

Pobre Resposta a Tiopurina em Doença Inflamatória Intestinal: Como superar a resistência terapêutica?

Laurent Chouchana^{1,2,3}, Denis Roche¹, Raymond Jian^{2,4}, Philippe Beaune^{1,2,3} and Marie-Anne Lorient^{1,2,3,*}

Afiliação dos Autores

¹ Assistance publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Biochimie, Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire, Paris, France;

² Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France;

³ INSERM UMR-S775, Paris, France;

⁴ Assistance publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Hepato-gastro-enterologie et endoscopie digestive, Paris, France.

* Endereço para correspondência do Autor: Assistance publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Biochimie, Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire, 20 rue Leblanc, Paris, France. Fax +33-1-56-09-33-93; e-mail marie-anne.lorient@egp.aphp.fr.

DESCRIÇÃO DO CASO

Uma mulher de 24 anos de idade (53 kg), com uma história de colite ulcerativa córtico-dependente com ulcerações leves e amplas se apresentou ao ambulatório de gastroenterologia com recidiva dos sintomas de 5 anos. Foi dado 100 mg / dia (1,9 mg kg⁻¹ · dia⁻¹) azatioprina (AZA) 5 durante 1 mês, após o que a dose foi aumentada para 125 mg / dia (2,3 mg kg⁻¹ · dia⁻¹). Quatro meses depois, o paciente foi gradualmente reduzindo a terapia com esteróides. Seus sintomas persistiram após 7 meses de tratamento AZA, no entanto, e ela experimentou efeitos colaterais gastrointestinais. O paciente utilizou um outro fármaco tiopurina, 6-mercaptopurina (6-MP), a 75 mg / dia (1,4 mg kg⁻¹ · dia⁻¹), que foi bem tolerada, mas de forma semelhante ineficaz (8 vezes diárias). Um breve curso de terapia esteróide rapidamente produziu uma melhora clínica substancial, mas de curta duração.

Para entender esta falta de resposta do paciente a dois agentes tiopurina, quantificamos metabólitos tiopurina (1) um ano após o início da terapia com AZA. Concentrações intraeritrocitárias de nucleotídeos 6-tioguanina (6-TGNs) foram baixas (132 pmol / 8 · 10⁸ eritrócitos; intervalo terapêutico, 230-400 pmol / 8 · 10⁸ eritrócitos), e ribonucleotídeos 6 metilmercaptopurina (6 MMPRs) eram muito altas (11 666 pmol / 8 · 10⁸ eritrócitos; intervalo terapêutico, <5800 pmol / 8 · 10⁸ eritrócitos). Uma segunda quantificação de metabólitos tiopurina 3 meses mais tarde confirmaram esses resultados (6-TGNs, 127 pmol / 8

· 10⁸ eritrócitos; 6-MP, 26 304 pmol / 8 · 10⁸ eritrócitos). O paciente teve uma atividade incomum e extremamente alta tiopurina S-metiltransferase (TPMT) em eritrócitos [61,5 nmol · h⁻¹ · (eritrócitos mL)⁻¹; intervalo de referência, 8,5-15 nmol · h⁻¹ · (eritrócitos mL)⁻¹]. A falta de eficácia clínica para 6-MP, juntamente com a evidência de resistência farmacológica, solicitou a descontinuação da terapia de 6-MP. Daí em diante, administraram-se o fator de necrose tumoral-α (TNF-α) antagonista adalimumab, mas rapidamente substituído com infliximab, que tem uma boa eficácia e segurança perfil clínico.

QUESTÕES A CONSIDERAR

1. Qual é a utilidade clínica de avaliar o fenótipo ou genótipo TPMT?
2. Qual é a justificativa para o monitoramento terapêutico de tiopurinas?
3. Quais são as causas da resistência que devem ser consideradas antes de mudar para outra classe de medicamentos para pacientes com resistência aparente à tiopurina?
4. Como pode ser otimizado o tratamento com tiopurina em pacientes com uma atividade muito alta TPMT?

