

## **Klinička farmakokinetika metotreksata u terapiji akutne limfoblastne leukemije i ne-Hodkinovog limfoma u pedijatrijskoj populaciji pacijenata**

**Biljana Škorić<sup>1\*</sup>, Marija Jovanović<sup>1</sup>, Branislava Miljković<sup>1</sup>,  
Miloš Kuzmanović<sup>2,3</sup>, Katarina Vučićević<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakokinetiku i kliničku farmaciju, Vojvode Stepe 450, Beograd, Srbija

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

<sup>3</sup>Institut za zdravstvenu zaštitu zdravlja majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić”, Radoja Dakića 6-8, Beograd, Srbija

\*Autor za korespondenciju: Biljana Škorić; e-mail: biljana.skoric@ymail.com

---

### **Kratak sadržaj**

Metotreksat (MTX) se u visokim dozama koristi u terapiji akutne limfoblastne leukemije i ne-Hodkinovog limfoma u pedijatrijskoj populaciji. Deluje kao kompetitivni inhibitor dihidrofolat reduktaze i time inhibira sintezu dezoksiribonukleinske kiseline. Step en biološke raspoloživosti zavisi od puta primene leka i doze. Vezivanje za proteine plazme je u umerenom stepenu, a raspodeljuje se u tkiva i ćelije. Nakon primene u visokim dozama MTX delimično podleže hepatičkom i intracelularnom metabolizmu, ali glavni put eliminacije je preko bubrega u nepromenjenom obliku. Veliki broj faktora utiče na farmakokinetiku i koncentraciju leka, a pre svega je opisan uticaj funkcije bubrega na eliminaciju. Usporena eliminacija može biti i posledica interakcije sa drugim lekovima na nivou transportera u renalnim tubulima. Primena visokih doza MTX nosi rizik od pojave toksičnosti, posebno pri usporenoj eliminaciji. Terapijsko praćenje leka je indikovano iz bezbednosnih razloga, kako bi se optimizovala primena leukovorina (folinska kiselina) koji smanjuje toksičnost MTX. Imajući u vidu varijabilnost i toksičnost pri primeni visokih doza MTX poseban oprez je potreban u pedijatrijskoj populaciji pacijenata.

**Ključne reči:** metotreksat, farmakokinetički parametri, pedijatrijska populacija, interakcije lekova, toksičnost

---

## Uvod

Metotreksat (MTX) je antimetabolit, strukturni analog folne kiseline, od koje se razlikuje zamenom hidroksilne grupe amino grupom na pteridinskom prstenu i dodatkom metil grupe na azotu 4-amino benzoilskog dela molekula (1,2). Molekulska masa iznosi 454 g/mol, a po kiselo-baznim karakteristikama ovaj lek je slaba kiselina sa pKa 4,8-5,5. Rastvorljivost molekula u humanom urinu je direktno proporcionalna pH vrednosti (2). Nakon dobijanja odobrenja od strane Američke agencije za hranu i lekove (*Food and Drug Administration*, FDA) 1953. godine, ovaj derivat aminopterina je uveden u terapiju leukemije (3). U pedijatrijskoj populaciji pacijenata, MTX se koristi u visokim dozama (*High-dose Methotrexate*, HDMTX) u terapiji akutne limfoblastne leukemije (ALL), ne-Hodkinovog limfoma (NHL), osteosarkoma i tumora centralnog nervnog sistema (4). Za razliku od drugih antineoplastičnih agenasa, citotoksičnost MTX može biti sprečena primenom kalcijum-folinata (leukovorina), poznato kao „zaštitna terapija kalcijum folinatom“ (eng. *calcium folinate rescue*), čime se otvara prostor za primenu visokih doza (5,6). To su doze MTX  $\geq 1\text{g/m}^2$  primenjene u obliku infuzije koja obično traje od 6 do 24 h. Primena HDMTX u terapiji ALL dovodi se u vezu sa smanjenjem broja relapsa, a koncentracije MTX koje se dostižu posle primene HDMTX povećavaju verovatnoću za ostajanjem u remisiji (7,8).

Iako je MTX u upotrebi više od 50 godina, zbog visoke farmakokinetičke varijabilnosti, ograničenog broja studija u pedijatrijskoj populaciji koje ispituju uticaj svih relevantnih izvora varijabilnosti istovremeno, često malog ispitivanog uzorka, zatim optimizacije primene leukovorina, ispitivanje ovog leka je i dalje aktuelno, posebno primenom savremene metodologije u populaciji dece. Stoga, cilj ovog rada je da se sumarno prikaže klinička farmakokinetika MTX sa fokusom na primenu leka u pedijatrijskoj populaciji pacijenata sa ALL i NHL.

