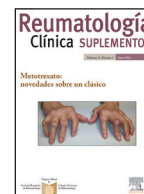




Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Metotrexato: novedades sobre un clásico

Farmacogenética del metotrexato

Patricia Moya^a, Héctor Corominas^{b,*}, Juliana Salazar^c y Montserrat Baiget^c

^aUnitat de Reumatologia, Hospital Universitari de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

^bServei de Reumatologia, Hospital Moisès Broggi, Sant Joan Despí/Hospital General de L'Hospitalet, Barcelona, España

^cServei de Genètica, Hospital Universitari de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

RESUMEN

Palabras clave:

Metotrexato
Farmacogenética
Artritis reumatoide
Metilentetrahidrofolato reductasa
Dihidrofolato reductasa
5-aminoimidazol-4-carboxamida
ribonucleotidofornil transferasa
Timidilato sintetasa
Transportador de folato reducido de proteína 1
ATP-binding cassette B1
Folipoliglutamato sintetasa
Gammaglutamil hidrolasa

El metotrexato es el fármaco de elección en primera línea de tratamiento para pacientes con artritis reumatoide. En las últimas décadas ha habido un gran interés para identificar marcadores farmacogenéticos que puedan predecir con exactitud y fiabilidad la eficacia y toxicidad del metotrexato. Diferentes estudios han sugerido que los genes que participan en la vía metabólica del ácido fólico (*MTHFR*, *DHFR*, *ATIC* y *TS*) y el transporte intra y extracelular del metotrexato (*RFC1/SLC19A1*, *ABCB1*, *FPGS* y *GGH*) pueden tener un potencial predictor de respuesta y toxicidad en el uso de metotrexato.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Pharmacogenetics of methotrexate

ABSTRACT

Keywords:

Methotrexate
Pharmacogenetics
Rheumatoid arthritis
Methylene tetrahydrofolate reductase
Dihydrofolate reductase
5-aminoimidazole-4-carboxamide
ribonucleotide formyltransferase
Thymidylate synthetase
Reduced folate carrier protein 1
ATP-binding cassette B1
Polypoly-glutamate synthetase
Gamma-glutamyl hydrolase

Methotrexate is the drug of choice in the first-line treatment of patients with rheumatoid arthritis. In the last few decades, there has been strong interest in identifying pharmacogenetic markers that could accurately and reliably predict the effectiveness and toxicity of methotrexate. Several studies have suggested that the genes involved in the metabolic pathway of folic acid (*MTHFR*, *DHFR*, *ATIC* and *TS*) and the intra- and extracellular methotrexate transport (*RFC1/SLC19A1*, *ABCB1*, *FPGS* and *GGH*) could play a role in predicting response to methotrexate, as well the toxicity of the drug.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El metotrexato (MTX) es el fármaco de elección en primera línea de tratamiento para pacientes con artritis crónicas. En las últimas décadas ha habido un gran interés para identificar marcadores biológicos que puedan predecir con exactitud y fiabilidad la eficacia y toxicidad del MTX. De manera global, se ha sugerido que los metaboli-

tos del MTX (poliglutamato de MTX [MTX PG]) y los polimorfismos (SNP, polimorfismos de un único nucleótido —del inglés, *single nucleotide polymorphism*—) en los genes que codifican enzimas y proteínas transportadoras en la vía metabólica del folato pueden tener un potencial predictor de respuesta y toxicidad en el uso de MTX¹⁻⁵.

El rol del metotrexato

El mecanismo de acción del MTX es complejo y no se conoce con exactitud, aunque se postulan 4 posibles mecanismos: *a*) inhibición de la síntesis de purinas y pirimidinas; *b*) disminución de la acumu-

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vancor@yahoo.com (H. Corominas).

lación de agentes tóxicos como las poliaminas; c) reducción de la proliferación de células del sistema inmunológico, y d) aumento de los valores extracelulares de adenosina (purina). Es de este último mecanismo del que más evidencias se dispone^{6,7}.

El MTX entra en la célula mediante el transportador de folatos reducidos (RFC1, también llamado SLC19A1) y forma PG que se acumulan dentro de la célula. Una vez dentro, el MTX PG inhibe la síntesis de purinas y pirimidinas al inhibir diferentes enzimas metabólicas de estas vías: la dihidrofolato reductasa (DHFR), la timidilato sintetasa (TS) y la 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido formiltransferasa/IMP (ATIC)⁸ (fig. 1).

Al inhibir DHFR, e indirectamente la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), disminuye la reducción de la dihidrofolato a tetrahidrofolato (THF). THF es un precursor del cofactor 5 metil-THF, que contribuye en la metilación de la homocisteína para su conversión a metionina. La metionina es un intermediario necesario para la síntesis de poliaminas, fundamentales para el crecimiento y la replicación celular^{9,10}. La MTHFR no se inhibe directamente por MTX, pero está influenciada por MTX a través de sus efectos en la cadena de folato intracelular.

MTX PG también inhibe la TS, una enzima esencial en la biosíntesis de pirimidinas, que convierte desoxiuridilato en desoxitimidilato¹¹.

El MTX PG inhibe ATIC causando acumulación intracelular de 5-aminoimidazol 4-carboxamida ribonucleótido (AICAR) y una dis-

minución de 10-formil AICAR (FAICAR). El acúmulo de AICAR aumenta la inhibición de la ADA (adenosín desaminasa), lo que conlleva un aumento de adenosina extracelular, uno de los mecanismos de acción del MTX. Por otro lado, la disminución de FAICAR afecta secundariamente en la vía del ATP, produciendo una disminución en la síntesis de purinas de novo¹⁰.