DISCUSSÃO

As tiopurinas AZA e 6-MP são fármacos citotóxicos e imunossupressores que constituem a pedra angular da terapia de manutenção para a doença inflamatória intestinal (DII). Ambas as drogas provocam toxicidade hematológica severa (por exemplo, neutropenia) e hepatotoxicidade em até 10% e 13% dos pacientes, respectivamente (2). A resistência à tiopurina ocorre em cerca de 40% dos doentes (3). AZA e 6-MP são moléculas inativas que requerem bioativação através de um complexo metabolismo enzimático. Após a administração, AZA é rapidamente transformada em 6-MP que depois é metabolizada através de 3 vias enzimáticas competitivas, duas das quais são catabólicas [xantina oxidase (XO) e TPMT]. A via anabólica, através de hipoxantina-guanina (HPRT), produz 6-TGN metabólitos ativos (Fig. 1) (2). Este metabolismo é amplamente regulado por TPMT, que catalisa a

conversão de 6-MP para metilmercaptapurina-6 (6-MMP) e 6-MMPRs relacionados. Atividade TPMT varia amplamente entre os indivíduos, e esta variação é devido a polimorfismos genéticos no gene TPMT e em sequências não relacionadas (2). Cerca de 0,03% a 0,6% dos pacientes têm uma atividade da TPMT baixa (mutante homozigótica), cerca de 3% a 14% têm um nível de atividade intermediária (heterozigotos), e cerca de 86% -97% apresentam uma atividade normal ou alta (tipo selvagem homozigótico), com grande variação que ocorre entre os grupos étnicos (4). Além disso, em aproximadamente 15% dos pacientes, atividade TPMT é muito elevada (superior ao intervalo de referência) em comparação aos pacientes dentro do intervalo de referência normal, com atividade TPMT / elevada (2).

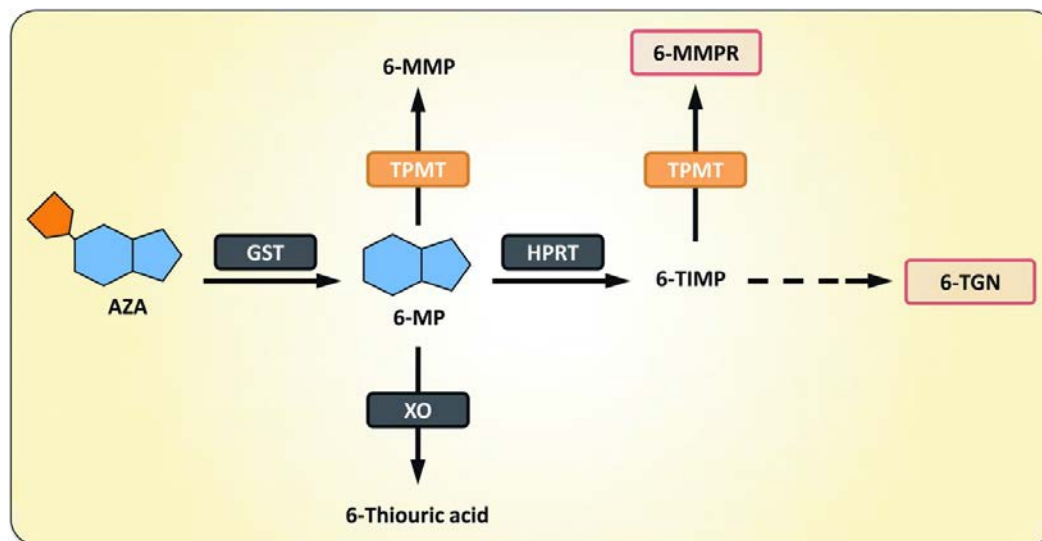


Fig. 1. Sumário do Metabolismo da Tiopurina.

Para uma versão detalhada, veja Chouchana et al. (2). GST, glutathione-S-transferase; 6-TIMP, 6-tioinosina monofosfato.

Atividade TPMT (ou genótipo) está negativamente correlacionada com a concentração de sangue 6-TGN, e um corte de aproximadamente 235 pmol / $8 \cdot 10^8$ eritrócitos tem sido correlacionado com a resposta terapêutica (2). Assim, os pacientes com atividade TPMT baixa ou intermediária (mutante homozigoto ou heterozigoto) são mais propensos a ter concentrações tóxicas 6-TGN e são, portanto, em maior risco de neutropenia ou supressão da medula óssea até mesmo letal, especialmente em pacientes homozigotos (2, 3). Estes doentes devem receber uma dose inferior de tiopurina. Por outro lado, os

