

Received: 2011.01.11
Accepted: 2011.02.25
Published: 2011.03.30

Znaczenie badań farmakogenetycznych w efektywności leczenia metotreksatem chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (część 2)

The importance of pharmacogenetic tests in evaluation of the effectiveness of methotrexate treatment in rheumatoid arthritis (part 2)

Jerzy Świerkot¹, Ryszard Ślęzak²

¹ Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych we Wrocławiu

² Zakład Genetyki Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Obecnie dużą nadzieję wiąże się z indywidualizacją leczenia chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Trwają poszukiwania markerów biochemicznych i klinicznych, dzięki którym można by przewidzieć dobrą odpowiedź na leczenie metotreksatem (MTX). Oprócz czynników klinicznych pomocna w jej ustaleniu może być predyspozycja genetyczna. Polimorfizm genów biorących udział w metabolizmie MTX może wpływać na jego skuteczność i częstość występowania działań niepożądanych. Badania farmakogenetyczne mogą się przyczynić do skuteczniejszej indywidualizacji leczenia chorych na RZS. W pracy określono znaczenie polimorfizmów genów reduktazy metylenotetrahydrofolianowej *MTHFR* C677T i A1298C na efektywność terapii MTX u chorych na RZS. Obecność określonych polimorfizmów genowych związanych z możliwością wystąpienia działań niepożądanych powinna być związana ze szczególnie wnikliwą oceną chorych.

Słowa kluczowe:

metotreksat • farmakogenetyka • reumatoidalne zapalenie stawów

Summary

Much hope is currently associated with individualization of therapy provided to rheumatoid arthritis (RA) patients. The search is underway for biochemical and clinical markers that would be useful in prediction of a good response to methotrexate (MTX) therapy. Along with clinical factors, genetic predisposition may also be helpful. Polymorphism of genes participating in MTX metabolism may affect the drug's efficacy and the rate of adverse effects. Pharmacogenetic studies may contribute to more effective individualization of therapy for RA patients. The purpose of the study was to determine the significance of gene polymorphisms *MTHFR* C677T and A1298C for efficacy of MTX therapy in RA patients. Patients possessing determined polymorphisms should be particularly carefully evaluated because of a higher risk of occurrence of adverse effects.

Key words:

methotrexate • pharmacogenetics • rheumatoid arthritis

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=936691>**Word count:** 3556**Tables:** 2**Figures:** –**References:** 56**Adres autora:** dr hab. n. med. Jerzy Świerkot, Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław; e-mail: jurekswierkot0@poczta.onet.pl**Wykaz skrótów:** **ATIC** – transformylaza rybonukleotydoma 5-amino-4-karboksyamidu; **5,10-CH2-THF** – 5,10-metylenotetrahydrofolian; **5-CH3-THF** – 5-metyltetrahydrofolian; **DAS** – indeks aktywności choroby; **FDA** – Ministerstwo do Spraw Leków i Żywności w USA (Food and Drug Administration); **FPGS** – syntetaza foliowielogammaglutaminianowa; **GGH** – hydrolaza foliowielogammaglutaminianowa; **LMPCH** – leki modyfikujące przebieg choroby; **MTHFD** – dehydrogenaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa; **MTHFR** – reduktaza metylenotetrahydrofolianowa; **MTR** – metylotransferaza homocysteinowa; **MTX** – metotreksat; **MTXPG** – postać poliglutamylowa MTX; **OR** – iloraz szans (odds ratio); **RZS** – reumatoidalne zapalenie stawów; **SNP** – polimorfizm pojedynczych nukleotydów; **TYMS** – syntaza tymidylanowa.

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest najczęstszą układową chorobą tkanki łącznej, w Polsce choruje około 380 000 osób. Po postawieniu rozpoznania należy jak najwcześniej wprowadzić do leczenia leki modyfikujące przebieg choroby (LMPCH). Obecnie metotreksat (MTX) jest nadal złotym standardem w leczeniu RZS i jest stosowany na świecie u ponad 0,5 mln chorych na RZS [22]. Porównując stosunek korzyści do potencjalnego ryzyka okazuje się, że MTX cechuje się bardzo wysokim stosunkiem skuteczności do toksyczności w porównaniu z innymi LMPCH [28]. W ostatnich zaleceniach Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego i Europejskiego Towarzystwa Reumatologicznego dotyczących leczenia RZS, MTX jest wymieniony jako podstawowy LMPCH niezależnie od aktywności choroby, czasu trwania RZS i występowania czynników świadczących o złym rokowaniu [37]. Dobrą odpowiedź na leczenie uzyskuje się u 35–65% chorych, a u 10–30% terapia MTX jest przerywana z powodu występowania działań niepożądanych. Według różnych autorów po 2 latach kontynuuje leczenie MTX 55–81,8%, po 5 latach 46–62%, a po 10 latach około 30% chorych [41]. Na podstawie metaanalizy 88 prac wykazano, że podczas długotrwałej terapii (5–12 lat) MTX był rzadziej odstawiany z powodu działań niepożądanych (10–37%) niż inne LMPCH (sulfasalazyna 17–52%, D-penicylamina 24–55%, sole złota 22–64%) z wyjątkiem hydroksychlorochiny (10–14%) [38]. Niestety wciąż dość liczną grupę stanowią chorzy, u których występują działania niepożądane lub u których nie uzyskuje się w pełni zadowalającego działania MTX. Obecnie dużą nadzieję wiąże się z indywidualizacją leczenia chorych na RZS. Wiele czynników, takich jak aktywność choroby, schorzenia towarzyszące oraz przeciwwskazania do konkretnych leków decydują o wyborze terapii. Oprócz klinicznych czynników w indywidualizacji leczenia mogą także odgrywać rolę predyspozycje genetyczne. Istnieje wiele potencjalnych enzymów i białek transportujących występujących w postaciach polimorficznych, które biorą udział w transporcie MTX do komórki, jego metabolizmie i wydalaniu z komórki.

MTX I REDUKTAZA METYLENOTETRAHYDROFOLIANOWA (MTHFR)

Jednym z mechanizmów działań MTX jest hamowanie metabolizmu folianów przez blokowanie reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR), ale nie w sposób bezpośredni. MTX wpływa na ogólną pulę folianów wewnątrzkomórkowych i dzięki temu oddziałuje na ten enzym. MTHFR katalizuje konwersję 5,10-metylenotetrahydrofolianu (5,10-CH₂-THF) do 5-metyltetrahydrofolianu (5-CH₃-THF) niezbędnego do proliferacji komórek i będącego głównym donorem reszt metylowych niezbędnych do przemiany homocysteiny w metioninę. Metionina jest potrzebna do syntezy S-adenozylu-L-metioniny, która jest donorem grup metylowych dla większości wewnątrzkomórkowo zachodzących metylacji. Zmniejszenie aktywności MTHFR powoduje więc zwiększenie stężenia homocysteiny. Zmiana aktywności MTHFR może także zaburzać wewnątrzkomórkową koncentrację folianów, a to może być powodem zmiany wrażliwości na działanie leków należących do antyfolianów, takich jak MTX i 5-FU.