La retención de MTX dentro de la célula se ve facilitada por la poliglutaminación. Este proceso puede ser revertido por la enzima gamma glutamil hidrolasa (GGH) y facilita el flujo de salida de MTX. La salida de MTX de la célula se produce a través de la familia de transportadores ABC.

Selección de genes candidatos

Los SNP estudiados dentro de cada gen, que participan de forma directa o indirecta en la vía metabólica del MTX y en su transporte celular y activación, se han seleccionado mediante el navegador HapMap y el software Haploview v.4.2. Estos tenían que cumplir 2 criterios: a) presentar un desequilibrio de ligamiento (r2) de 0,8, con el fin de definir los SNP a estudio salvando el genotipado de todas las regiones cromosómicas donde están localizados los genes que hay que estudiar, y b) presentar una frecuencia menor de alelos > 10% en población caucásica, para acotar el estudio a los SNP que son más frecuentes en la población caucásica.

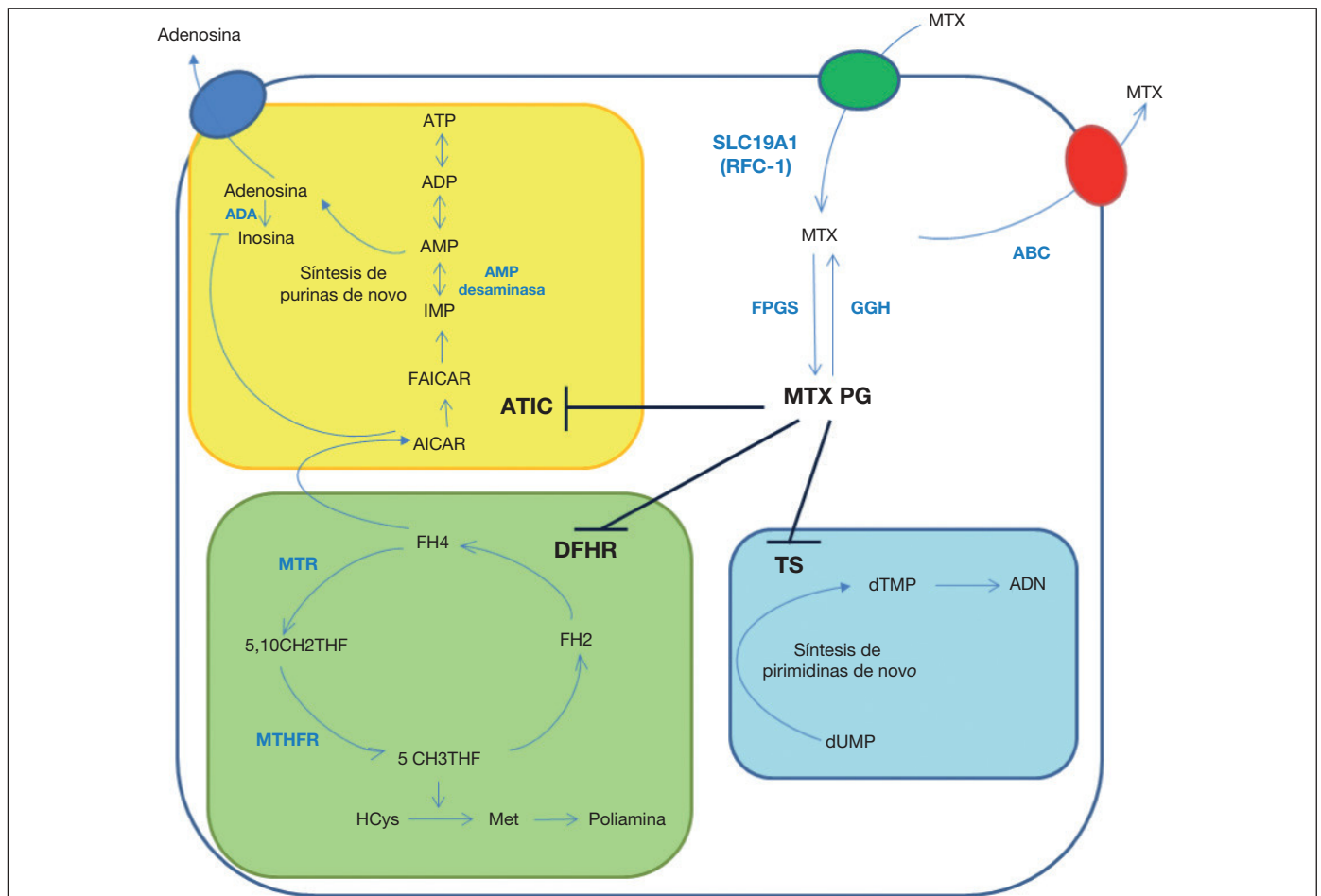


Figura 1. Vía metabólica del metotrexato (MTX). 5 CH3-THF: 5-metil tetrahidrofolato; 5,10 CH2-THF: 5,10-metileno tetrahidrofolato; ABC: ATP-binding cassette; ADA: adenosín desaminasa; AICAR: 5-aminoimidazol 4-carboxamida ribonucleótido; ATIC: AICAR formiltransferasa; DFHR: dihidrofolato reductasa; dTMP: desoxitimidilato; dUMP: desoxiuridilato; FAICAR: 10-formil AICAR; FH2: dihidrofolato; FH4: tetrahidrofolato; FPGS: folipoliglutamato sintetasa; GGH: gamma glutamil hidrolasa; Hcys: homocisteína; Met: metionina; MTHFR: metilentetrahidrofolato reductasa; MTR: 5-metil tetrahidrofolato-homocisteína metiltransferasa; SLC19A1/RFC-1: transportador reducido del folato 1; TS: timidilato sintetasa.

