi bilo, če bi vsakemu bolniku najprej s testnim nizkim odmerkom metotreksata določili farmakokinetične parametre, na podlagi tega pa bi izračunali visoki oderek. Klinični farmacevt, ki naj bi bil prisoten na oddelku, bi nadzoroval terapijo in preprečil potencialne interakcije z drugimi zdravili.

## Literatura

1. Monahan BP, Allegra CJ. Antifolates. In: Chabner BA, Longo DL, editors. Cancer chemotherapy & biotherapy: principles & practices, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 92-124.
2. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Garcia-Carbonero R, Calabresi P. Antineoplastic agents. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 10th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2001: 1399-1404.
3. Treon SP, Chabner BA. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy. Clin Chem 1996; 42; 8(B): 1322-1329.
4. DeVita VT, Jr, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer: principles & practice of oncology, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
5. Micromedex® Healthcare Series: Thomson Micromedex, Greenwood Village, Colorado, 2006.
6. Crom WR, Pratt CB, Green AA, Champion JE, Crom DB, Stewart CF et al. The effect of prior cisplatin therapy on the pharmacokinetics of high-dose methotrexate. J Clin Oncol 1984; 2: 655-661.
7. Josting A, Diehl V, Engert A. Methotrexat: Pharmakologie, Toxizität und Rescue-massnahmen bei hochdosierter Behandlung. Onkologie 1998; 4: 974-985.
8. Solimando DA. Drug information handbook for oncology, 5th ed. Drug Information Series, Lexi-Comp. Inc, 2005.
9. British National Formulary 55, BMJ Group and RPS Publishing, 2008.
10. Bleyer WA. The clinical pharmacology of methotrexate: new applications of an old drug. Cancer 1978; 41: 36-51.
11. Cova D, Lorusso V, Silvestris N. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs in elderly cachectic (cancer) patients. In: Mantovani G. Cachexia and Wasting: A Modern Approach. Springer Milan, 2006: 377-382.
12. Undeva SD, Gomez-Abuin G, Ratain MJ. Pharmacokinetic variability of anticancer agents. Nat Rev Cancer 2005; 5:447-458.
13. Fleming RF, Eldridge RM, Johnson CE, Stewart CF. Disposition of high-dose methotrexate in an obese cancer patient. Cancer 1991; 68: 1247-1250.
14. Abdah-Bortnyak R, Tsalik M, Haim N. Actual body weight for determining doses of chemotherapy in obese cancer patients. Med Oncol 2003; 20: 363-367.
15. Jaehde U, Kloft C. Dosis-Individualisierung in der Krebs-Chemotherapie. Pharm Unserer Zeit 2006; 2: 150-156.
16. Skaerby T, Joensson P, Hjorth L, Behrentz M, Bjoerk O, Forestier E et al. High-dose methotrexate: on the relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Cancer Chemother and Pharmacol 2003; 51: 311-320.
17. Bauters TGM, Verlooy J, Robays H, Laureys G. Interaction between methotrexate and omeprazole in an adolescent with leukemia: a case report. Pharm World Sc 2008; 30(3).
18. Beorlegui B, Aldaz A, Ortega A, Aquerreta I, Sierrasesumega L, Giraldez J. Potential interaction between methotrexate and omeprazole. Ann Pharmacother 2000; 34: 1024-1027.
19. Hon ZZ, Evans WE. Making TDM work to optimize cancer chemotherapy: a multidisciplinary team approach. Clin Chem 1998; 44: 388-400.
20. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. Oncologist 2006; 11: 694-703.
21. Esteve MA, Devictor-Pierre B, Galy G, Andre N, Coze C, Lacarelle B et al. Severe acute toxicity associated with high-dose methotrexate (MTX) therapy: use of therapeutic drug monitoring and test-dose to guide carboxypeptidase G2 rescue and MTX continuation. Eur J Clin Pharmacol 2007; 63: 39-42.