## Mehanizam delovanja metotreksata

Folati imaju značajnu ulogu u sintezi nukleotida deoksiribonukleinske kiseline (DNK) i nekih amino kiselina. MTX je kompetitivni inhibitor enzima koji učestvuju u folatnom ciklusu, pre svega dihidrofolatreduktaze (DHFR). Ovaj enzim redukuje dihidrofolat do tetrahidrofolata (THF), koji je važan u proizvodnji biološki aktivnog folatnog kofaktora, kao što je 5-metil THF neophodnog u sintezi metionina, purina i timidin trifosfata. Dakle, MTX dovodi do smanjenja količine THF, blokiranja sinteze nukleinskih baza i posledično do ćelijske smrti (3). Uzimajući u obzir da je količina DHFR veća od one koja je neophodna ćeliji, potrebno je da se blokira 95% aktivnosti da bi se dovoljno smanjila količina THF (9). Tako su neke studije pokazale da povećana ekspresija DHFR može dovesti do rezistencije na MTX (10). Pored inhibicije DHFR, MTX i njegov poliglutamanski oblik su inhibitori timidilat sintetaze, koji prevodi deoksiuridinmonofosfat u deoksitimidilatmonofosfat, te i na ovaj način blokiraju sintezu

DNK (10,11). Štaviše, MTX inhibira i enzime fosforibozilglicinamid formiltransferazu (*phosphoribosylglycinamide formyltransferase*, GART) i 5-aminoimidazol-4-karboxamid ribonukleotid transformilazu (*5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase*, AICART) koji zajedno učestvuju u *de novo* sintezi purina (11).

Dakle, osnovni efekat je indukcija apoptoze u ćelijama koje se brzo dele, prevashodno delujući u S-fazi ćelijskog ciklusa, utičući na lanac DNK. Osim toga, MTX utiče i na sintezu proteina, jer su redukovani folati potrebni kao kofaktori za konverziju glicina u serin i homocisteina u metionin što direktno ili indirektno može uticati na citotoksičnost (11). Pokazano je da je citotoksičnost MTX u vezi sa koncentracijom kao i dužinom izloženosti leku (9). Određeni rezultati upućuju na bolju korelaciju citotoksičnosti sa dužinom izloženosti leku, nego sa maksimalnom koncentracijom u serumu (11).

### **Intracelularna dispozicija metotreksata**

Primarno mesto delovanja MTX je u limfocitima, pa je važan aspekt razmatranja dispozicija leka u hematopoetskim ćelijama. Glavni put ulaska u ćeliju je pomoću transmembranskog transportnog sistema (*Reduced Folate Carrier*, RFC1). Ovaj transportni sistem za anjone unosi redukovane folatne kofaktore i tako održava njihovu koncentraciju u ćeliji potrebnu za sintezu DNK baza. Rasprostranjen je ubikvitarno u tkivima i tumorima, sa visokim nivoima u hematopoetskim ćelijama. Drugi mehanizam ulaska u ćelije je preko folatnog receptora, iako ima manji afinitet. Nakon ulaska u ćeliju dolazi do modifikacije MTX. Enzim folipoliglutamat sintetaza u citozolu i mitohondrijama je odgovoran za dodavanja glutaminske kiseline na  $\gamma$ -karboksil grupu MTX (3,11). Količina poliglutamizovanog MTX u ćeliji je u vezi i sa aktivnošću  $\gamma$ -glutamil hidrolaze, koji razlaže poliglutamate i olakšava efluks iz ćelije. Podaci pokazuju da ćelija mora da bude izložena leku 12-24 h u koncentraciji većoj od 2  $\mu\text{mol/L}$  pre nego dođe do značajne poliglutamacije, što se i očekuje kod HDMTX. Proces poliglutamacije se javlja u normalnim ćelijama, ali je značajno intenzivniji u tumorskim ćelijama (11). U efluksu leka iz ćelije su dominantno uključeni transporteri organskih anjona (*Multi Drug Resistance-associated Proteins*, MRPs), protein rezistencije karcinoma dojke (*Breast cancer resistance protein*, BCRP) i P-glikoprotein (P-gp) (3). Ipak, poliglutamacija štiti molekule MTX od efluksa iz ćelije i dodatno čuva koncentracioni gradijent za pasivan ulazak u ćeliju. Pored toga, poliglutamacija sprečava stvaranje manje aktivnog metabolita MTX, 7-hidroksi-MTX (7-OH-MTX) (11).

### **Farmakokinetičke karakteristike metotreksata**

**Resorpcija** - MTX se može primenjivati različitim putevima, što određuje biološku raspoloživost. Pri ispitivanju kod 12 pedijatrijskih pacijenta sa ALL nakon oralne primene

leka, resorpcija je bila nepotpuna, dozno zavisna i varijabilna sa srednjom vrednošću apsolutne biološke raspoloživosti od 33% (opseg 13-76%). Pri tome je veća vrednost primećena pri primeni nižih doza. Tako su oralno primenjene doze manje od 40 mg/m<sup>2</sup> imale bolju biološku raspoloživost (medijana 42%, opseg 19-76%) u odnosu na doze veće od 40 mg/m<sup>2</sup> (medijana 17,5%, opseg 12,7-22,3%). Biološka raspoloživost nakon intramuskularne primene je veća nego nakon oralne primene (srednja vrednost 76%, opseg 54-112%) (12). Kozloski i saradnici su pokazali da primena hrane ne utiče na stepen biološke raspoloživosti oralno primenjenih niskih doza MTX (13). U studiji koja je uključivala pedijatrijske pacijente sa ALL potpuna resorpcija je zabeležena nakon subkutane primene 40 mg/m<sup>2</sup> prilikom poređenja sa intravenskom primenom (14).