MTHFR u ludzi występuje w dwóch izoformach MW 70 i 77 kDa. Martin i wsp. analizując DNA 240 osób (po 60 z rasy kaukaskiej, Afroamerykanów, rasy żółtej i Meksykanów) wykazali obecność 62 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) [25]. Stwierdzono różnice występowania poszczególnych polimorfizmów w różnych rasach: wykryto 37 SNP wśród Afroamerykanów, 29 w rasie kaukaskiej, 25 w rasie żółtej i 28 u Meksykanów. 12 polimorfizmów zaobserwowano tylko wśród Afroamerykanów, 8 w rasie żółtej, a 5 u Meksykanów i w rasie kaukaskiej. Różnice w różnych rasach występują nie tylko w liczbie polimorfizmów, ale także w ich częstości (tab.1).

POLIMORFIZM C677T GENU MTHFR

Rola większości opisanych polimorfizmów *MTHFR* nie jest jeszcze dobrze poznana. Najbardziej znanym polimorfizmem genu *MTHFR* jest polimorfizm C677T opisany w 1995 r., który prowadzi do zastąpienia alaniny przez walinę w kodonie 222. Prowadzi to do powstania termolabilnego wariantu *MTHFR*

Tabela 1. Częstość występowania polimorfizmów *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C w różnych populacjach

Gen/polimorfizm	Rasa/populacja (n)	Częstość CC (%)	Częstość CT (%)	Częstość TT (%)	Piśmiennictwo
<i>MTHFR</i> C677T	żółta (12)	50	41,7	8,3	[2]
	Afroamerykanie (26)	80,8	15,4	3,8	
	kaukaska (368)	47,8	41,6	10,6	
	Japończycy (2493)	37,5	48,5	14	[15]
	Afroamerykanie (714)	85	14	1	
	kaukaska (6943)	41	46	13	
Chińczycy (1307)	40	43	17		
Koreańczycy (831)	35	47	18		
Gen/polimorfizm	Rasa/populacja (n)	Częstość AA (%)	Częstość AC (%)	Częstość CC (%)	Piśmiennictwo
<i>MTHFR</i> A1298C	żółta(12)	50	50	0	[2]
	Afroamerykanie (26)	61,5	30,8	7,7	
	kaukaska (357)	44,5	42	13,4	
	Hiszpanie (44)	77,3	18,2	4,5	
	Japończycy (102)	61	35	4	[15]
	Afroamerykanie (614)	75	23	2	
kaukaska (2633)	46,5	44,5	9		
Chińczycy (695)	67	31	2		
Koreańczycy (200)	58	39	3		

n – liczba chorych

ze zmniejszoną aktywnością enzymu. Homozygotyczny wariant 677TT, który cechuje się 30% aktywnością typu dziękiego (CC) występuje w populacji kaukaskiej z częstością 8–10%. Heterozygoty stanowią 40% populacji rasy kaukaskiej i mają około 60% aktywności enzymu [8,35]. Polimorfizm C677T może prowadzić do zmniejszenia stężenia 5-metyltetrahydrofolianu, akumulacji 5,10-metylenotetrahydrofolianu i w efekcie do hiperhomocysteinemii [46]. Jednakże wyniki prac oceniających wpływ MTX na stężenia homocysteiny u chorych na RZS dotychczas nie są jednoznaczne. W większości z nich wykazano zwiększenie stężenia homocysteiny, jeśli nie była stosowana suplementacja kwasem foliowym. Haagsma i wsp. wykazali wyższe stężenia homocysteiny u homozygot *MTHFR* 677TT i heterozygot niż u homozygot *MTHFR* 677CC, ale nie potwierdzili tego inni autorzy [4,12]. Na podstawie metaanalizy obejmującej 788 chorych na RZS wynika, że suplementacja kwasu foliowego zmniejsza powikłania gastroenterologiczne i hepatologiczne. Nadal prowadzone są badania, których celem jest określenie optymalnej dawki kwasu foliowego, która ma zmniejszyć ryzyko występowania niepożądanych działań, a jednocześnie nie przyczyni się do zmniejszenia skuteczności MTX. Obecnie przeważa pogląd, że wszyscy chorzy leczeni MTX powinni otrzymywać suplementację kwasu foliowego, minimum 5 mg/tydzień, co najmniej 24 godziny po przyjęciu MTX [52].

Jeżeli potwierdziłaby się rola polimorfizmu *MTHFR* w indukcji hiperhomocysteinemii, należałoby u tych chorych stosować wyższe dawki kwasu foliowego i powinni być częściej monitorowani w trakcie terapii RZS. Hiperhomocysteinemia jest obecnie traktowana jako niezależny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca, a należy pamiętać, że główną przyczyną zgonów chorych na RZS są powikłania z układu krążenia. Należy zdawać sobie sprawę, że przyczyn homocysteinemii jest wiele i obserwowana jest głównie przy niskich stężeniach kwasu foliowego. W badaniu Framingham

wykazano, że stężenie homocysteiny w surowicy jest odwrotnie zależne od stężenia kwasu foliowego, witaminy B₁₂ i B₆. Dwie trzecie przypadków hiperhomocysteinemii jest związanych z niedoborami witaminy B₆ i B₁₂. W większości przypadków suplementacja kwasu foliowego, witaminy B₆ i witaminy B₁₂ wpływa na normalizację stężenia homocysteiny. Dzięki coraz powszechniejszemu stosowaniu suplementacji kwasu foliowego oraz zmniejszaniu aktywności choroby w trakcie leczenia MTX, wykazano zmniejszenie śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych u chorych leczonych MTX [33]. Rola polimorfizmu *MTHFR* C677T w chorobach układu krążenia i chorobach OUN była oceniana w metaanalizie 12 badań obejmującej 5370 chorych i 4961 zdrowych osób. Genotyp 677TT był obecny u 12,8% chorych ze stwierdzoną chorobą wieńcową i u 10,9% bez niej (iloraz szans – *odds ratio*: OR=1,18). Stężenia homocysteiny były nieco wyższe u osób z genotypem TT (14,4±2,9 μmol/L) niż genotypem CC (11,1±1,9 μmol/L) i CT (11,9±2 μmol/L) [27]. W pracy polskich naukowców, mimo że genotyp 677TT wiązał się z obecnością wyższych stężeń homocysteiny niż genotyp CT i CC (odpowiednio: 15,4/11,0/11,2 μmol/L; p<0,001), nie stwierdzono częstszego występowania choroby niedokrwiennej serca u chorych z allelem T i u homozygot TT w grupie 120 chorych. Autorzy doszli do wniosku, że to zwiększenie stężenia homocysteiny, a nie polimorfizm genu jest niezależnym czynnikiem ryzyka choroby niedokrwiennej [17]. Interesujące są także wyniki tureckich naukowców, którzy wykazali wyższe stężenia homocysteiny u osób cierpiących na chorobę niedokrwiennej serca z genotypem TT w porównaniu do CT i CC (p<0,01). Stwierdzili ponadto, że polimorfizm C677T może być niezależnym czynnikiem ryzyka pierwotnego nadciśnienia tętniczego [16]. Na podstawie metaanalizy 9 prac wykazano także związek genotypu TT z hiperhomocysteinemią (OR=2,82) i miażdżycą naczyń obwodowych (OR=1,36). Związek polimorfizmu

