

6-thioguanine therapy in inflammatory bowel disease

Léčba 6-thioguaninem u pacientů s idiopatickými střevními záněty

Petra Chalupná¹, Milan Lukáš¹, Renata Šroubková¹, Martin Bortlík¹, Jan Stříteský², Michal Kumšta³, Ivan Šebesta²

¹ Gastroenterologické centrum, 4. interní klinika VFN a 1. LF UK / Centre of Gastroenterology, 4th Department of Medicine, General Teaching Hospital, Faculty of Medicine, Charles University, Praha, Czech Republic

² Ústav patologické anatomie VFN a 1.LF UK / Institute of Pathology, General Teaching Hospital, Faculty of Medicine, Charles University, Praha, Czech Republic

³ Ústav biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1.LF UK / Institute of Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General Teaching Hospital, Faculty of Medicine, Charles University, Praha, Czech Republic

Chalupná P, Lukáš M, Šroubková R, Bortlík M, Stříteský J, Kumšta M, Šebesta I. 6-thioguanine therapy in inflammatory bowel disease. Folia Gastroenterol Hepatol 2004; 2 (3): 112 - 120.

Abstract. *The review article deals with knowledge of 6-thioguanine therapy. Azathioprine and 6-mercaptopurine have been used for many years in the treatment of inflammatory bowel disease. In 20 - 30 % of the patients, long-term administration does not show any significant effect or lead to the occurrence of adverse effects. The application of 6-thioguanine, the effective substance, can be effective in approximately 60 % of these patients with intolerance to azathioprine or with failure of standard immunosuppressive therapy. In view of the potential hepatotoxicity of 6-thioguanine, use of the drug should only be limited to controlled clinical tests.*

Key words: *Crohn's disease, 6-thioguanine, efficacy, hepatotoxicity*

Chalupná P, Lukáš M, Šroubková R, Bortlík M, Stříteský J, Kumšta M, Šebesta I. Léčba 6-thioguaninem u pacientů s idiopatickými střevními záněty. Folia Gastroenterol Hepatol 2004; 2 (3): 112 - 120.

Souhrn. *Článek shrnuje vlastní i literární zkušenosti s terapií 6-thioguaninem u pacientů s idiopatickými střevními záněty. Azathioprin a 6-merkaptopurin jsou užívány v terapii střevních zánětů již mnoho let. U 20 - 30 % pacientů ale tyto preparáty nemají žádoucí efekt nebo vedou k řadě nežádoucích účinků. Podání vlastní účinné látky, 6-thioguaninu, může být efektivní až u 60 % pacientů netolerujících azathioprin či u pacientů, u kterých standardní imunosupresivní léčba selhala. Z důvodů potencionální hepatotoxicity 6-thioguaninu je léčba tímto preparátem omezena zatím pouze na kontrolované klinické studie.*

Klíčová slova: *Crohnova nemoc, 6-thioguanin, efektivita, hepatotoxicita*

Thioguanine derivatives, azathioprine and 6-mercaptopurine, have been used for many years in the treatment of inflammatory bowel disease. They represent major drugs in therapy of steroid-dependent, steroid

Deriváty thioguaninů, azathioprin a 6-merkaptopurin, jsou v terapii idiopatických střevních zánětů užívány již mnoho let. Představují základní léky v terapii kortikodependentní a kortikoresistentní formy idiopa-

refractory and as well as in chronic active Crohn's disease and ulcerative colitis. Even though azathioprine (6-mercaptopurine) is effective, it is still far from optimal effectiveness because of several limitations. In 20 - 35 % of the patients, long-term administration of azathioprine or 6-mercaptopurine does not show any significant effect and does not lead to improvement of the course of the disease or to steroid sparing effect. Another limitation is the occurrence of adverse effects of the therapy, which can be observed in 10 - 15 % of the patients. They are caused either by myelosuppression or can occur as an idiosyncratic reaction such as induced pancreatitis or hepatitis (14). An important limitation is also a relatively long period of latency of the significant clinical effect of the therapy, which ranges from 6 to 9 months in some patients. Delayed beginning of the positive effect prevents azathioprine (6-mercaptopurine) from use in highly active disease. Sandborn tried to shorten the long period of latency of the clinical effect by parenteral administration of azathioprine. This trial, however, showed that intravenous administration of azathioprine did not lead to an acceleration of the therapeutic effect (15).