Resultados de la revisión

Los genes implicados en la vía metabólica del ácido fólico que son diana del MTX seleccionados fueron: *MTHFR*, *DHFR*, *ATIC* y *TS*. Los genes implicados en el transporte celular del MTX y en su poliglutamilación seleccionados fueron: *RFC1/SLC19A1* (*transportador de folato reducido de proteína 1*), *ABCB1* (*ATP-binding cassette B1*), *FPGS* (*folipoli-glutamato sintetasa*) y *GGH*.

Metilentetrahidrofolato reductasa

Se han estudiado diferentes SNP de *MTHFR*, con el fin de encontrar asociación entre ellos y la eficacia y toxicidad del MTX en pacientes con artritis reumatoide (AR). Entre ellos, los SNP rs1801133 (677C>T) y rs1801131 (A1298C) son de los que más trabajos publicados existen. En la tabla 1 se detallan los múltiples estudios publicados, su relación con la eficacia y toxicidad, así como su significación¹²⁻⁴¹.

Dihidrofolato reductasa

El gen de la *DHFR* es un gen poco estudiado en la AR, por lo que hay pocos trabajos que estudien sus variantes genéticas (tabla 2)^{42,43}. Entre estos, nuestro grupo describió una asociación entre el SNP

rs1643650 y la respuesta al fármaco; los pacientes con un genotipo T/C o C/C presentaron una mejor respuesta al MTX en monoterapia que los pacientes con genotipo T/T³⁵.

5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido formiltransferasa

ATIC está implicada en la liberación extracelular de adenosina desempeñando un papel fundamental en los efectos antiinflamatorios del MTX a dosis bajas⁴⁴. Se han estudiado diferentes variantes genéticas de *ATIC*, con el fin de encontrar asociación entre ellas y la toxicidad y/o eficacia del tratamiento con MTX en pacientes con AR (tabla 3)^{13,14,21,24,32,35,45-52}. De las publicaciones existentes, el SNP rs2372536 es el más estudiado y hay que destacar la concordancia entre los resultados de 3 publicaciones que describen una asociación entre los portadores del alelo G en rs2372536 y la toxicidad al fármaco^{13,21,45}.

Timidilato sintetasa

La *TS* es inhibida directamente por el MTX PG, por lo que se han intentado relacionar algunas de sus variaciones genéticas con la respuesta y/o toxicidad del MTX en pacientes con AR. Se ha descrito una asociación entre una secuencia variable de repeticiones en tándem en la región promotora y los niveles de expresión proteica. Recientemente,

Tabla 1

Estudios publicados del gen *MTHFR* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Autor	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad
rs 1801133 (677 C>T)	Van Ede et al ²²	2001	Holanda	236	ns	–	s	T ↑ toxicidad
	Urano et al ³⁶	2002	Japón	106	ns	–	s	T ↑ toxicidad
	Berkun et al ²⁵	2004	Israel	93	ns	–	ns	–
	Hughes et al ²⁷	2006	EE.UU.	223	ns	–	ns	–
	Weisman et al ²¹	2006	EE.UU.	214	ne		s	T ↑ toxicidad
	Dervieux et al ¹³	2006	EE.UU.	48	s	T ↓ eficacia	ns	–
	Wessels et al ¹⁴	2006	Holanda	205	s	C ↑ eficacia	ns	–
	Kim et al ¹⁷	2006	Corea	385	ne		s	T ↑ toxicidad
	Aggarwal et al ³⁷	2006	India	150	ns	–	ns	–
	Kurzawski et al ¹⁵	2007	Polonia	174	s	T ↑ eficacia	ne	
	Taniguchi et al ¹⁶	2007	Japón	208	ns	–	s	T ↑ toxicidad
	Ranganathan et al ⁵	2008	EE.UU.	127	ne		s	T ↑ toxicidad
	Bohanec et al ²⁶	2008	Eslovenia	213	ns	–	ns	–
	Ghodke et al ²⁹	2008	India	34	ns	–	ns	–
	Inoue et al ³⁸	2009	Japón	36	ns	–	ne	
	Lee et al ⁵¹	2009	EE.UU.	262	ns	–	ne	
	Taraborelli et al ³³	2009	Italia	84	ns	–	ns	–
	Urano et al ⁴¹	2009	Japón	731	ne		ns	–
	Hayashi et al ³⁹	2009	Japón	87	ns	–	ne	
	Xiao et al ¹⁸	2010	China	110	ns	–	s	T ↑ toxicidad
	Stamp et al ³²	2010	Nueva Zelanda	200	ns	–	ns	–
	Owen et al ³¹	2013	Reino Unido	309	ns		ns	–
	Kumagai et al ³⁰	2011	Japón	167	ns	–	ns	–
	Taşbaş et al ³⁴	2011	Turquía	64	ns	–	ns	–
	Mena et al ²⁸	2011	Méjico	70	ne		ns	–
	Cáliz et al ¹⁹	2012	España	468	ne		s	T ↑ toxicidad
	Choe et al ⁴⁰	2012	Corea	167	ne		ns	–
	Plaza-Plaza et al ²⁰	2012	España	174	ns	–	s	T ↑ toxicidad

Continúa en pág. siguiente

Tabla 1 (cont.)