C677T z miążdżycą obwodową nie został jednak potwierdzony przez innych autorów [26,30].

Pierwsze prace dotyczące wpływu polimorfizmów genu *MTHFR* na skuteczność leczenia MTX i występowanie działań niepożądanych dotyczyły chorych ze schorzeniami nowotworowymi, głównie hematologicznymi. Ze względu na często stosowane zdecydowanie większe dawki MTX u tych chorych – wyniki tych prac nie mogą być bezpośrednio porównywane z wynikami opracowań dotyczących chorych na RZS. Większość badań wykazała, że obecność allelu T zwiększa częstość niepożądanych działań u chorych leczonych MTX z powodu białaczek, raka jajnika, raka sutka oraz po przeszczepach szpiku [36,45,46,48]. U chorych z nowotworami hematologicznymi lub anemią aplastyczną, u których wykonano przeszczepy alogeniczne szpiku wykazano, że chorzy z genotypem 677TT mieli częściej zwiększoną aktywność aminotransferaz, wyższe stężenia bilirubiny i wolniej do normy wracała u nich liczba płytek. Genotyp 677TT wiązał się z większą śmiertelnością związaną z leczeniem. Roczne przeżycie chorych z tym genotypem wynosiło 30%, a u pozostałych 56% [18]. W pracy Aplenca i wsp. (520 chorych) oraz Krajnovica i wsp. (201 chorych) obecność allelu T wiązała się z większym ryzykiem nawrotu choroby, a w pracy Chiusolo i wsp. genotyp 677TT wiązał się z częstszym występowaniem niepożądanych działań (CC+CT=45%/TT=92%; $p=0,003$) i krótszym przeżyciem (HR=0,213) [2,7,21]. Podobnie Toffoli i wsp. wśród chorych z genotypem 677TT wykazali zdecydowanie zwiększone ryzyko poważnych niepożądanych działań, zwłaszcza 3 i 4 stopnia według WHO (hematologicznych i zapalenia błony śluzowej jamy ustnej) w porównaniu do chorych z genotypem CT lub CC (*risc ratio*: RR=42,0) i towarzyszyło im zwiększone stężenie homocysteiny [45]. Pietrzyk i wsp. wśród 389 chorych dzieci na ALL wykazali 4 razy częstsze występowanie genotypu *MTHFR* 677TT wśród 31 chorych, którzy zmarli. Zgony były spowodowane głównie działaniami niepożądanymi, a w 4 przypadkach nawrotem choroby [31]. Jednym z możliwych wytłumaczeń częstszego nawrotu choroby w przypadku chorych na ALL może być zwiększenie stężenia 5,10-metylenotetrahydrofolianu i dTMP, co potęguje syntezę DNA [8]. Wyniki nie są jednak jednoznaczne, gdyż w kolejnych pracach nie potwierdzono wpływu polimorfizmu C677T na niepożądane działania i skuteczność terapii u chorych na ALL i chłoniaki nieziarnicze [20,29,39].

W literaturze przedmiotu opisano także kilka przypadków poważnych niepożądanych działań po jednej lub dwóch dawkach MTX u chorych z genotypem 677TT. Jeden z nich dotyczy 61-letniej kobiety, u której już po dawce 12,5 mg MTX wystąpiła neutropenia, trombocytopenia i zapalenie błony śluzowej jamy ustnej. Poprawę uzyskano po podaniu leukoworyny [34]. W kolejnej pracy autorzy przedstawili przypadek 11-letniej dziewczynki z genotypem 677TT, chorującej na chłoniaka T-komórkowego, u której stwierdzono ostrą niewydolność nerek po drugiej dawce MTX. Po dwóch tygodniach leczenia leukoworyną uzyskano powrót stężenia kreatyniny do normy [47].

Nadal niejednoznaczne są także wyniki oceniające wpływ polimorfizmów *MTHFR* u chorych na RZS leczonych MTX (tab.2).

Van Ede i wsp. oceniali rolę polimorfizmu C677T u 236 chorych na RZS. U 48% stwierdzono co najmniej jeden allel T i u nich częściej musiano przerwać leczenie MTX z powodu działań niepożądanych (RR=2,01), głównie z powodu zwiększenia aktywności aminotransferaz (RR=2,38). Nie wykazano w tej pracy wpływu polimorfizmu na skuteczność terapii. Pewnym ograniczeniem wyników tego badania jest to, że 1/3 chorych nie otrzymywała suplementacji folianami, 1/3 otrzymywała kwas foliowy i 1/3 kwas folinowy. Analizowano jedynie niepożądane działania, które zmusiły do zaprzestania leczenia [50,51]. W populacji hinduskiej (150 chorych) nie wykazano wpływu polimorfizmu C677T na skuteczność leczenia i częstość występowania działań niepożądanych (łącznie i analizując poszczególne niepożądane działania oddzielnie). Chorzy otrzymywali średnio 12 mg MTX/tydzień i stosowano u nich suplementację kwasem foliowym 10 mg/tydzień. Relatywnie rzadko w badanej grupie stwierdzono niepożądane działania (20%) i tylko 7% chorych musiało przerwać leczenie z tego powodu. Należy jednak zwrócić uwagę, że trudno było ustalić związek genotypu TT z efektywnością terapii, gdyż było jedynie 4 chorych z takim genotypem [1]. Także chińscy reumatolodzy nie wykazali częstszego występowania niepożądanych działań wśród 193 chorych na RZS i spondyloartropatie analizując występowanie polimorfizmu w zakresie *MTHFR* C677T. Chorzy przyjmowali jednak mniejsze dawki MTX (średnio 9,4 mg/tydzień), nie była także stosowana suplementacja kwasem foliowym. U 36,8% chorych wystąpiło co najmniej jedno działanie niepożądane i 16 chorych przerwało z tego powodu leczenie MTX. Autorzy tłumaczą brak wpływu polimorfizmu małą liczbą homozygot 677TT w grupie badanej (14 chorych), małymi dawkami MTX, brakiem stosowania kwasu foliowego i wpływem innych polimorfizmów [56]. Jedną z nielicznych prac, która dokładnie określała rodzaj i ciężkość działań niepożądanych była praca Kima i wsp. Oceniono wpływ polimorfizmu C677T u 385 chorych w Korei Południowej, którzy otrzymywali suplementację kwasem foliowym, a średnia dawka MTX wynosiła 11,6 mg/tydzień. Obecność genów 677CT lub 677TT wiązała się z czterokrotnie częstszym występowaniem niepożądanych działań w porównaniu z homozygotami CC [19]. Odmienne wyniki uzyskano w pracy obejmującej 63 chorych na RZS, łuszczykowe zapalenie stawów, zapalenie wielomięśniowe i zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa. Wykazano w niej częstsze występowanie niepożądanych działań w grupie chorych z genotypem 677CC. Dawki MTX wynosiły 7,5–15 mg tygodniowo, a kwasu foliowego 5 mg/tydzień. Należy zwrócić uwagę, że analizowana grupa była niejednorodna pod względem rozpoznania, była nieliczna i działania niepożądane były analizowane łącznie, a także nie analizowano ich ciężkości [40].