A significant percentage of patients who do not respond to the therapy, show frequent signs of intolerance to the drug and delayed efficacy are the main reasons why new possibilities for immunosuppressive therapy are being sought.

The metabolism of thioguanine derivatives and measurement of thiopurine methyl transferase activity

Azathioprine is quickly non-enzymatically transformed to 6-mercaptopurine or other sulfhydryl-containing proteins with production of a nitro-imidazole derivate that may also have some immunomodulatory properties (5). 6-mercaptopurine is further metabolised through three competitive pathways (Figure 1).

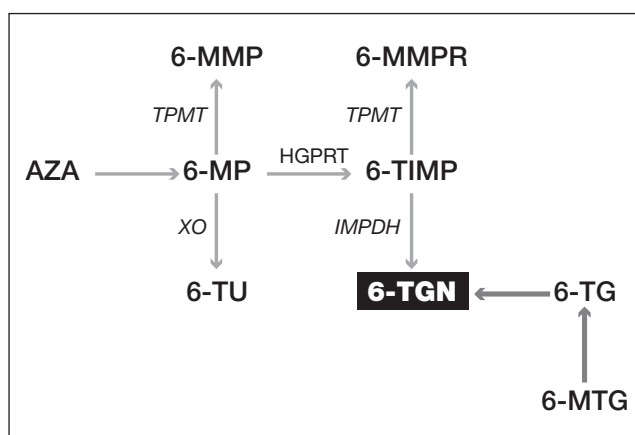
The first pathway is the metabolic conversion into thiouracil mediated by xanthine oxidase. In the treatment of hyperuricaemia (allopurinol) this metabolic pathway can significantly increase the concentration of metabolites, which suddenly increase the toxicity of the therapy. For these reasons, during the concurrent administration of inhibitor of xanthine oxidase, the original dose of azathioprine (6-mercaptopurine) must be decreased to 25 % of the overall daily dose. Two percent of the general population may have a deficient gene for xanthine oxidase giving rise to hypouricaemia.

tických střevních zánětů a dále u chronicky aktivní Crohnovy nemoci a ulcerózní kolitidy. Přestože jde o léky nepochybně velmi účinné, jejich efektivita není vždy optimální. Asi u 20 - 35 % léčených pacientů nevede dlouhodobé podávání azathioprinu či 6-merkaptopurinu ke zřetelnému klinickému efektu léčby ani k možnosti snížit dávku kortikosteroidů. U 10 - 15 % nemocných naopak dochází k výskytu závažných nežádoucích účinků. Mezi ty patří zejména supresivní účinek na kostní dřev a idiosynkratické reakce jako je indukovaná pankreatitida nebo hepatitida (14). Dalším omezením léčby azathioprinem je poměrně dlouhá doba nástupu účinku, u některých pacientů se plný efekt projeví až za 6 - 9 měsíců léčby. Tento fakt znemožňuje podávání azathioprinu u vysoce aktivní formy idiopatických střevních zánětů. Sandborn se pokoušel zkrátit tuto dobu intravenózním podáváním azathioprinu, ale jeho studie prokázala, že ani parenterální podání nástup účinku urychlit nedokáže (15).

Poměrně vysoké procento pacientů nereagujících na léčbu azathioprinem a 6-merkaptopurinem, častý výskyt nežádoucích účinků a dlouhá latence nástupu efektu těchto imunopresiv jsou hlavními důvody, proč jsou stále hledány nové možnosti terapie.

Figure 1 / Obr. 1

Metabolism of thioguanine derivatives.
Metabolismus thioguaninových derivátů.