**Raspodela** – MTX se vezuje za proteine plazme u umerenom stepenu, oko 45-51%, raspodeljuje se u tkiva i ćelije gde podleže intarcelularnom metabolizmu (15,16). Posebno se raspodeljuje u bubreg, jetru i slezinu, gde se u obliku poliglutamata može zadržati nekoliko nedelja, pa čak i meseci (17). Poznato je da se MTX distribuira u eritrocite (16,18) i zbog relativno dugog biološkog poluvremena MTX u eritrocitima (19-79 dana), oni predstavljaju prostor u kome se lek dugo zadržava (18,19). Pojedini rezultati ukazuju da tumorska tkiva preuzimaju MTX u većem stepenu nego okolna tkiva (20). Prelaz u cerebrospinalnu tečnost nakon primene HDMTX je varijabilan, ali uglavnom koncentracija iznosi oko 1-3% serumske koncentracije. Koncentracija od 1 µmol/L je predložena kao minimalna efektivna citotoksična koncentracija. Csordas i saradnici su pokazali da odnos koncentracija u cerebrospinalnoj tečnosti i serumu nije zavisio od primenjenih doza od 2 i 5 g/m<sup>2</sup> (21). Slično, Borsi i saradnici nisu uočili statistički značajnu razliku pri primeni doza od 3, 4 i 6 g/m<sup>2</sup>. Međutim, pri primeni još većih doza uočeno je da se ovaj odnos smanjuje, što sugerise da pasivan transport ima ograničenu ulogu u prelasku leka u CNS u odnosu na aktivan transport ograničenog kapaciteta (22).

Sa farmakokinetičkog gledišta, pleuralne i peritonealne efuzije kod uznapredovalog kancera, mogu modifikovati dispoziciju lekova, i tretiraju se kao treći prostor. Tako je usled malignih izliva (maligne efuzije) opisana izmenjena dispozicija MTX (23,24). Zadržavanje leka u trećim prostorima može da služi kao rezervoar leka i da dovodi do produžene izloženosti i posledično povećanog rizika od toksičnosti leka. Zapremina trećih prostora, vezivanje MTX za proteine u tim prostorima, i brzina transporta su pokazani kao ključne kovarijate koje utiču na farmakokinetičke parametre leka. Tako se može očekivati povećan volumen distribucije (Vd) leka i produženje terminalnog poluvremena eliminacije (23).

**Eliminacija** - Nakon primene MTX izolovana su tri metabolita 4-amino-4-deoksi-N-10-metil-pteroična kiselina (DAMPA), 7-OH-MTX i MTX poliglutamati. DAMPA se formira uz pomoć intestinalnih bakterija tokom enterohepatične cirkulacije. Ima 1/200 aktivnosti leka kao inhibitor DHFR pa je biološki značaj ovog metabolita minimalan (19). Nakon primene HDMTX pod uticajem enzima iz jetre, aldehid oksidaze, nastaje 7-OH-

MTX. Ovaj metabolit je 4 puta manje rastvorljiv od nepromenjenog leka u humanom urinu, što može biti u vezi sa nefrotoksičnošću nakon primene visokih doza (2). Takođe, manje je efikasan kao inhibitor enzima u odnosu na polazno jedinjenje, ali može kompetitivno da se takmiči za ulazak u ćeliju i proces poliglumatacije sa MTX (19,25). Stvaranje poliglutamata je značajna determinanta farmakološke aktivnosti (3,19).

MTX se iz organizma najvećim delom eliminiše nepromenjen preko bubrega i mehanizam može uključivati pasivnu glomerularnu filtraciju i aktivan transport (25,26). Stoga se produžena eliminacija može očekivati kod pacijenata sa oslabljenom funkcijom bubrega. Bilijarna ekskrecija je značajno manje zastupljen put izlučivanja, a opisano je i enterohepatičko kruženje leka (25).

Eliminacija MTX u pedijatrijskoj populaciji pacijenata je široko ispitivana, i zabeleženi su različiti rezultati pri proceni uticaja godina na vrednosti klirensa (CL). U klasičnoj farmakokinetičkoj studiji je dobijena vrednost CL od 10,7 L/h/m<sup>2</sup> kod odojčadi i 6,6 L/h/m<sup>2</sup> u adolescentnom dobu što se moglo uporediti sa vrednostima kod odraslih pacijenata (25,27). U drugoj studiji je starija odojčad (7-12 meseci) imala statistički značajno veći CL MTX po m<sup>2</sup> površine tela (p=0,026) u poređenju sa mlađom odojčadi (0-3 meseci), što je bio razlog češće pojave renalne toksičnosti u fazi indukcije/intenzifikacije terapije kod mlađih pacijenata (28).