W metaanalizie prac oceniających wpływ polimorfizmu *MTHFR* C677T wykazano nieznaczny, ale istotny statystycznie wzrost częstości działań niepożądanych w grupie chorych z genotypem 677TT (OR=1,71; $p<0,001$) [10]. Bardzo trudno przeprowadzić rzetelną metaanalizę. Działania niepożądane w poszczególnych pracach są różnie interpretowane, często z powodu ograniczonej liczby chorych są analizowane wszystkie jednocześnie – wówczas tak samo ocenia się nieznacznie zwiększone wypadanie włosów i 3-krotne zwiększenie aktywności aminotransferaz. Być może różnice obserwowane w poszczególnych

Tabela 2. Wpływ wybranych polimorfizmów genu *MTHFR* na skuteczność terapii i wystąpienie niepożądanych działań w trakcie leczenia MTX chorych na RZS

Gen/polimorfizm	Liczba chorych	Dawka MTX (mg/tydz.)	Działania niepożądane	Skuteczność	Piśmiennictwo
<i>MTHFR</i> A1298C	115	2–12	↔	↔	[23]
	93	11	CC ↓ AA ↑	↔	[4]
	106	różna	↔ (677T+1298A to ↑)	C ↑ (<OB, < CRP)	[49]
	308		A ↑ (OR: 15 - rasa kaukaska)	↔	[15]
	205	15-25	C ↑	AA ↑ (wczesny RZS)	[55]
	48	17,5	AC lub CC ↑		[9]
	174	15		CC ↑ (ale NS)	[24]
	159		↔	AA ↓	[44]
	213	10	CC ↓	↔	[5]
	34	7,5–17	↔	↔	[11]
<i>MTHFR</i> C677T	105		TT ↑	↔	[12]
	236		TT i TC ↑ hepatotoksyczność	↔	[50]
	115	2–12	↔	↔	[23]
	93		↔	↔	[4]
	106	różna	T ↑	↔	[49]
	205	15–25	↔	CC ↑ (wczesny RZS)	[55]
	308		↔	↔	[15]
	214		TT ↑ neurologiczne		[54]
	48	7,5–17	↔		[9]
	213	10	↔	↔	[5]
150	11	↔ (tylko 4 chorych z TT)	↔	[1]	
174	15		TT ↑ (tylko 6 chorych z TT)	[24]	
208	8–15	TT, CT ↑ hepatotoksyczność	↔	[44]	
34	7,5–17	↔	↔	[11]	
193	9,4	↔		[56]	

↔ – bez wpływu na skuteczność lub działania niepożądane NS – nieistotny statystycznie, ↑ lub ↓ – zwiększenie lub zmniejszenie częstości działań niepożądanych lub zwiększenie skuteczności terapii

badaniach wynikają m.in. z różnic w zastosowanej dawce kwasu foliowego. W zdecydowanej większości prac nie obserwowano istotnego wpływu polimorfizmu na skuteczność terapii. Wydaje się, że głównym mechanizmem działania MTX jest działanie przeciwzapalne, a nie antyproliferacyjne. W naszych badaniach także nie obserwowaliśmy istotnie statystycznego związku tego polimorfizmu ze skutecznością terapii, natomiast więcej działań niepożądanych stwierdziliśmy wśród chorych, którzy mieli co najmniej jeden allel T. Ponad trzy razy częściej występowało u nich także zwiększenie aktywności aminotransferaz [42,43].

POLIMORFIZM A1298 GENU *MTHFR*

Drugim co do częstości polimorfizmem genu *MTHFR* jest A1298C opisany przez Weisberga w 1998 r., który prowadzi do podstawienia alaniny w miejsce glutaminy w kodonie

429. Powoduje to zmniejszenia aktywności enzymu o prawie 40%. Allel C występuje w około 32% populacji kaukaskiej, a homozygoty CC stanowią około 10% populacji. Dane o wpływie tego polimorfizmu na skuteczność leczenia i występowanie działań niepożądanych w trakcie terapii MTX są niejednoznaczne. W badaniach Herrlingera i wsp. u chorych z przewlekłymi zapalnymi chorobami jelit stosującymi w leczeniu MTX stwierdzono, że u chorych z genotypem 1298CC wystąpiło więcej niepożądanych działań niż u chorych z genotypem 1298AA [13]. Podobne wyniki w 12-miesięcznym badaniu uzyskano wśród chorych na przewlekłe zapalne choroby jelit (chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego) leczonych MTX w dawce 15–25 mg tygodniowo. Analizowano w nim wpływ polimorfizmów *MTHFR* C677T i A1298C na terapię MTX. Stwierdzono częstsze występowanie niepożądanych działań u homozygot 1298CC

(21/6,3%; $p < 0,05$), a różnice były najistotniejsze w występowaniu nudności i wymiotów (44%/6,5%; $p = 0,01$) [28]. Przeciwnie wyniki stwierdzili Berkun i wsp. – u chorych z genotypem 1298AA było 5-krotnie większe ryzyko wystąpienia działań niepożądanych niż u chorych z genotypem 1298CC (OR=5,24) [4]. Campalani i wsp. w retrospektywnej analizie 203 chorych na łuszczycowe zapalenie stawów leczonych MTX minimum przez 3 miesiące stwierdzili, że polimorfizm *MTHFR* A1298C nie miał związku ze skutecznością leczenia i działaniami niepożądanymi [6]. Prawdopodobnie polimorfizm A1298C sam nie wpływa na podwyższenie stężenia homocysteiny, ale heterozygoty zarówno pod względem 677C > T i 1298A > C mają znacznie zmniejszoną aktywność enzymu i u nich stwierdzono wyższe stężenia homocysteiny, takie jakie obserwuje się u homozygot z polimorfizmem 677C > T. W metaanalizie biorącej pod uwagę 5 prac Fisher i wsp. nie wykazali wpływu polimorfizmu A1298C na częstość występowania działań niepożądanych [10].