SNP	Autor	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad
rs 1801131 (1298 A>C)	Urano et al ³⁶	2002	Japón	106	s	C ↑ eficacia	ns	-
	Berkun et al ²⁵	2004	Israel	93	ns	-	s	C ↓ toxicidad
	Wessels et al ¹⁴	2006	Países Bajos	205	s	A ↑ eficacia	s	C ↑ toxicidad
	Dervieux et al ¹³	2006	EE.UU.	48	ns	-	s	C ↑ toxicidad
	Hughes et al ²⁷	2006	EE.UU.	223	ns	-	s	A ↑ toxicidad
	Taniguchi et al ¹⁶	2007	Japón	208	ns	-	ns	-
	Kurzawski et al ¹⁵	2007	Polonia	174	s	C ↑ eficacia	ne	-
	Bohanec et al ²⁶	2008	Eslovenia	213	ns	-	s	C ↓ toxicidad
	Ghodke et al ²⁹	2008	India	34	ns	-	ns	-
	Taraborelli et al ³³	2009	Italia	84	ns	-	ns	-
	Urano et al ⁴¹	2009	Japón	731	ne	-	ns	-
	Stamp et al ³²	2010	Nueva Zelanda	200	ns	-	ns	-
	Xiao et al ¹⁸	2010	China	110	s	C ↑ eficacia	ns	-
	Taşbaş et al ³⁴	2011	Turquía	64	ns	-	ns	-
	Mena et al ²⁸	2011	Méjico	70	ne	-	s	C ↑ toxicidad
	Owen et al ³¹	2011	Reino Unido	309	ns	-	ns	-
	Kumagai et al ³⁰	2011	Japón	167	ns	-	ns	-
	Choe et al ⁴⁰	2012	Corea	167	ne	-	s	C ↑ toxicidad
	Cáliz et al ¹⁹	2012	España	468	ne	-	ns	-
	Plaza-Plaza et al ²⁰	2012	España	174	ns	-	ns	-
Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	s	A ↑ eficacia	ne	-	
rs17421511	Salazar et al ³⁵	2014	España	124	s	G ↑ eficacia	ns	-
rs1476413	Salazar et al ³⁵	2014	España	124	s	C ↑ eficacia	ns	-
rs4846051	Hughes et al ²⁷	2006	Caucásicos/ Afroamericanos	223	ns	-	s	G ↑ toxicidad (caucásicos)

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido.

Tabla 2

Estudios publicados del gen *DHFR* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

Polimorfismo	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad
rs408626	317 A>G	Milic et al ⁴²	2012	Serbia	125	s	A ↓ eficacia	ns
rs6151599	216T>C	Milic et al ⁴²	2012	Serbia	125	ns	-	ns
rs12517451	30514432 C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ns	-	s
rs10072026	3053499 T>C	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ns	-	s
rs1643657	19384A>G	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ns	-	s
rs1643650	15658A>G	Salazar et al ³⁵	2014	España	124	s	C ↑ eficacia	ns

↓: menor; ↑: mayor; ns: no significativo; s: significativo.

un estudio ha descrito que el genotipo 3G/3G en el alelo TS*3 se asocia con peor respuesta al MTX en pacientes con AR⁵³. Las publicaciones sobre el estudio de TS son escasas y con criterios no homogéneos⁵⁴.

Transportador de folato reducido de proteína 1

El *RFC1/SLC19A1* interviene en la entrada del MTX a la célula, por lo que una alteración en su funcionalidad puede provocar un aumento o disminución de los valores de MTX intracelular^{55,56}. Se han estudiado diferentes SNP del gen *RFC1/SLC19A1* (tabla 4)^{14,20,24,26,32,43,50,57-61},

siendo rs1051266 (G80A) del que más publicaciones existen. Los resultados de estos estudios muestran discordancias entre la eficacia y/o toxicidad del MTX y el SNP rs1051266.

ATP-binding cassette B1

Los transportadores *ATP-binding cassette* están implicados en el eflujo del MTX, y la *ABCB1* es uno de los genes más estudiados como posible marcador farmacogenético (tabla 5)^{5,20,24,26,32,50,59,62,63}. A pesar de tanto trabajo para determinar la contribución genética de *ABCB1*

Tabla 3
Estudios publicados del gen *ATIC* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad	
rs2372536	347C>G	Dervieu et al ⁴⁶	2004	EE.UU.	108	s	GG ↓ eficacia	ne	
		Dervieu et al ⁴⁶	2006	EE.UU.	48	ns	-	s	G ↑ toxicidad
		Weisman et al ²¹	2006	EE.UU.	214	ne		s	G ↑ toxicidad
		Wessels et al ¹⁴	2006	Países Bajos	205	s	C ↑ eficacia	s	G ↑ toxicidad
		Takatori et al ⁵⁰	2006	Japón	124	ns	-	ns	-
		Sharma et al ⁴⁹	2009	India	281	ns	-	ne	
		Stamp et al ³²	2010	Nueva Zelanda	200	ns	-	ns	-
		Grabar et al ⁴⁸	2010	Eslovenia	211	ns	-	s	G ↑ toxicidad
		Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	ns	-	ne	
rs4673993	40661T>C	Yanagimachi et al ⁴⁷	2011	Japón	92	ns	-	ns	
		Iannaccone et al ⁵²	2011	EE.UU.	120	s	C ↑ eficacia	ne	
rs12995526	26293T>C	Lee et al ⁵¹	2009	EE.UU.	120	s	C ↑ eficacia	ne	
		Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	C ↑ eficacia	ns	-
rs4535042	129T>G	Milic et al ⁴²	2012	Serbia	125	ns	-	ns	-
rs3821353	26101G>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	G ↑ eficacia	ns	-
rs7563206	18976C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	C ↑ eficacia	ns	-
rs16853834	38558C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	C ↑ eficacia	ns	-
rs16853826	33489G>A	Salazar et al ³⁵	2014	España	124	ns	-	s	G ↑ toxicidad

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido.