pacientes com uma atividade muito elevada TPMT têm baixas concentrações de 6-TGN, e seu metabolismo de tiopurina produz preferencialmente derivados metilados (6-MMPRs) associados à hepatotoxicidade (2). A abundância de dados sobre a deficiência de TPMT e toxicidade hematológica contrasta com a escassez de informações sobre a resistência à tiopurina. Os pacientes com uma atividade muito elevada TPMT são mais propensos a ter baixas concentrações 6-TGN. Assim, as dosagens tiopurina padrão podem ser inadequadas, levando à resistência à tiopurina com uma 6-MMPR/6-TGN taxa (3). Nesta situação, monitorização terapêutica

com medidas das concentrações de 6-TGN e 6-MMPR poderia destacar que uma dose de tiopurina acima da faixa normal é necessária para superar a resistência farmacológica. Pacientes como descrevemos, no entanto, têm uma atividade muito alta TPMT com derivados predominantemente metilados. Escalada dosagem nesses casos pode levar à produção preferencial de 6-MMPR, arriscando hepatotoxicidade (3). Além disso, a escalada de dosagem não é consistentemente eficaz em pacientes com resistência a dosagens padrão, independentemente da atividade TPMT (3). Digno de nota é que uma variação desfavorável de 6-MMPR / 6-TGN relação (ou seja, alta de 6-MMPR e baixa 6-TGN) também tem sido relatada em pacientes com uma atividade de TPMT normal (5, 6).

A resposta terapêutica pode ser melhorada nos pacientes com o aumento das concentrações de sangue 6-MMPR, que são geralmente relacionados com uma atividade muito elevada TPMT, utilizando o inibidor de alopurinol XO para potenciar a produção de 6-TGN. A interação conhecida entre tiopurinas e alopurinol pode causar eventos adversos graves hematológicos, e esta combinação é contra-indicado nos EUA pela Food and Drug Administration. O alopurinol foi usado pela primeira vez para mudar o metabolismo de compostos a partir de 6-tiopurina MMP a 6-TGN em maus respondedores a AZA ou 6-MP (7). Os autores deste estudo retrospectivo, que incluiu 20 pacientes que não responderam a AZA ou 6-MP e que tinham elevadas concentrações de 6 MMPR, deu a pacientes alopurinol 100 mg por dia e diminuiu a dosagem tiopurina a 25% -50% da dosagem inicial. Esta combinação alopurinol-tiopurina aumentou as concentrações de 6 TGN 2 vezes e diminuiu as concentrações de 6 MMPR de 5 vezes (7). Clinicamente, essa combinação parecia segura e eficaz, a melhoria da atividade da doença clínica diminuíram as necessidades de esteróides. Além disso, a adição de alopurinol em doentes com um aumento de aminotransferase durante a terapia com tiopurina tinha restaurado atividades normais de aminotransferase e atenuado a hepatotoxicidade (7).

Que o alopurinol melhora a 6 MMPR / 6-TGN relação in vivo tem sido abundantemente documentado, mas o mecanismo subjacente a esta interação droga-droga permanece incerto. O alopurinol inibe XO, mas não tem nenhum efeito inibidor direto sobre TPMT (8). Um estudo prospectivo aberto de alopurinol combinado com a terapia tiopurina de baixa dose apresentaram

aumento da atividade HPRT (9). Este aumento na atividade de HPRT, que catalisa o primeiro passo na produção de 6-TGN, é consistente com o aumento de 6-TGN, mas não explica completamente a diminuição dramática simultânea em 6-MMPR, o que leva a uma melhoria da relação de metabolito. Finalmente, um estudo in vitro (10) sugeriu um mecanismo bioquímico alternativo: inibição de XO, por alopurinol pode levar a oxidação preferencial 6-MP através de aldeído oxidase, com a produção de di-hidroxi-6-MP, um composto responsável pela inibição da atividade de feedback TPMT.

Outra abordagem para aumentar as concentrações de sangue 6-TGN é a combinação de ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) e tiopurina. As alterações no metabolismo de tiopurina causado pela adição de 5-ASA tem sido descrito (2). A adição de 5-ASA levou a um aumento nas concentrações de 6-TGN, provavelmente causada pela inibição TPMT (2).