ZNACZENIE OBU POLIMORFIZMÓW C677T I A1298C GENU *MTHFR* W TERAPII MTX

Ważnym zagadnieniem jest także wpływ wielu polimorfizmów na występowanie działań niepożądanych i skuteczność terapii. Występowanie u jednego chorego obu polimorfizmów w postaci homozygotycznej 677TT i 1298CC jest bardzo rzadkie. Około 15% populacji kaukaskiej jest heterozygotyczna w zakresie obu powyższych polimorfizmów i mają oni podobnie zmniejszoną aktywność *MTHFR* jak homozygoty 677TT.

Prospektywną pracą, która oceniała oba polimorfizmy w zakresie *MTHFR* u chorych na RZS leczonych MTX w maksymalnej dawce 12,5 mg/tydzień była praca Kumagai i wsp. U 45% z 93 chorych wystąpiły niepożądane działania, a 17% przerwało z tego powodu leczenie. Ze względu na ograniczoną liczebność badanej populacji były analizowane wszystkie działania niepożądane łącznie i nie wykazano wpływu badanych polimorfizmów na objawy niepożądane i skuteczność leczenia [23]. Także w kolejnej pracy, obejmującej tylko 34 chorych na RZS Hindusów nie wykazano wpływu polimorfizmów *MTHFR* C677T i A1298C oraz syntazy tymidylanowej (*TYMS*) 5'UTR i 3'UTR na częstość występowania działań niepożądanych i skuteczność leczenia. Było to retrospektywne badanie przeprowadzone wśród chorych, którzy przez minimum 6 miesięcy byli leczeni MTX w dawce 7,5–17,5 mg/tydzień. Autorzy nie określili czy chorzy otrzymywali kwas foliowy, a niepożądane działania były rozpatrywane łącznie [11]. Podobne wyniki uzyskali Warren i wsp. oceniając retrospektywnie wpływ leczenia MTX u 330 chorych na łuszczycę, którzy co najmniej przez 3 miesiące kontynuowali leczenie. Dobrze zareagowało na leczenie 250 z nich, a u 177 wystąpiły działania niepożądane. Analizowano polimorfizmy w zakresie *MTHFR*, hydrolazy foliowielogammaglutaminianowej (*GGH*), syntetazy foliowielogammaglutaminianowej (*FPGS*) i transformylazy rybonukleotydowej 5-amino-4-karboksyamidu (*ATIC*). Jedynie niektóre polimorfizmy w zakresie *ATIC* (rs2372536 i rs 4672768) kojarzyły się z wystąpieniem niepożądanych działań. Żaden z badanych polimorfizmów nie miał wpływu na skuteczność leczenia. Autorzy nie stwierdzili też różnic między tymi, którzy otrzymywali kwas foliowy i pozostałymi [53]. Dane

z niektórych prac wskazują, że chorzy z allelami wariantowymi *MTHFR* są bardziej podatni na niektóre niepożądane działania, ale nie wszyscy autorzy to potwierdzają. Japońscy reumatolodzy badali wpływ obu polimorfizmów na skuteczność leczenia i częstość niepożądanych działań w grupie 208 chorych na RZS. Dawki MTX były niższe niż stosuje się rutynowo w Europie i Ameryce (połowa chorych otrzymywała 6 mg MTX tygodniowo lub mniej) i niepożądane działania nie były precyzyjnie scharakteryzowane. Skuteczność leczenia była oceniana retrospektywnie w zależności od dawki MTX potrzebnej do uzyskania poprawy – jeżeli wynosiła do 6 mg to autorzy uznawali, że chorzy lepiej odpowiadają na leczenie. Obecność allelu 677T wiązała się z częstszym występowaniem wszystkich niepożądanych działań (RR=2,4; $p = 0,003$) i częściej w tej grupie chorych było obserwowane zwiększenie aktywności aminotransferaz ($p = 0,004$; RR=2,66). Chorzy z genotypem *MTHFR* 1298AA potrzebowali wyższych dawek MTX do osiągnięcia tej samej skuteczności, niż chorzy z genotypem CC lub AC ($p = 0,008$; RR=1,4) [44]. Hider i wsp. wykazali w grupie 309 chorych na RZS częstsze zwiększenie aktywności aminotransferaz u posiadaczy allelu 677T (RR=3,3). Polimorfizmy w zakresie A1298C nie miały wpływu na niepożądane działania i skuteczność terapii [14]. Podobnie Urano i wsp. wykazali w japońskiej populacji częstsze działania niepożądane u posiadaczy allelu 677T (RR=1,25), ale różnice w tym polimorfizmie nie miały wpływu na skuteczność leczenia. Dawki przyjmowane przez obserwowanych chorych były jednak niższe niż w innych pracach i nie przekraczały 12,5 mg MTX. Wszystkie niepożądane działania były analizowane łącznie, bez względu na ich nasilenie i charakter. Polimorfizm A1298C nie miał natomiast wpływu na ich częstość. Posiadanie allelu C wiązało się jednak z możliwością podawania mniejszych dawek leku i osiągnięto większe obniżenie parametrów zapalnych (RR=2,18; $p < 0,05$) [49]. Także Wessels i wsp. badali wpływ tych dwóch polimorfizmów u 205 chorych na RZS. Lepszą odpowiedź na leczenie po 6 miesiącach – biorąc pod uwagę spadek indeksu aktywności choroby (DAS) – wykazano u chorych z genotypem *MTHFR* 1298AA (OR=2,3) oraz u chorych z genotypem 677CC. Więcej niepożądanych działań wykazano u chorych z allelem 1298C (OR=2,5), mimo że chorzy otrzymywali suplementację kwasu foliowego [55].