Tabla 4
Estudios publicados del gen *SLC19A1* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad	
rs1051266	G80A	Plaza-Plaza et al ²⁰	2012	España	67	ne		ns	-
		Takatori et al ⁵⁰	2006	Japón	124	ns	-	ns	-
		Stamp et al ³²	2010	Nueva Zelanda	200	ns	-	ns	-
		Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ns	-	ns	-
		Wessels et al ¹⁴	2006	Países Bajos	205	ns	-	ns	-
		Drozdzik et al ⁶⁰	2007	Polonia	174	s	A ↑ eficacia	ns	-
		Hayashi et al ⁶¹	2013	Japón	89	s	G ↓ eficacia	ne	
		Bohanec et al ⁵⁸	2008	Eslovenia	213	ns	-	s	G ↑ toxicidad
		Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	ns	-	ne	
rs11702425	1920T>C	Yanagimachi et al ⁵⁷	2011	Japón	92	ns	-	ns	-
		Samara et al ⁵⁹	2014	Jordania	159	ns	-	s	TT ↑ toxicidad
rs2838956	3939465A>G	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	AA ↑ eficacia	ns	-
rs7499	16G>A	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	GG ↑ eficacia	ns	-
rs2274808	86531C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	CC ↑ eficacia	ns	-
rs9977268	87191C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	CC ↑ eficacia	ns	-
rs7279445	99822C>T	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	CC ↑ eficacia	ns	-

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido.

en la respuesta y toxicidad del MTX, los resultados de los estudios hasta la fecha publicados no son concordantes. De todos los SNP estudiados, la variante rs1045642 (C3435T) situada en el exón 26 del gen⁶⁴ es la que más veces se ha documentado.

Folipoliglutamato sintetasa

Se han intentado relacionar SNP de este gen con la toxicidad y eficacia del MTX, con resultados poco exitosos (tabla 6)^{43,49,65,66}.

Gamma glutamil hidrolasa

La *GGH* tiene la función de revertir la poliglutamación del MTX permitiendo, de este modo, que se pueda extraer de la célula, por lo que variaciones genéticas que afecten a su funcionalidad, también pueden ser indicadoras de una falta de eficacia del fármaco o de una toxicidad asociada a este.

La tabla 7 muestra los diferentes polimorfismos estudiados de *GGH*^{24,43,47,53}, y del SNP rs11545078 es del que más publicaciones existen^{24,47,53}.

Tabla 5Estudios publicados del gen *ABCB1* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad	
rs1045642	3435C>T	Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	s	TT ↑ eficacia	ne	
		Plaza-Plaza et al ²⁰	2012	España	67	ne		s	CC ↑ toxicidad
		Kooloos et al ⁶³	2010	Alemania	205	ns	–	s	TT ↑ toxicidad
		Samara et al ⁵⁹	2014	Jordania	159	ns	–	s	TT ↑ toxicidad
		Pawlik et al ⁶²	2004	Polonia	92	s	TT ↑ eficacia	ne	
		Takatori et al ⁵⁰	2006	Japón	124	s	TT ↓ eficacia	ns	–
		Bohanec et al ²⁶	2008	Eslovenia	213	ns	–	s	TT ↑ toxicidad
		Stamp et al ³²	2010	Nueva Zelanda	200	ns	–	ns	–
rs2032582	2677GA/T	Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	s	AA/AT/TT ↑ eficacia	ne	
rs1128503	1236C>7	Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	ns	–	ne	
		Ranganathan et al ⁵	2008	EE.UU.	127	ne		s	TT ↑ toxicidad

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido.

Tabla 6Estudios publicados del gen *FGS* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad	
rs1054774	59719530T>A	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ne		tS	A mayor toxicidad
rs1544105	2572C>T	Sharma et al ⁴⁹	2009	India	281	s	AA ↓ eficacia	ne	
rs4451422	16444A>C	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	ne		tS	C mayor toxicidad
rs10760502	114G>A	Van der Straaten ⁶⁶	2007	Países Bajos	352	ns	–	ns	–
rs 10106	1194 A>G	Van der Straaten et al ⁶⁶	2007	Países Bajos	352	ns	–	ns	–
		Davis et al ⁶⁵	2014	EE.UU.	319	ns	–	ns	–
rs7033913	914C>T	Davis et al ⁶⁵	2014	EE.UU.	319	ns	–	ns	–
rs10760503	43644T>C	Davis et al ⁶⁵	2014	EE.UU.	319	ns	–	ns	–

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido; tS: tendencia a la significación estadística.