Značajni su rezultati novije metodologije bazirane na populacionoj farmakokinetičkoj analizi. U studiji u pedijatrijskim pacijentima sa ALL (2,9-12,9 meseci) zabeležena je vrednost CL od 11,0 L/h/70kg, skalirana na standardnu telesnu masu od 70 kg, omogućavajući autorima da uporede rezultat sa odraslim ispitanicima i ukažu na moguću sličnost (29). Prema rezultatima analize na pacijentima sa širim opsegom godina (1-18), tipična vrednost CL je bila 6,68 L/h/m<sup>2</sup> (30). Sa druge strane, Wright i saradnici su u populacionoj analizi na pedijatrijskim pacijentima sa tumorima centralnog nervnog sistema (0,02- 3,5 godina) opisali povećanje CL sa godinama (31).

### **Terapijsko praćenje metotreksata**

Poseban izazov u terapiji dece sa onkološkim oboljenjima je određivanje optimalne doze citostatika. Deca, posebno u najranijoj životnoj dobi, imaju promenjive farmakokinetičke parametre usled razvijanja funkcije bubrega, jetre, različite koncentracije proteina, te je izazov odrediti optimalnu dozu. Najčešće se u pedijatrijskoj onkologiji pristupa doziranju na osnovu telesne površine (32).

Značajna inter- i intra-individualna varijabilnost u farmakokinetici MTX je osnova za terapijsko praćenje leka (*Therapeutic Drug Monitoring*, TDM) kod dece, pre svega sa bezbednosnog aspekta. TDM ima veliki značaj u identifikovanju pacijenata sa usporenom eliminacijom MTX kod kojih je povećan rizik od toksičnosti nakon primene HDMTX i za optimizaciju primene leukovorina (16,32). Prema protokolu ALL IC-BFM 2009 referentne vrednosti koncentracije MTX su 150 µmol/L u 24. h, 3 µmol/L u 36. h, 1

$\mu\text{mol/L}$  u 42. h i  $0,4 \mu\text{mol/L}$  u 48. h. Prema istom protokolu se primenjuje  $15 \text{ mg/m}^2$  „antidota“ leukovorina nakon 42 h, 48 h i 54 h od početka infuzije MTX, dok se u slučaju koncentracije MTX veće od  $5 \mu\text{mol/L}$  u 42. h ili kasnije, doza leukovorina (mg) određuje množenjem koncentracije MTX ( $\mu\text{mol/L}$ ) i telesne mase pacijenta (kg) (33). Izazov prilikom primene leukovorina predstavlja definisanje optimalnog režima doziranja kako bi se održao balans između terapijskog, citotoksičnog, delovanja i sprečavanja toksičnosti MTX.

TDM je neophodan u svakodnevnoj kliničkoj praksi prilikom primene MTX u dozama većim od  $2 \text{ g/m}^2$  u cilju optimizacije terapije, i u kombinaciji sa populacionim farmakokinetičkim modelima može se staviti u funkciju individualnog pristupa terapiji uzimanjem u obzir karakteristika pacijenta i zahteva protokola za monitoring leka (16). Kako brojni faktori mogu uticati na farmakokinetiku MTX potrebno ih je uzeti u obzir prilikom interpretacije koncentracija. Usporena eliminacija leka kod dece može pre svega biti u vezi sa funkcijom bubrega. Grupa švedskih istraživača je izdvojila serumski kreatinin kao kovarijatu koja može da predvidi usporenu eliminaciju MTX, na osnovu studije sprovedene na 264 dece sa ALL (34). Slične rezultate su dobili i u studiji sprovedenoj na 105 dece sa ALL i NHL gde je kao prediktor usporene eliminacije MTX izdvojen klirens kreatinina (ClCr)  $<100 \text{ mL/min}$ , računat pomoću koncentracije kreatinina u 24 h urinu i koncentraciji kreatinina u krvi, odnosno koncentracija kreatinina u serumu  $> 36 \text{ mmol/L}$  24 h od početka primene HDMTX (5). Međutim, u prisustvu većeg broja faktora istovremeno, najkorisniji su rezultati populacionih farmakokinetičkih studija. Tako je u populaciji pacijenata sa širokim rasponom godina (8,53-83,59) ispitivan veliki broj kovarijata primenom populacione analize. Kvantitativno je opisan uticaj serumskog kreatinina i površine tela na CL, dok su godine identifikovane kao značajna determinanta volumena centralnog prostora ( $V_c$ ) (16). U ovoj studiji nije zabeležen značajan efekat hemoglobina i hematokrita, iako je prethodno opisan uticaj hematokrita na CL MTX kod odraslih pacijenata (14-66 godina). Pored navedenog, u prethodnim studijama su razmatrani i pol, enzimi jetre, ali i spoljašnji faktori kao interakcije lekova (16). Što se tiče populacionih studija u pedijatrijskoj populaciji, opisan je uticaj pre svega serumskog kreatinina na CL (1-18 godina sa ALL) (30), zatim telesne mase na farmakokinetičke parametre (29,35), ali i godina na vrednost CL (31). Ipak, ograničen broj populacionih studija na deci koji opisuju uticaj svih relevantnih faktora varijabilnosti i često mali broj ispitanika, nameće potrebu za daljim istraživanjima, radi bolje optimizacije terapije MTX i procene doze leukovorina kod individualnog pacijenta.