W kolejnym badaniu oceniającym wpływ pięciu polimorfizmów w tym 677C > T i 1298A > C w grupie 193 chorych na RZS rasy kaukaskiej i 30 Afroamerykanów uzyskano przeciwne wyniki. Nie stwierdzono wpływu SNP na skuteczność leczenia ocenianą za pomocą indeksu aktywności choroby (DAS28), natomiast więcej niepożądanych działań wystąpiło w grupie z allelem 1298A ($p = 0,021$; OR=15,8) [15]. Oba polimorfizmy były też badane wśród 174 chorych na RZS leczonych MTX w dawce 15 mg/tydzień, którzy stosowali jednocześnie 4 mg metylprednizolonu i 5 mg kwasu foliowego na dobę. W czasie 12-miesięcznego badania jako kryterium poprawy, przyjęto 20% poprawę wg kryteriów ACR. Wśród chorych z obecnym allelem *MTHFR* 677T istotnie statystycznie więcej uzyskało zmniejszenie aktywności choroby, a w grupie z allelem 1298C była jedynie tendencja do częstszego zmniejszenia aktywności choroby. Należy jednak podkreślić, że było jedynie 6 chorych z genotypem 677TT i w związku z tym, gdy u 3 z nich uzyskano 20% poprawę, to stanowili oni 50%

ocenianej populacji. Po przeanalizowaniu wyników grupy z allelem T okazało się, że występował on u 29% odpowiadających na leczenie i 20% nieodpowiadających, a różnice te nie były już istotne statystycznie ($p=0,08$). Mimo że stwierdzono częstszą poprawę wśród chorych z genotypem 1298CC niż u chorych z genotypem 1298AA ($OR=2,17$), to były to różnice nieistotne statystycznie ($p=0,132$). Jedną z głównych różnic w badanej grupie w stosunku do innych prac była dawka kwasu foliowego, która wynosiła 5 mg/dobę, a nie 5 mg/tydzień, jak w większości innych prac. Dawka MTX była ponadto zwiększana do maksimum 15 mg/tydzień, a w niektórych innych pracach była to dawka średnia. Tym tłumaczą autorzy rzadsze występowanie niepożądanych działań w badanej grupie i w związku z tym nie mogli oni przeanalizować ich występowania w skojarzeniu z polimorfizmami. Sposób dawkowania leków mógł być także powodem uzyskania poprawy ACR 20% jedynie u 58/174 chorych (33%) [24].

Mechanizm ewentualnego wpływu polimorfizmów *MTHFR* na działania niepożądane w trakcie terapii MTX dokładnie nie jest poznany. Najbardziej prawdopodobny jest wpływ na zmniejszenie stężenia 5-metyl THF, które może prowadzić do zmniejszenia metylacji homocysteiny, zmniejszenia stężenia metioniny i w efekcie zmniejszenia metylacji DNA.

FARMAKOEKONOMIKA

Obecnie próbuje się określić przydatność badań polimorfizmów genów w celu oceny skuteczności leczenia i występowania potencjalnych działań niepożądanych biorąc pod uwagę analizę farmakoeconomiczną. Bierze się w niej pod uwagę koszt wykonania badań genetycznych, a także oszczędności wynikające ze zmniejszenia liczby działań niepożądanych, czy osiągnięcie w krótszym czasie zamierzonego celu terapeutycznego (np. szybsze uzyskanie

poprawy czy remisji, szybszy powrót do pracy). Jednym z najlepiej przebadanych polimorfizmów wśród leków stosowanych w reumatologii jest polimorfizm metylenotransferazy tiopuryny (TPMT), biorącej udział w metabolizmie azatiopryny. Chorzy nieposiadający lub posiadający zmniejszoną aktywność TPMT są narażeni na zwiększone ryzyko ciężkiej mielosupresji po standardowych dawkach leku i dlatego powinni być leczeni niższymi dawkami 6-merkaptopuryny i azatiopryny. FDA (US Food and Drug Administration) popiera oznaczenie testów wykrywających polimorfizmy TPMT celem optymalizacji terapii [3,32]. Analizując przydatność badań farmakogenetycznych i ich kosztowe uzasadnienie należy brać pod uwagę całość kosztów związanych z terapią MTX. MTX w postaci tabletek doustnych jest lekiem relatywnie tanim, natomiast w związku z częstym występowaniem działań niepożądanych ponoszone są wysokie koszty badań kontrolnych wykonywanych w trakcie terapii MTX i koszty ewentualnego leczenia powikłań terapii. Analizując koszty monitorowania działań niepożądanych wśród LMPCH najniższymi cechuje się HCQ, a najwyższymi MTX [32]. Po to, żeby oznaczenie danego polimorfizmu miało sens także farmakoeconomiczny, powinien być udowodniony związek genotypu z konkretnym klinicznym fenotypem i częstość występowania danego polimorfizmu powinna być odpowiednio duża. Jeżeli dany polimorfizm występuje z częstością np. 2%, to średnio 50 chorych musi być przebadanych, żeby zidentyfikować chorego z danym polimorfizmem. W przyszłości należy, dla potwierdzenia słuszności roli badań farmakogenetycznych, po uzyskaniu wyników z danej pracy planować badania prospektywne. Chorych należałoby podzielić na dwie grupy, jedna otrzymywałaby standardowe dawki MTX, a w drugiej w zależności od profilu genetycznego MTX albo inny LMPCH. Dotychczas nie oceniono jednoznacznie czy oznaczenie polimorfizmów *MTHFR* ma uzasadnienie farmakoeconomiczne.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aggarwal P., Naik S., Mishra K.P., Aggarwal A., Misra R.: Correlation between methotrexate efficacy & toxicity with C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate gene in rheumatoid arthritis patients on folate supplementation. *Indian J. Med. Res.*, 2006; 124: 521–526
- [2] Aplenc R., Thompson J., Han P., La M., Zhao H., Lange B., Rebbeck T.: Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and therapy response in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.*, 2005; 65: 2482–2487
- [3] Baslund B., Dalhoff K.P., Schmiegelow K.: Individual monitoring of thiopurine and methotrexate treatment. *Ugeskr Laeger.*, 2005; 167: 2177–2179
- [4] Berkun Y., Levartovsky D., Rubinow A., Orbach H., Aamar S., Grenader T., Abou A., Mevorach D., Friedman G., Ben-Yehuda A.: Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the *MTHFR* gene. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004; 63: 1227–1231
- [5] Bohanec Grabar P., Logar D., Lestan B., Dolzan V.: Genetic determinants of methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2008; 64: 1057–1068
- [6] Campalani E., Arenas M., Marinaki A.M., Lewis C.M., Barker J.N., Smith C.H.: Polymorphisms in folate, pyrimidine, and purine metabolism are associated with efficacy and toxicity of methotrexate in psoriasis. Polymorphisms in folate, pyrimidine, and purine metabolism are associated with efficacy and toxicity of methotrexate in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 2007; 127: 1860–1867
- [7] Chiusolo P., Reddicono G., Casorelli I., Laurenti L., Sorà F., Mele L., Annino L., Leone G., Sica S.: Preponderance of methylenetetrahydrofolate reductase C677T homozygosity among leukemia patients intolerant to methotrexate. *Ann. Oncol.*, 2002; 13: 1915–1918
- [8] Chiżyński K.: Hiperhomocysteinemia – ważny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca. *Polski Przegląd Kardiologiczny*, 2002; 4: 103–108
- [9] Dervieux T., Greenstein N., Kremer J.: Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 3095–3103
- [10] Fisher M.C., Cronstein B.N.: Metaanalysis of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) polymorphisms affecting methotrexate toxicity. *J. Rheumatol.*, 2009; 36: 539–545
- [11] Ghodke Y., Chopra A., Joshi K., Patwardhan B.: Are thymidylate synthase and methylene tetrahydrofolate reductase genes linked with methotrexate response (efficacy, toxicity) in Indian (Asian) rheumatoid arthritis patients? *Clin. Rheumatol.*, 2008; 27: 787–789
- [12] Haagsma C.J., Blom H.J., van Riel P.L., van't Hof M.A., Giesendorf B.A., van Oppenraaij-Emmerzaal D., van de Putte L.B.: Influence of sulphasalazine, methotrexate, and the combination of both on plasma homocysteine concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1999; 58: 79–84
- [13] Herlinger K.R., Cummings J.R., Bernardo M.C., Schwab M., Ahmad T., Jewell D.P.: The pharmacogenetics of methotrexate in inflammatory bowel disease. *Pharmacogenet. Genomics*, 2005; 15: 705–711
- [14] Hider S.L., Mack L.F., Shadforth M.F., Thomson W., Bruce I.N.: Single nucleotide polymorphisms within *MTHFR* are associated with abnormal liver function tests in RA patients receiving MTX. *Rheumatology*, 2006; 45(Suppl.1): 104