Tabla 7Estudios publicados del gen *GGH* relacionados con la eficacia y la toxicidad por metotrexato en la artritis reumatoide

SNP	Referencia	Año	Población	n	Eficacia	Res. de eficacia	Toxicidad	Res. de toxicidad	
rs11545078	452C>T	Kato et al ²⁴	2012	Japón	55	ns	–	ne	
		Yanagimachi et al ⁵⁷	2011	Japón	92	ns	–	ns	–
		Jekic et al ⁵³	2013	Serbia	184	ns	–	ns	–
rs12681874	14269G>A	Owen et al ⁴³	2013	Reino Unido	309	s	TT ↑ eficacia	ns	–
rs719235	354G>T	Jekic et al ⁵³	2013	Serbia	184	ns	–	s	GG ↑ toxicidad
rs1800909	16T>C	Yanagimachi et al ⁵⁷	2011	Japón	92	ns	–	s	TT ↑ toxicidad

↓: menor; ↑: mayor; ne: no evaluado; ns: no significativo; s: significativo; SNP: polimorfismos de un único nucleótido.

Actualización crítica, limitaciones actuales y revisión práctica

La farmacogenética ha abordado de una manera dispar la búsqueda de predictores de respuesta y toxicidad a MTX. Los diferentes estudios publicados dejan abierta la posibilidad de encontrar una explicación de por qué unos pacientes son respondedores efectivos o si sufren efectos adversos tras la administración del fármaco. Entre las posibles causas están:

– *Heterogeneidad clínica de las poblaciones estudiadas.* Las variables no genéticas, como la edad, el sexo, las comorbilidades y las tera-

pías concomitantes aumentan la complejidad del estudio de asociación de los SNP con eficacia y/o toxicidad de los fármacos al comparar diferentes poblaciones.

- *Variabilidad en la definición de eficacia/respuesta al tratamiento.* Los diferentes estudios utilizan criterios de respuesta dispares al tratamiento, hecho que dificulta las comparaciones entre ellos y plantea dudas sobre la validez de las asociaciones genotipo-resultado.
- *Toxicidad: dificultad en establecer causalidad.* Definir causalidad del MTX en los efectos adversos es difícil, dado que existen otros factores, tanto clínicos como psicosociales, que pueden afectar en la notificación de estos.

- *Tamaño muestral pequeño: consistencia y reproducibilidad.* Otra explicación para la falta de resultados consistentes en los estudios de farmacogenética y MTX puede ser el pequeño tamaño de la muestra de la mayoría de estos estudios, lo que reduce el poder estadístico necesario para generar resultados consistentes y reproducibles.
- *Muestras no homogéneas racialmente.* Las frecuencias de los alelos varían considerablemente entre los diferentes grupos étnicos y estas diferencias pueden afectar a los estudios de asociación⁵.
- *Estudio de SNP específicos.* Identificar los genes candidatos es de vital importancia. Generar una hipótesis a priori acerca de estos genes en la vía celular MTX y examinar las asociaciones con respuesta y toxicidad como se ha hecho tradicionalmente debería ser preceptivo. Sin embargo se debe tener en cuenta que la respuesta al MTX está determinada por la interacción de diferentes factores, incluyendo la farmacocinética, la farmacodinamia del fármaco y los factores clínicos, como se describe anteriormente. Además hay que considerar el impacto que pueden tener las asociaciones de múltiples SNP (combinación de ellos) en la eficacia y toxicidad del fármaco. Mientras que un único SNP podría no tener significancia solo, la combinación de varios de ellos en una misma proteína podría dar lugar a un cambio significativo en su función, aumentando o disminuyendo la eficacia y toxicidad. La complejidad de esta interacción hace que sea difícil dilucidar el efecto de un SNP específico en los efectos clínicos.
- *Heterogeneidad estadística.* La heterogeneidad metodológica es un obstáculo inevitable en metaanálisis y, aunque algunos enfoques estadísticos como el “modelo de efectos aleatorios” y el “análisis de sensibilidad” pueden reducir la heterogeneidad, no eliminan esta limitación.

Conclusiones

En una era de avances destacados en la farmacogenética y en pleno desarrollo de nuevos métodos de cribado, selección de genes y secuenciación, la personalización de la terapia con un fármaco como el MTX, de amplio uso en AR, sigue siendo un desafío.

Hay un gran número de estudios farmacogenéticos en pacientes con AR bajo tratamiento con MTX, pero son pocos los que estudian los mismos SNP y los resultados de estos son incongruentes entre ellos. Uno de los principales objetivos de la farmacogenética de la AR en los próximos años será la implementación de un tratamiento individualizado.

Conflicto de intereses

H. Corominas ha realizado conferencias y ponencias para Gebro Pharma, Abbvie, Pfizer, Roche, Bristol-Myers-Squibb, MSD y UCB.