### **Farmakokinetičke interakcije sa drugim lekovima**

Mehanizam interakcija MTX sa drugim lekovima je uglavnom preko transportera koji učestvuju u njegovoj renalnoj i hepatičkoj eliminaciji. Malo je verovatno da promene u vezivanju za proteine plazme imaju klinički značaj s obzirom na to da se MTX ne vezuje

u visokom procentu i da ima nizak hepatski ekstrakcioni odnos. Uglavnom su zabeležene interakcije sa nesteroidnim antiinflamatornim lekovima (NSAIL), antimikrobnim lekovima i inhibitorima protonske pumpe (Tabela I) (26). Tokom kliničke prakse uočeno je da organske kiseline kao što su probenecid, sulfometoksazol/trimetoprim mogu da stupaju u interakcije sa MTX. Sam mehanizam interakcije nije potvrđen, ali može da bude u vezi sa istiskivanjem MTX sa vezivnih mesta na proteinima plazme kao i kompetitivnim delovanjem na nivou tubularne sekrecije. NSAIL mogu da redukuju tubularnu sekreciju MTX što rezultuje odloženom eliminacijom. Mehanizam interakcije se povezuje sa inhibicijom transportera organskih anjonskih transportera (OAT1 i OAT3) na bazolateralnoj membrani proksimalnog tubula (26,34), dok *in vitro* studije ukazuju na uticaj i na MRP2 i MRP4 na apikalnoj membrani. Za različite antimikrobne lekove je pronađeno da usporavaju eliminaciju MTX, iako su dokazi ograničeni. Penicilin G verovatno utiče na nivou renalnih transportera, dok mehanizam interakcije sa ciprofloksacinom nije još uvek razjašnjen (26).

U literaturi su opisani slučajevi interakcije između inhibitora protonske pumpe (IPP) i MTX (26,36). Usporena eliminacija MTX zabeležena je kod istovremene primene sa omeprazolom, esomeprazolom, pantoprazolom, lansoprazolom i rabeprazolom (37). Multiplom logističkom regresionom analizom je identifikovana primena IPP kao faktor rizika odložene eliminacije MTX. Jedan od mehanizama ove interakcije je na nivou BCRP, ali se smatra da nije jedini (26,38).

**Tabela I** Spisak lekova koji pri istovremenoj primeni nose rizik od potencijalnih interakcija (17,43)

**Table I** List of medicinal products that in case of concomitant use carry risk of potential interactions (17, 43)

Naziv leka	Efekat na metotreksat (MTX)	Kategorija interakcija prema Lexicomp bazi
Ciprofloksacin	Povećan rizik od toksičnosti (verovatno usled smanjenja izlučivanja MTX)	C
NSAIL	Povećanje nivoa MTX u serumu i produžena izloženost leku (verovatno usled smanjenja tubularne sekrecije)	D
Probenecid	Smanjenje tubularnog transporta	D
Penicilini	Smanjenje klirensa; hematološka i gastrointestinalna toksičnost	C
Furosemid	Povećanje nivoa MTX usled interakcije na nivou tubularne sekrecije	D
Inhibitori protonске pumpe	Podaci iz literature pokazuju da istovremena primena IPP i MTX (posebno visokih doza) mogu dovesti do produžene izloženosti i povećanih koncentracija MTX	C

NSAIL - nesteroidini antiinflamatorni lekovi;

Objašnjenje interakcija prema Lexicomp bazi:

C- praćenje terapije;

D- razmotriti modifikaciju terapije.

### Toksičnost primene visokih doza metotreksata

Generalno, neželjena dejstva tokom primene HDMTX uključuju reverzibilnu mijelosupresiju, mukozitis, hepatotoksičnost, slabljenje funkcije bubrega, kao i prolaznu, ali i trajnu neurotoksičnost. Svi efekti, osim toksičnosti na nivou bubrega, mogu u većoj ili manjoj meri biti sprečeni primenom leukovorina, a da ne deluje na maligne ćelije koje slabije reaguju na leukovorin zbog visokog kapaciteta za stvaranje MTX poliglutamata i nižeg kapaciteta za akumulaciju folata od zdravih ćelija (39). Prilikom određivanja adekvatne doze i učestalosti primene leukovorina treba uzeti u obzir osim doze MTX, i dužinu infuzije, vreme od početka primene infuzije, a bitno je imati u vidu i primenu drugih lekova koji mogu uticati na funkciju bubrega ili na nivo MTX u serumu (40).

Izloženost milimolarnim koncentracijama MTX tokom minuta ili sata dovodi do akutne bubrežne insuficijencije, CNS toksičnosti, toksičnosti jetre, dok koncentracije 0,05-0,1  $\mu\text{mol/L}$  u periodu dužem od 24-48 h vode ka gastrointestinalnoj i hematološkoj



toksičnosti. Infuzija od 1 g/m<sup>2</sup> tokom 24 h sa samo dve doze leukovorina daje značajno niže maksimalne koncentracije MTX (7,2 μmol/L) u odnosu na infuziju od 12 g/m<sup>2</sup> tokom 4 h (700 μmol/L). Ipak, primena infuzije od 1 g/m<sup>2</sup> tokom 24 h dovela je do duže izloženosti serumskoj koncentraciji većoj od 1 μmol/L i veće toksičnosti, ali nije uočena značajna razlika u ukupnoj stopi preživljavanja i preživljavanju bez znakova bolesti (*event free survival*) kod ALL (37).