A determinação do fenótipo ou genótipo TPMT antes de iniciar a terapia tiopurina garante a identificação de pacientes com deficiência de TPMT, permitindo assim a prevenção de eventos adversos graves hematológicos. Determinando o fenótipo TPMT também permite a identificação de pacientes com uma atividade muito elevada TPMT. Tais pacientes são propensos à resistência à tiopurina e necessitam de um aumento da dosagem tiopurina ou formas alternativas de tratamento. Uma mudança para 6-MP é inútil nesses pacientes. Ensaio de metabólitos são úteis para ajustes de dose durante o tratamento com tiopurina. Além disso, a combinação de terapia com dose baixa de tiopurina e alopurinol e pode ser útil em pacientes com um perfil de metabolito desfavorável e resistência farmacológica ou hepatotoxicidade. Esta estratégia terapêutica exige uma monitorização cuidadosa da contagem de células de sangue e testes de metabólitos.

Em conclusão, a análise inicial do metabolismo de tiopurina em pacientes com resistência à tiopurina pode ajudar os médicos a evitar a otimizar a terapia e interromper cedo para outra droga a partir do painel limitado de terapias disponíveis para o tratamento da doença inflamatória do intestino. A estreita cooperação entre o farmacologista e o médico é fundamental para otimizar o atendimento ao paciente e diminuir o tempo de remissão.

PONTOS PARA RELEMBRAR

- A determinação do fenótipo ou genótipo TPMT é recomendada para ajudar na escolha da dosagem de tiopurina inicial para pacientes agendados para a terapia com tiopurina.
- A avaliação precoce de concentrações do metabolito é útil para validar a dosagem de tiopurina inicial em pacientes com uma atividade muito alta ou baixa TPMT.
- Ensaios de metabólitos podem ajudar a identificar a subdosagem, baixa adesão, ou um perfil metabólico desfavorável em pacientes com resistência à tiopurina.
- Terapia com Tiopurina pode ser otimizado em pacientes com um perfil metabólico desfavorável por adição de 100 mg de alopurinol por dia para a terapia. Esta estratégia de redução requer a dosagem de tiopurina a 25% -50% da linha de base e monitorizar as contagens de células sanguíneas em intervalos curtos.

Notas de Rodapé

⁵ Abreviaturas não padronizadas:

AZA,
azatioprina;
6-MP,
6-mercaptopurina;
6-TGN,
6-tioguanina nucleotideo;
6-MMPR,
6-metilmercaptopurina ribonucleotideo;
TPMT,
tiopurina S-metiltransferase;
TNF- α ,
factor- α de necrose tumoral;
IBD,
doença inflamatória intestinal;
XO,
xantina oxidase;
HPRT,
hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase;
6-MMP,
6-metilmercaptopurina;
5-ASA,
5-ácido aminosalicílico.

Contribuições Autor: Todos os autores confirmaram que têm contribuído para o conteúdo intelectual deste trabalho e que

tenham cumprido os três requisitos seguintes: (a) contribuições significativas para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) elaboração ou revisão do artigo para o conteúdo intelectual; e (c) a aprovação final do artigo publicado.

Divulgação dos autores ou potenciais conflitos de interesse: os autores não declararam quaisquer potenciais conflitos de interesse.

Recebido para publicação 04 de setembro de 2012.

Accepted for publication November 27, 2012.