P. Moya ha realizado ponencias para Roche y Bristol-Myers Squibb.

J. Salazar y M. Baiget declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003;423:356-61.
2. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birbara CA, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum*. 2003;48:35-45.
3. Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff MH, Keystone EC, et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2000;343:1586-93.
4. Finckh A, Liang MH, Van Herckenrode CM, De Pablo P. Long-term impact of early treatment on radiographic progression in rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2006;55:864-72.
5. Ranganathan P, Culverhouse R, Marsh S, Mody A, Scott-Horton TJ, Brasington R, et al. Methotrexate (MTX) pathway gene polymorphisms and their effects on MTX toxicity in Caucasian and African American patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2008;35:572-9.
6. Cronstein BN. Low-dose methotrexate: a mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rev*. 2005;57:163-72.
7. Chan ESL, Cronstein BN. Molecular action of methotrexate in inflammatory diseases. *Arthritis Res*. 2002;4:266-73.
8. Galivan J. Evidence for the cytotoxic activity of polyglutamate derivatives of methotrexate. *Mol Pharmacol*. 1980;17:105-10.
9. Van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, De Abreu RA, Van de Putte LB. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Semin Arthritis Rheum*. 1998;27:277-92.
10. Kremer JM. Toward a better understanding of methotrexate. *Arthritis Rheum*. 2004;50:1370-82.
11. Szeto DW, Cheng YC, Rosowsky A, Yu CS, Modest EJ, Piper JR, et al. Human thymidylate synthetase--III. Effects of methotrexate and folate analogs. *Biochem Pharmacol*. 1979;28:2633-7.
12. Kang SS, Zhou J, Wong PW, Kowalisyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet*. 1988;43:414-21.
13. 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;54:3095-103.
14. Wessels JAM, De Vries-Bouwstra JK, Heijmans BT, Slagboom PE, Goekoop-Ruiterman YPM, Allaart CF, et al. 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;54:1087-95.
15. 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;8:1551-9.
16. Taniguchi A, Urano W, Tanaka E, Furihata S, Kamitsuji S, Inoue E, et al. 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;17:383-90.
17. Kim S-K, Jun J-B, El-Soheily 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;33:1266-74.
18. Xiao H, Xu J, Zhou X, Stankovich J, Pan F, Zhang Z, et al. Associations between the genetic polymorphisms of MTHFR and outcomes of methotrexate treatment in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;28:728-33.
19. Cáliz R, Del Amo J, Balsa A, Blanco F, Silva L, Sanmarti R, et al. The C677T polymorphism in the MTHFR gene is associated with the toxicity of methotrexate in a Spanish rheumatoid arthritis population. *Scand J Rheumatol*. 2012;41:10-4.
20. Plaza-Plaza JC, Aguilera M, Cañadas-Garre M, Chemello C, González-Utrilla A, Faus Dader MJ, et al. Pharmacogenetic polymorphisms contributing to toxicity induced by methotrexate in the southern Spanish population with rheumatoid arthritis. *OMICS*. 2012;16:589-95.
21. Weisman MH, Furst DE, Park GS, Kremer JM, Smith KM, Wallace DJ, et al. Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54:607-12.
22. Van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, Huizinga TW, Haagsma CJ, Giesendorf BA, et al. 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*. 2004;44:2525-30.
23. Van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet*. 1998;62:1044-51.
24. Kato T, Hamada A, Mori S, Saito H. Genetic polymorphisms in metabolic and cellular transport pathway of methotrexate impact clinical outcome of methotrexate monotherapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2012;27:192-9.
25. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A, Orbach H, Aamar S, Grenader T, et al. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:1227-31.
26. 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;64:1057-68.
27. Hughes LB, Beasley TM, Patel H, Tiwari HK, Morgan SL, Baggott JE, et al. 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;65:1213-8.
28. Mena JP, Salazar-Páramo M, González-López L, Gámez-Nava JJ, Sandoval-Ramírez L, Sánchez JD, et al. Polymorphisms C677T and A1298C in the MTHFR gene in Mexican patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate: implication with elevation of transaminases. *Pharmacogenomics J*. 2011;11:287-91.
29. 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;27:787-9.
30. 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.
31. Owen SA, Lunt M, Bowes J, Hider SL, Bruce IN, Thomson W, et al. MTHFR gene polymorphisms and outcome of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis: analysis of key polymorphisms and meta-analysis of C677T and A1298C polymorphisms. *Pharmacogenomics J*. 2013;13:137-47.
32. Stamp LK, Chapman PT, O'Donnell JL, Zhang M, James J, Frampton C, et al. Polymorphisms within the folate pathway predict folate concentrations but are not associated with disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate. *Pharmacogenet Genomics*. 2010;20:367-76.