Normalni nivoi kreatinina u serumu kao i glomerularna filtracija od 60 mL/min su prihvaćeni kao parametri bubrežne funkcije koji omogućavaju adekvatnu eliminaciju nakon primene HDMTX. Osim toga, pokazano je da kod dece koja primaju HDMTX adekvatan protok urina treba da bude 0,1-1,8 mL/m<sup>2</sup>/min i pH urina 7, što je bitno zbog poboljšanja rastvorljivosti 7-OH-MTX (7). Mikkelsen i saradnici nisu uspeali da pokažu vezu između dužine prehidratacije pacijenata (4 h i 12 h hidratacija pre primene MTX) i smanjenja renalne toksičnosti MTX ni kod pacijenata koji su primenjivali dozu od 5 g/m<sup>2</sup> niti u grupi koja je primenjivala 8 g/m<sup>2</sup> (41). Akutna bubrežna insuficijencija se može javiti usled precipitacije kristala MTX u bubrezima nakon primene HDMTX. Iako nema proverenog metoda za prepoznavanje pacijenata kod kojih se može javiti nefrotoksičnost, može se obratiti pažnja na rani skok serumskog kreatinina, kao potencijalnog pokazatelja postojanja problema na nivou bubrega. Povećanje veće od 50% u toku 24 h od početka infuzije MTX (5-8 g/m<sup>2</sup>) ima osetljivost 0,32 i specifičnost 99% da predvidi produženu eliminaciju MTX (39).

Rizik za razvoj akutne neurotoksičnosti tokom terapije leukemije HDMTX je 3-5%. Mehanizam nastanka neurotoksičnosti nije sa sigurnošću utvrđen, ali se pretpostavlja da ima veze sa povećanjem nivoa homocisteina u plazmi i cerebrospinalnoj tečnosti, toksične aminokiseline koja generiše stvaranje reaktivnih oblika kiseonika, lipidnu peroksidaciju, oslobađanje adenozina i oštećenje nervnih i endotelih ćelija (39,42). Iako postoje oprečni podaci o efikasnosti leukovorina u sprečavanju neurotoksičnosti, rezultati primene protokola ACCLO131 za ALL pokazuju da deca koja su primenjivala manju dozu leukovorina su imala učestalije neurokognitivne kasne efekte (82%) od dece koja su primenjivala veću dozu (27%) (40).

### **Zaključak**

Primena HDMTX u protokolima za lečenje malignih oboljenja u pedijatrijskoj populaciji je donela značajno poboljšanje ishoda lečenja, uključujući pacijente sa ALL i NHL. Međutim, imajući u vidu varijabilnost i toksičnost pri primeni HDMTX poseban oprez je potreban u pedijatrijskoj populaciji. U ovom radu su razmotrene osnovne karakteristike terapije MTX, pre svega sa farmakokinetičkog aspekta i varijabilnosti, koja zahteva pažljivo praćenje kako bi se izbegle komplikacije i pojava akutne ili odložene toksičnosti. Populacione farmakokinetičke studije, koje opisuju istovremeno uticaj svih relevantnih faktora varijabilnosti, omogućavaju individualizaciju terapije i optimizaciju

primene leukovorina. Upravo individualizacija i optimizacija terapije je u fokusu novijih istraživanja u oblasti MTX, jer akutna i odložena toksičnost predstavljaju značajan izazov u kliničkoj praksi.

## Zahvalnica

Rad je urađen u okviru nacionalnog projekta (br. 175023) finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

1. Rahman LKA, Chhabra SR. The chemistry of methotrexate and its analogues. *Med Res Rev.* 1988;8(1):95–155.
2. Bleyer WA. The clinical pharmacology of methotrexate: new applications of an old drug. *Cancer.* 1978;41(1):36–51.
3. Adam de Beaumais T, Jacqz-Aigrain E. Intracellular Disposition of Methotrexate in Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *Curr Drug Metab.* 2012;13(6):822–34.
4. Ylinen E, Jahnukainen K, Saarinen-Pihkala UM, Jahnukainen T. Assessment of renal function during high-dose methotrexate treatment in children with acute lymphoblastic leukemia: Effect of HD-Methotrexate on Renal Function. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(12):2199–202.
5. Mao J, Zhang L, Shen H, Tang Y, Song H, Zhao F, et al. Creatinine clearance rate and serum creatinine concentration are related to delayed methotrexate elimination in children with lymphoblastic malignancies. *Neoplasma.* 2014;61(01):77–82.
6. Sažetak karakteristika leka, Leucovorin® Kalcijum 50 mg/5 mL rastvor za injekciju, datum revizije teksta- Novembar 2013. Dostupno na: <https://www.alims.gov.rs/wp-content/blogs.dir/2/files/lekovi/smpc/515-01-05623-13-001.pdf> Pristupljeno: Oktobar 2019.
7. Treon P, Chabner BA. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy. *Clin Chem.* 1996;42 (8 (2)):1322-9.
8. Skarby Tvc, Anderson H, Heldrup J, Kanerva J, Seidel H, Schmiegelow K. High leucovorin doses during high-dose methotrexate treatment may reduce the cure rate in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2006;20(11):1955-62.
9. Moore MJ, Erlichman C. Therapeutic drug monitoring in oncology. Problems and potential in antineoplastic therapy. *Clin Pharmacokinet.* 1987;13(4):205-27.