© 2013 The American Association for Clinical Chemistry

Referencias

1. Dervieux T, Bouliou R. *Simultaneous determination of 6-thioguanine and methyl 6-mercaptopurine nucleotides of azathioprine in red blood cells by HPLC. Clin Chem 1998;44:551-5.*
2. Chouchana L, Narjoz C, Beaune P, Lorient M-A, Roblin X. *Review article: the benefits of pharmacogenetics for improving thiopurine therapy in inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther 2012;35:15-36.*
3. Dubinsky MC, Yang H, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, et al. *6-MP metabolite profiles provide a biochemical explanation for 6-MP resistance in patients with inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2002;122:904-15.*
4. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui C-H, Yee SW, et al. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. Clin Pharmacol Ther 2011;89:387-91.*
5. Hoentjen F, Hanauer SB, de Boer NK, Rubin DT. *Two brothers with skewed thiopurine metabolism in ulcerative colitis treated successfully with allopurinol and mercaptopurine dose reduction. Dig Dis Sci 2012;57:250-3.*
6. van Egmond R, Chin P, Zhang M, Sies CW, Barclay ML. *High TPMT enzyme activity does not explain drug resistance due to preferential 6-methylmercaptopurine production in patients on thiopurine treatment. Aliment Pharmacol Ther 2012;35:1181-9.*
7. Sparrow MP, Hande SA, Friedman S, Cao D, Hanauer SB. *Effect of allopurinol on clinical outcomes in inflammatory bowel disease nonresponders to azathioprine or 6-mercaptopurine. Clin Gastroenterol Hepatol 2007;5:209-14.*
8. Oselin K, Anier K. *Inhibition of human thiopurine S-methyltransferase by various nonsteroidal anti-inflammatory drugs in vitro: a mechanism for possible drug interactions. Drug Metab Dispos 2007;35:1452-4.*
9. Seinen ML, de Boer NKH, Smid K, van Asseldonk DP, Bouma G, van Bodegraven AA, et al. *Allopurinol enhances the activity of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase in inflammatory bowel disease patients during low-dose thiopurine therapy: preliminary data of an ongoing series. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2011;30:1085-90.*
10. Blaker PA, Arenas M, Fairbanks L, Irving PM, Marinaki AM, Sanderson JI. *A biochemical mechanism for the role of allopurinol in TPMT inhibition. Gastroenterology 2011;140:5769.*

Comentários

Andrea E. Reid*

Afiliação dos Autores

Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Section, Washington, DC VA Medical Center Washington, DC.

* Endereço para correspondência do Autor:

Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Section, Washington, DC VA Medical Center, 50 Irving St., NW, Washington, DC 20422. Fax 202-745-8453; e-mail andreareid2@va.gov.

A azatioprina e 6-mercaptopurine (6-MP) são tratamentos eficazes para a doença inflamatória do intestino. Múltiplos estudos clínicos têm demonstrado a eficácia da azatioprina (2-3 mg kg⁻¹ · dia⁻¹) e 6-MP (1,5 mg kg⁻¹ · dia⁻¹) para induzir e manter a remissão em moderada a grave doença inflamatória do intestino. O tempo médio para o efeito completo é de 3 meses, embora melhoria clínica pode ser aparente em 4 a 8 semanas. Azatioprina / 6-MP pode ser subutilizada por causa do atraso no início da ação e por causa de um medo de toxicidade, especialmente leucopenia, infecção e hepatotoxicidade.

6-MP é convertido não enzimaticamente a 6-tioguanina (6-TGN), o metabolito biologicamente ativo responsável pela resposta terapêutica. 6-MP também é convertido pela S-tiopurina-metiltransferase (TPMT) de 6-metilmercaptopurina (6-MMP), concentrações elevadas das quais pode contribuir para a hepatotoxicidade. Oitenta e nove por cento da população tem atividades normais a elevadas de TPMT. Quando a actividade TPMT é insignificante (0,3% da população) ou intermediário (10% -11%), as concentrações de 6-TGN são mais elevadas do que o normal, aumentando substancialmente o risco de mielossupressão. Quando a atividade TPMT é muito alta, a resposta clínica pode ser limitada por causa de baixa concentrações de 6-TGN. Algumas sociedades profissionais recomendam o pré-tratamento de genotipagem ou fenotipagem TPMT; no entanto, o cumprimento desta recomendação é desconhecida. Quando do tipo selvagem TPMT está documentado, a terapia / 6-MP azatioprina pode ser iniciada na terapêutica total ou perto desta dose. Em pacientes com TPMT heterozigossidade, a dose inicial de azatioprina / 6-MP é um terço a metade da dose padrão e deve ser aumentada lentamente. Em

ambos os casos, o hemograma completo deve ser monitorizado regularmente para mielossupressão. Pacientes com atividade TPMT insignificante não deve ser tratado com tiopurinas. Existem poucos dados sobre a atividade muito elevada TPMT e seu efeito sobre a resposta clínica. Monitoramento de 6-TGN não é recomendado em geral, mas pode ser útil quando a resposta clínica é silenciada. Baixas concentrações de 6-TGN podem indicar descumprimento da medicação ou atividade TPMT hiperativo. Se este último está documentado (associada com altas concentrações de MMP-6), escalados doses de azatioprina / 6-MP ou o tratamento com os agentes biológicos podem ser apropriados.