- [15] Hughes L.B., Beasley T.M., Patel H., Tiwari H.K., Morgan S.L., Baggott J.E., Saag K.G., McNicholl J., Moreland L.W., Alarcón G.S., Bridges S.L.Jr: Racial or ethnic differences in allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and their influence on response to methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006; 65: 1213–1218
- [16] Ilhan N., Kucuksu M., Kaman D., Ilhan N., Ozbay Y.: The 677 C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels. *Arch. Med. Res.*, 2008; 39: 125–130
- [17] Kadziela J., Janas J., Dzielińska Z., Szperl M., Gaździk D., Chotkowska E., Piotrowski W., Ruzylło W.: The C677T mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene, plasma homocysteine concentration and the risk of coronary artery disease. *Kardiol. Pol.*, 2003; 59: 17–26
- [18] Kim I., Lee K.H., Kim J.H., Ra E.K., Yoon S.S., Hong Y.C., Park S.S., Kim C.S., Park S., Kim B.K.: Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and clinical outcomes in HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann. Hematol.*, 2007; 86: 41–48
- [19] Kim S.K., Jun J.B., El-Sohemy A., Bae S.C.: Cost-effectiveness analysis of MTHFR polymorphism screening by polymerase chain reaction in Korean patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *J. Rheumatol.* 2006; 33: 1266–1274
- [20] Kishi S., Griener J., Cheng C., Das S., Cook E.H., Pei D., Hudson M., Rubnitz J., Sandlund J.T., Pui C.H., Relling M.V.: Homocysteine, pharmacogenetics, and neurotoxicity in children with leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2003; 15: 3084–3091
- [21] Krajcinovic M., Lemieux-Blanchard E., Chiasson S., Primeau M., Costea I., Moghrabi A.: Role of polymorphisms in MTHFR and MTHFD1 genes in the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J.*, 2004; 4: 66–72
- [22] Kremer J.M.: Toward a better understanding of methotrexate. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 1370–1382
- [23] Kumagai K., Hiyama K., Oyama T., Maeda H., Kohno N.: Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Med.*, 2003; 11: 593–600
- [24] Kurzawski M., Pawlik A., Safranow K., Herczynska M., Drozdziak M.: 677C>T and 1298A>C MTHFR polymorphisms affect methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics*, 2007; 8: 1551–1559
- [25] Martin Y.N., Salavaggione O.E., Eckloff B.W., Wieben E.D., Schaid D.J., Weinshilboum R.M.: Human methylenetetrahydrofolate reductase pharmacogenomics: gene resequencing and functional genomics. *Pharmacogenet Genomics*, 2006; 16: 265–277
- [26] Mueller T., Marschon R., Dieplinger B., Haidinger D., Gegenhuber A., Poelz W., Webersinke G., Haltmayer M.: Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations are not associated with chronic limb ischemia: the Linz Peripheral Arterial Disease (LIPAD) study. *J. Vasc. Surg.*, 2005; 41: 808–815
- [27] Nakai K., Itoh C., Nakai K., Habano W., Gurwitz D.: Correlation between C677T MTHFR gene polymorphism, plasma homocysteine levels and the incidence of CAD. *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, 2001; 1: 353–361
- [28] Nikolaisen C., Kvien T.K., Mikkelsen K., Kaufmann C., Rødevand E., Nossent J.C.: Contemporary use of disease-modifying drugs in the management of patients with early rheumatoid arthritis in Norway. *Scand. J. Rheumatol.*, 2009; 38: 240–245
- [29] Pakakasama S., Kanchanakamhaeng K., Kajanachumpol S., Udumsubpayakul U., Sirachainan N., Thithapandha A., Hongeng S.: Genetic polymorphisms of folate metabolic enzymes and toxicities of high dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. *Ann. Hematol.*, 2007; 86: 609–611
- [30] Pereira A.C., Xavier-Neto J., Mesquita S.M., Mota G.F., Lopes A.A., Krieger J.E.: Lack of evidence of association between MTHFR C677T polymorphism and congenital heart disease in a TDT study design. *Int. J. Cardiol.*, 2005; 105: 15–18
- [31] Pietrzyk J.J., Bik-Multanowski M., Balwierz W., Skoczen S., Wojcik D., Chybicka A., Sikorska-Fic B., Matysiak M., Szczepanski T., Sonta-Jakimczyk D., Ploszynska A., Balcerska A., Mycko K., Bodalski J., Krawczuk-Rybak M., Kowalczyk J., Koltan A., Sobol G., Derwich K., Kwinta P.: Additional genetic risk factor for death in children with acute lymphoblastic leukemia: a common polymorphism of the *MTHFR* gene. *Pediatr. Blood Cancer.*, 2009; 52: 364–368
- [32] Prashker M.J., Meenan R.F.: The total costs of drug therapy for rheumatoid arthritis. A model based on costs of drug, monitoring, and toxicity. *Arthritis Rheum.*, 1995; 38: 318–325
- [33] Prodanovich S., Ma F., Taylor J.R., Pezon C., Fasihi T., Kirsner R.S.: Methotrexate reduces incidence of vascular diseases in veterans with psoriasis or rheumatoid arthritis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005; 52: 262–267
- [34] Przekop P.R.Jr, Tulgan H., Przekop A.A., Glantz M.: Adverse drug reaction to methotrexate: pharmacogenetic origin. *J. Am. Osteopath. Assoc.*, 2006; 106: 706–707
- [35] Ranganathan P., McLeod H.L.: Methotrexate pharmacogenetics: the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 1366–1377
- [36] Robien K., Ulrich C.M., Bigler J., Yasui Y., Gooley T., Bruemmer B., Potter J.D., Radich J.P.: Methylenetetrahydrofolate reductase genotype affects risk of relapse after hematopoietic cell transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 7592–7598
- [37] Saag K.G., Teng G.G., Patkar N.M., Anuntiyi J., Finney C., Curtis J.R., Paulus H.E., Mudano A., Pisu M., Elkins-Melton M., Outman R., Allison J.J., Suarez Almazor M., Bridges S.L. Jr, Chatham W.W., Hochberg M., MacLean C., Mikuls T., Moreland L.W., O'Dell J., Turkiewicz A.M., Furst D.E.; American College of Rheumatology. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2008; 59: 762–784
- [38] Salliot C., van der Heijde D.: Long term safety of methotrexate monotherapy in rheumatoid arthritis patients: a systematic literature research. *Ann. Rheum. Dis.*, 2009; 68: 1100–1104
- [39] Seidemann K., Book M., Zimmermann M., Meyer U., Welte K., Stanulla M., Reiter A.: MTHFR 677 (C->T) polymorphism is not relevant for prognosis or therapy-associated toxicity in pediatric NHL: results from 484 patients of multicenter trial NHL-BFM 95. *Ann. Hematol.*, 2006; 85: 291–300
- [40] Speletas M., Papadopoulos N., Daiou C., Katodritou E., Pavlitou-Tsiontsi A., Galanopoulou V.: Relationship between 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and methotrexate related toxicity in patients with autoimmune diseases receiving folic acid supplementation. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005; 64: 1791–1792
- [41] Świerkot J., Szechiński J., Wiland P.: Pięcioletnia ocena kliniczna skuteczności leczenia metotrekساتem chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2000; 103: 267–275
- [42] Świerkot J., Ślezak R., Karpinski P., Pawlowska J., Noga L.: Is toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes? *Ann. Rheum. Dis.*, 2009; 68(Suppl.3): 588
- [43] Świerkot J., Ślezak R., Karpinski P., Pawlowska J., Noga L., Szechiński J., Wiland P.: Polimorfizmy genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej a skuteczność leczenia i działania niepożądane w trakcie terapii metotrekساتem u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Reumatologia*, 2010; 48: 81–93
- [44] Taniguchi A., Urano W., Tanaka E., Furihata S., Kamitsuji S., Inoue E., Yamanaka M., Yamanaka H., Kamatani N.: Validation of the associations between single nucleotide polymorphisms or haplotypes and responses to disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a proposal for prospective pharmacogenomic study in clinical practice. *Pharmacogenet. Genomics*, 2007; 17: 383–390
- [45] Toffoli G., Cecchin E.: Uridine diphosphoglucuronosyl transferase and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms as genomic predictors of toxicity and response to irinotecan-, antifolate- and fluoropyrimidine-based chemotherapy. *J. Chemother.*, 2004; 16(Suppl.4): 31–35
- [46] Toffoli G., Russo A., Innocenti F., Corona G., Tumolo S., Sartor F., Mini E., Boiocchi M.: Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients. *Int. J. Cancer.*, 2003, 103: 294–299
- [47] Turello R., Rentsch K., Di Paolo E., Popovic M.B.: Renal failure after high-dose methotrexate in a child homozygous for MTHFR C677T polymorphism. *Pediatr. Blood Cancer*, 2008; 50: 154–156
- [48] Ulrich C.M., Yasui Y., Storb R., Schubert M.M., Wagner J.L., Bigler J., Ariail K.S., Keener C.L., Li S., Liu H., Farin F.M., Potter J.D.: Pharmacogenetics of methotrexate: toxicity among marrow transplantation patients varies with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Blood*, 2001; 98: 231–234