10. Kodidela S, Suresh Chandra P, Dubashi B. Pharmacogenetics of methotrexate in acute lymphoblastic leukaemia: why still at the bench level? *Eur J Clin Pharmacol.* 2014;70(3):253–60.
11. Green MR, Chowdhary S, Lombardi KM, Chalmers LM, Chamberlain M. Clinical utility and pharmacology of high-dose methotrexate in the treatment of primary CNS lymphoma. *Expert Rev Neurother.* 2006;6(5):635–52.
12. Teresi ME, Crom WR, Choi KE, Mirro J, Evans WE. Methotrexate bioavailability after oral and intramuscular administration in children. *J Pediatr.* 1987;110(5):788–92.
13. Kozloski GD, De Vito JM, Kisicki JC, Johnson JB. The effect of food on the absorption of methotrexate sodium tablets in healthy volunteers. *Arthritis Rheum.* 1992;35(7):761–4.
14. Balis FM, Mirro J, Reaman GH, Evans WE, McCully C, Doherty KM, et al. Pharmacokinetics of subcutaneous methotrexate. *J Clin Oncol.* 1988;6(12):1882–6.
15. Shen DD, Azarnoff DL. Clinical Pharmacokinetics of Methotrexate1: *Clin Pharmacokinet.* 1978;3(1):1–13.
16. Mei S, Li X, Jiang X, Yu K, Lin S, Zhao Z. Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate in Patients With Primary Central Nervous System Lymphoma. *J Pharm Sci.* 2018;107(5):1454–60.
17. Sažetak karakteristika leka, metotreksat, 100 mg/mL, koncentrat za rastvor za infuziju. (engl. *Methotrexate 100 mg/ml concentrate for solution for infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC)*) - (emc) [internet]. [pristupljeno 30. oktobar 2019.]. Dostupno na: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/6845/smpc#INTERACTIONS>
18. Schröder H, Fogh K, Herlin T. In vivo decline of methotrexate and methotrexate polyglutamates in age-fractionated erythrocytes. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1988; 21:150-5.
19. Borsi JD, Sagen E, Ing C, Romslo I, Moe PJ. Pharmacokinetics and Metabolism of Methotrexate: An Example for the Use of Clinical Pharmacology in Pediatric Oncology. *Pediatr Hematol Oncol.* 1990;7(1):13–33.
20. Wang Y-M, Fujimoto T. Clinical Pharmacokinetics of Methotrexate in Children: *Clin Pharmacokinet.* 1984;9(4):335–48.
21. Csordas K, Hegyi M, Eipel OT, Muller J, Erdelyi DJ, Kovacs GT. Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia: *Anticancer Drugs.* 2013;24(2):189–97.
22. Borsi JD, Moe PJ. A comparative study on the pharmacokinetics of methotrexate in a dose range of 0.5 g to 33.6 g/m<sup>2</sup> in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 1987;60(1):5–13.
23. Li J, Gwilt P. The effect of malignant effusions on methotrexate disposition. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2002;50(5):373–82.
24. Levêque D, Becker G, Toussaint E, Fornecker L-M, Paillard C. Clinical pharmacokinetics of methotrexate in oncology. *Int J Pharmacokinet.* 2017;2(2):137–47.
25. Evans WE, Crom WR, Sinkule JA, Yee GC, Stewart CF, Hutson PR. Pharmacokinetics of Anticancer Drugs in Children. *Drug Metab Rev.* 1983;14 (5): 847-86.
26. Levêque D, Santucci R, Gourieux B, Herbrecht R. Pharmacokinetic drug–drug interactions with methotrexate in oncology. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2011; 4(6):743–50.