Notas de Rodapé

Contribuições Autor: Todos os autores confirmaram que têm contribuído para o conteúdo intelectual deste trabalho e que tenham cumprido os três requisitos seguintes: (a) contribuições significativas para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) elaboração ou revisão do artigo para o conteúdo intelectual; e (c) a aprovação final do artigo publicado.

Divulgação dos autores ou potenciais conflitos de interesse: os autores não declararam quaisquer potenciais conflitos de interesse.

Recebido para publicação 22 de abril de 2013.

Aceito para publicação em 29 de abril de 2013.

© 2013 A Associação Americana de Química Clínica

Comentários

Gabriele Stocco¹,*

Afiliação dos Autores

¹ *Department of Life Sciences, University of Trieste, Trieste, Italy.*

* Endereço para correspondência do Autor:

University of Trieste, Department of Life Sciences, Via Fleming 22, 34127 Trieste, Italy. Fax +39-040-5588634; e-mail stoccog@units.it.

Os antimetabólitos das azatioprina tiopurina e 6-mercaptopurina são comumente usados para tratar a doença inflamatória intestinal; no entanto, a sua administração em doses convencionais está associada com eventos adversos e a falta de resposta em alguns pacientes. Embora haja uma abundância de dados sobre eventos hematológicos adversos e de deficiência tiopurina-S-metiltransferase (TPMT) e durante o tratamento

com tiopurinas, ainda há uma escassez de informações sobre as causas moleculares para não resposta. Chouchana et al. apresentaram um paciente com colite ulcerativa que era insensível à terapia com tiopurinas e tinha tanto uma elevada atividade TPMT e um taxa desfavorável de metabolitos tiopurina, ou seja, uma concentração elevada de nucleótidos metilmercaptapurina MMPNs (2) em relação à tioguanina nucleótidos (TGNs). Maiores concentrações MMPN e mais baixas e TGN estão associados com uma resposta reduzida à tiopurina; uma elevada atividade TPMT pode estar envolvido na determinação desta razão metabólica desfavorável (1). Evidências recentes fornecidas por determinantes genéticos promissores adicionais para uma atividade de alto TPMT e uma falta de resposta à tiopurina; no entanto, essas características moleculares ainda precisam de maior validação antes da sua utilização clínica. Polimorfismos no promotor TPMT3 (tiopurina S-metiltransferase) têm sido associados com o aumento da atividade da TPMT. Além disso, os efeitos trans de polimorfismos de um único nucleótido que afetam a atividade da TPMT e sensibilidade à mercaptopurina recentemente foram descobertos no gene PACSIN2 (substrato de proteína quinase C e de caseína-quinase em neurônios 2). Esses fatores moleculares que influenciam a atividade TPMT podem identificar pacientes com alta atividade da TPMT.

Notas de Rodapé

² Abreviaturas não padronizadas:

MMPN,
nucleotideo metilmercaptapurina;
TGN,

nucleotideo tioguanina.

³ Genes Humanos:

TPMT,
tiopurina S-metiltransferase;
PACSIN2,
proteína quinase C e substrato caseína quinase 2 em neurônios;
GSTM1,
glutaciona S-transferase mu 1.

Contribuições Autor: *Todos os autores confirmaram que têm contribuído para o conteúdo intelectual deste trabalho e que tenham cumprido os três requisitos seguintes: (a) contribuições significativas para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) elaboração ou revisão do artigo para o conteúdo intelectual; e (c) a aprovação final do artigo publicado.*

Divulgação dos autores ou potenciais conflitos de interesse: *os autores não declararam quaisquer potenciais conflitos de interesse.*

Recebido para publicação 08 de abril de 2013.

Aceito para publicação em 22 de abril de 2013

© 2013 A Associação Americana de Química Clínica

3.

Referências

1. van Egmond R, Chin P, Zhang M, Sies CW, Barclay ML. *High TPMT enzyme activity does not explain drug resistance due to preferential 6-methylmercaptapurine production in patients on thiopurine treatment. Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:1181–9.
2. Hicks JK, Crews KR, Hoffman JM, Kornegay NM, Wilkinson MR, Lorier R, et al. *A clinician-driven automated system for integration of pharmacogenetic interpretations into an electronic medical record. Clin Pharmacol Ther* 2012;92:563–6.