33. Taraborelli M, Andreoli L, Archetti S, Ferrari M, Cattaneo R, Tincani A. Methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphisms and methotrexate: no association with response to therapy nor with drug-related adverse events in an Italian population of rheumatic patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27:499-502.
34. Taşbaş O, Borman P, Gürhan Karabulut H, Tükün A, Yorgancıoğlu R. The frequency of A1298C and C677T polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate gene in Turkish patients with rheumatoid arthritis: relationship with methotrexate toxicity. *Open Rheumatol J.* 2011;5:30-5.
35. Salazar J, Moya P, Altés A, Díaz-Torné C, Casademont J, Cerdà-Gabaroí D, et al. Polymorphisms in genes involved in the mechanism of action of methotrexate: are they associated with outcome in rheumatoid arthritis patients? *Pharmacogenomics.* 2014;15:1079-90.
36. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, Tanaka E, Nakajima H, Matsuda Y, et al. 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;12:183-90.
37. Aggarwal P, Naik S, Mishra KP, Aggarwal A, Misra R. Correlation between methotrexate efficacy and toxicity with C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate gene in rheumatoid arthritis patients on folate supplementation. *Indian J Med Res.* 2006;124:521-6.
38. Inoue S, Hashiguchi M, Takagi K, Kawai S, Mochizuki M. Preliminary study to identify the predictive factors for the response to methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Yakugaku Zasshi.* 2009;129:843-9.
39. Hayashi H, Fujimaki C, Daimon T, Tsuboi S, Matsuyama T, Itoh K. Genetic polymorphisms in folate pathway enzymes as a possible marker for predicting the outcome of methotrexate therapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Pharm Ther.* 2009;34:355-61.
40. Choe J-Y, Lee H, Jung H-Y, Park S-H, Bae S-C, Kim S-K. Methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphisms, C677T and A1298C, are associated with methotrexate-related toxicities in Korean patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2012;32:1837-42.
41. Urano W, Furuya T, Inoue E, Taniguchi A, Urano T, Kotake S, et al. Associations between methotrexate treatment and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms with incident fractures in Japanese female rheumatoid arthritis patients. *J Bone Miner Metab.* 2009;27:574-83.
42. Milic V, Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milasin J, Novakovic I, et al. Association of dihydrofolate reductase (DHFR) -317AA genotype with poor response to methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30:178-83.
43. Owen S, Hider SL, Martin P, Bruce IN, Barton A, Thomson W. Genetic polymorphisms in key methotrexate pathway genes are associated with response to treatment in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics J.* 2013;13:227-34.
44. Cronstein BN, Naime D, Ostad E. The antiinflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. *J Clin Invest.* 1993;92:2675-82.
45. Wessels JA, Kooloos WM, De Jonge R, De Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, Linssen A, et al. Relationship between genetic variants in the adenosine pathway and outcome of methotrexate treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2830-9.
46. Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Walsh M, et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2766-74.
47. Yanagimachi M, Naruto T, Hara T, Kikuchi M, Hara R, Miyamae T, et al. Influence of polymorphisms within the methotrexate pathway genes on the toxicity and efficacy of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Br J Clin Pharmacol.* 2011;71:237-43.
48. Grabar PB, Rojko S, Logar D, Dolzan V. Genetic determinants of methotrexate treatment in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms in the adenosine pathway. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:931-2.
49. Sharma S, Das M, Kumar A, Marwaha V, Shankar S, Singh P, et al. Purine biosynthetic pathway genes and methotrexate response in rheumatoid arthritis patients among north Indians. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19:823-8.
50. Takatori R, Takahashi KA, Tokunaga D, Hojo T, Fujioka M, Asano T, et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24:546-54.
51. Lee YC, Cui J, Costenbader KH, Shadick N, Weinblatt ME, Karlson EW. Investigation of candidate polymorphisms and disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:613-7.
52. Iannaccone CK, Lee YC, Cui J, Frits ML, Glass RJ, Plenge RM, et al. Using genetic and clinical data to understand response to disease-modifying anti-rheumatic drug therapy: data from the Brigham and Women's Hospital Rheumatoid Arthritis Sequential Study. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50:40-6.
53. Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milic V, Novakovic I, Damjanovic T, et al. Association of the TYMS 3G/3G genotype with poor response and GGH 354GG genotype with the bone marrow toxicity of the methotrexate in RA patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69:377-83.
54. James HM, Gillis D, Hissaria P, Lester S, Somogyi AA, Cleland LG, et al. Common polymorphisms in the folate pathway predict efficacy of combination regimens containing methotrexate and sulfasalazine in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2008;35:562-71.
55. Dixon KH, Lanpher BC, Chiu J, Kelley K, Cowan KH. A novel cDNA restores reduced folate carrier activity and methotrexate sensitivity to transport deficient cells. *J Biol Chem.* 1994;269:17-20.
56. Prasad PD, Ramamoorthy S, Leibach FH, Ganapathy V. Molecular cloning of the human placental folate transporter. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;206:681-7.
57. Yanagimachi M, Naruto T, Hara T, Kikuchi M, Hara R, Miyamae T, et al. Influence of polymorphisms within the methotrexate pathway genes on the toxicity and efficacy of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Br J Clin Pharmacol.* 2011;71:237-43.
58. Bohanec Grabar P, Leandro-García LJ, Inglada-Pérez L, Logar D, Rodríguez-Antona C, Dolžan V. Genetic variation in the SLC19A1 gene and methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics.* 2012;13:1583-94.
59. Samara SA, Irshaid YM, Mustafa KN. Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2014;52:746-55.
60. Drozdziak M, Rudas T, Pawlik A, Gornik W, Kurzawski M, Herczynska M. Reduced folate carrier-1 80G>A polymorphism affects methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J.* 2007;7:404-7.
61. Hayashi H, Tazoe Y, Tsuboi S, Horino M, Morishita M, Arai T, et al. A single nucleotide polymorphism of reduced folate carrier 1 predicts methotrexate efficacy in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013;28:164-8.
62. Pawlik A, Wrzesniewska J, Fiedorowicz-Fabrycy I, Gawronska-Szklarz B. The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2004;42:496-503.
63. Kooloos WM, Wessels JA, Van der Straaten T, Allaart CF, Huizinga TW, Guchelaar H-J. Functional polymorphisms and methotrexate treatment outcome in recent-onset rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics.* 2010;11:163-75.
64. Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johné A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:3473-8.
65. Davis LA, Polk B, Mann A, Wolff RK, Kerr GS, Reimold AM, et al. Folic acid pathway single nucleotide polymorphisms associated with methotrexate significant adverse events in United States veterans with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32:324-32.
66. Van der Straaten RJHM, Wessels JAM, De Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YPM, Allaart CF, Bogaartz J, et al. Exploratory analysis of four polymorphisms in human GGH and FPGS genes and their effect in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics.* 2007;8:141-50.