27. Donelli MG, Zucchetti M, Robatto L, Perlangeli V, D'Incalci M, Masera G, et al. Pharmacokinetics of HD-MTX in infants, children, and adolescents with non-B acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol.* 1995;24(3):154–9.
28. Thompson PA, Murry DJ, Rosner GL, Lunagomez S, Blaney SM, Berg SL, et al. Methotrexate pharmacokinetics in infants with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2007;59(6):847–53.
29. Beechinor RJ, Thompson PA, Hwang MF, Vargo RC, Bomgaars LR, Gerhart JG, et al. The Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate in Infants with Acute Lymphoblastic Leukemia Highlight the Need for Bedside Individualized Dose Adjustment: A Report from the Children's Oncology Group. *Clin Pharmacokinet.* 2019;58(7):899–910.
30. Rühls H, Becker A, Drescher A, Panetta JC, Pui C-H, Relling MV, et al. Population PK/PD Model of Homocysteine Concentrations after High-Dose Methotrexate Treatment in Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. *PLoS ONE.* 2012;7(9):e46015.
31. Wright KD, Panetta JC, Onar-Thomas A, Reddick WE, Patay Z, Qaddoumi I, et al. Delayed methotrexate excretion in infants and young children with primary central nervous system tumors and postoperative fluid collections. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;75(1):27–35.
32. Paci A, Veal G, Bardin C, Levêque D, Widmer N, Beijnen J, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part 1 – Cytotoxics. *Eur J Cancer.* 2014;50(12):2010–9.
33. Protokol kliničkog ispitivanja, ALL IC-BFM-2009. Dostupno na: [http://www.bialaczka.org/wp-content/uploads/2016/10/ALLIC\\_BFM\\_2009.pdf](http://www.bialaczka.org/wp-content/uploads/2016/10/ALLIC_BFM_2009.pdf). Pristupljeno avgusta 2019.
34. Skarby T, Jonsson P, Hjorth L, Behrentz M, Bjork O, Forestier E, et al. High-dose methotrexate: on relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer Chemother Pharmacol.* 2003;51(4): 311-20.
35. Jönsson P, Skärby T, Heldrup J, Schröder H, Höglund P. High dose methotrexate treatment in children with acute lymphoblastic leukaemia may be optimised by a weight-based dose calculation. *Pediatr Blood Cancer.* 2011;57(1):41–6.
36. Bezabeh S, Mackey AC, Kluetz P, Jappar D, Korvick J. Accumulating Evidence for a Drug-Drug Interaction Between Methotrexate and Proton Pump Inhibitors. *The Oncologist.* 2012;17(4):550–4.
37. von Stackelberg A, Hartmann R, Bühner C, Fengler R, Janka-Schaub G, Reiter A, et al. High-dose compared with intermediate-dose methotrexate in children with a first relapse of acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2008;111(5):2573–80.
38. Suzuki K, Doki K, Homma M, Tamaki H, Hori S, Ohtani H, et al. Co-administration of proton pump inhibitors delays elimination of plasma methotrexate in high-dose methotrexate therapy. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;67(1):44–9.
39. Schmiegelow K. Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: a review. *Br J Haematol.* 2009;146(5):489–503.
40. Cohen IJ. Neurotoxicity after high-dose methotrexate (MTX) is adequately explained by insufficient folinic acid rescue. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2017;79(6):1057–65.

41. Mikkelsen TS, Mamoudou AD, Tuckuviene R, Wehner PS, Schroeder H. Extended duration of prehydration does not prevent nephrotoxicity or delayed drug elimination in high-dose methotrexate infusions: A prospectively randomized cross-over study: Prehydration for High-Dose Methotrexate. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(2):297–301.
42. Vezmar S, Becker A, Bode U, Jaehde U. Biochemical and Clinical Aspects of Methotrexate Neurotoxicity. *Chemotherapy*. 2003;49(1–2):92–104.
43. Lexicomp: Interakcije (eng. *Interactions*) [internet]. [pristupljeno 02. decembra 2019.]. Dostupno na: <https://online.lexi.com/lco/action/interact>

# **Clinical pharmacokinetics of methotrexate in the treatment of acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients**

**Biljana Škorić<sup>1\*</sup>, Marija Jovanović<sup>1</sup>, Branislava Miljković<sup>1</sup>,  
Miloš Kuzmanović<sup>2,3</sup>, Katarina Vučićević<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacokinetics and Clinical Pharmacy, Vojvode Stepe 450, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup>University of Belgrade - School of Medicine, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>Institute for Health Care of Mother and Child of Serbia „Dr Vukan Cupic”, Radoja Dakica 6-8, Belgrade, Serbia

\*Corresponding author: Biljana Škorić; e-mail: biljana.skoric@ymail.com

---

## **Summary**

High dose methotrexate (MTX) is used in therapy of acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients. It acts as competitive inhibitor of dihydrofolate reductase and consequently inhibits synthesis of deoxyribonucleic acid. The bioavailability is dependent upon dose and route of administration. The drug is moderately bound to plasma proteins and distributes in body tissues and cells. After the administration in high doses, MTX partially undergoes hepatic and intracellular metabolism, but renal excretion of parent compound is the main route of elimination. Numerous factors may influence pharmacokinetics and concentration of drug, but primarily the effect of renal function on elimination is described. Delayed elimination might also be the consequence of drug interaction in renal tubules. Toxicity can arise with high MTX doses, especially in patients with delayed MTX elimination. Therapeutic drug monitoring is indicated due to safety reasons, in order to optimize leucovorin (folinic acid) administration as it reduces MTX toxicity. Considering the variability and the toxicity of high dose MTX therapy, special caution is required in pediatric patients.

**Keywords:** methotrexate, pharmacokinetics parameters, pediatric population, drug interactions, toxicity

---