- [49] Urano W., Taniguchi A., Yamanaka H., Tanaka E., Nakajima H., Matsuda Y., Akama H., Kitamura Y., Kamatani N.: Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics*, 2002; 12: 183–190
- [50] van Ede A.E., Laan R.F., Blom H.J.: The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.*, 2001; 44: 2525–2530
- [51] van Ede A.E., Laan R.F., Rood M.J.: Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthr. Rheum.*, 2001; 44: 1515–1524
- [52] Visser K., Katchamart W., Loza E., Martinez-Lopez J.A., Salliot C., Trudeau J., Bombardier C., Carmona L., van der Heijde D., Bijlsma J.W., Boumpas D.T., Canhao H., Edwards C.J., Hamuryudan V., Kvien T.K., Leeb B.F., Martín-Mola E.M., Mielants H., Müller-Ladner U., Murphy G., Ostergaard M., Pereira I.A., Ramos-Remus C., Valentini G., Zochling J., Dougados M.: Multinational evidence-based recommendations for the use of methotrexate in rheumatic disorders with a focus on rheumatoid arthritis: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad international panel of rheumatologists in the 3E Initiative. *Ann. Rheum. Dis.*, 2009; 68: 1086–1093
- [53] Warren R.B., Smith R.L., Campalani E., Eyre S., Smith C.H., Barker J.N., Worthington J., Griffiths C.E.: Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br. J. Dermatol.*, 2009; 160: 438–441
- [54] Weisman M.H., Furst D.E., Park G.S., Kremer J.M., Smith K.M., Wallace D.J., Caldwell J.R., Dervieux T.: Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 607–612
- [55] Wessels J.A., de Vries-Bouwstra J.K., Heijmans B.T., Slagboom P.E., Goekoop-Ruiterman Y.P., Allaart C.F.: Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 1087–1095
- [56] Zeng Q.Y., Wang Y.K., Xiao Z.Y., Chen S.B.: Pharmacogenetic study of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and thymidylate synthase 3R/2R gene polymorphisms and methotrexate-related toxicity in Chinese Han patients with inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008; 67: 1193–1194

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.