Legend / vysvětlivky

AZA - azathioprine / azathioprin
6-MP - 6-mercaptopurine / 6-merkaptopurin
6-MMP - 6-methylmercaptopurine / 6-metylmerkaptopurin
6-TU - thiouracil acid / kyselina thioimocová
6-TIMP - thioinosinic monophosphate / thioinosimonofosfát
6-TG - 6-thioguanine / 6-thioguanin
6-TGN - 6-thioguanine nucleotides / 6-thioguaninové nukleotidy
6-MTG - 6-methylthioguanine / 6-metylthioguanin
TPMT - thiopurine methyl transferase / thiopurin-metyl-transferáza
XO - xanthine oxidase / xantin-oxidáza
HGPRT - hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase / hypoxantin-guanin-fosforibosyl-transferáza

The second metabolic pathway of 6-MP is mediated by thiopurine methyl transferase (TPMT). This enzyme degrades 6-mercaptopurine into 6-methylmercaptopurine. If 6-methylmercaptopurine reaches a high concentration in the body, it has strongly hepatotoxic properties. In the general white population, nearly 90 % of people have normal TPMT activity; in 10 % of cases these are heterozygotes with a mutation of one allele and a lower TPMT activity, while 0.3 % of the cases are homozygotes with a mutation of both alleles encoding on the 6th chromosome for this key enzyme (18). The result of the mutation of both alleles is an extremely low TPMT activity. In this case, the usual dose of azathioprine or 6-mercaptopurine is highly toxic because the degradation into by-products (6-methylmercaptopurine) is missing. The effective metabolites accumulate in the body with signs of toxicity, especially with damages to the bone marrow. This situation is still more complicated due to the fact that TPMT activity can also be influenced by exogenous factors. For example, diuretics and azathioprine itself can induce TPMT activity while sulfasalazine and mesalazine may inhibit it (16). Since there is a significant variability in the activity of TPMP, there is an idea that monitoring the enzyme activity or the genotyping can significantly minimize the toxicity of these drugs. Colombel et al. proved that assessment of TPMP activity or providing the genetic analysis of the TPMP gene reduces the risk of myelotoxicity in only one third of patients (4). Therefore, with the majority of them, monitoring TPMP activity had no effect on the prediction of toxicity of the treatment. In our previous study we did not find any correlation between TPMT activity and good response to azathioprine therapy (2). Approximately 10 % of our patients developed adverse events, among them, hepatotoxicity was strongly associated with a high level of 6-methylmercaptopurine (Graph 1).

The third metabolic pathway of the degradation of 6-mercaptopurine is the creation of 6-thioguanines, which ensure an immunosuppressive effect. These substances are created by the activity of hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) and they allow, through a metabolic by-product thioinosinic acid, the production of 6-thioguanine nucleotides. There is no polymorphism documented in the HGPRT gene. Lesch Nyhan syndrome is characterized by a congenital lack of this enzyme activity. The immunosuppressive effect of 6-thioguanine depends on

Metabolismus thioguaninových derivátů a měření aktivity thio-purin-metyl-transferázy

Azathioprin je neenzymaticky transformován na 6-merkaptopurin a na další sulfhydryl-obsahující látky. Zároveň se uvolňují nitroimidazolové deriváty, které mohou mít též imunomodulační vlastnosti (5). 6-merkaptopurin je dále metabolizován třemi kompetitivními cestami (Obr. 1).

První představuje metabolická konverze xantin-oxidázou na kyselinu 6-thiomočovou. Při léčbě hyperurikémie, kdy je podáván alopurinol blokující tento enzym, může dojít ke zvýšení toxicity azathioprinu a 6-merkaptopurinu. Proto dávka v tomto případě musí být snížena na zhruba 25 % původní denní dávky. Dvě procenta populace mají deficientní gen pro tvorbu xantinoxidázy, což má za následek nízkou hladinu kyseliny močové v séru.

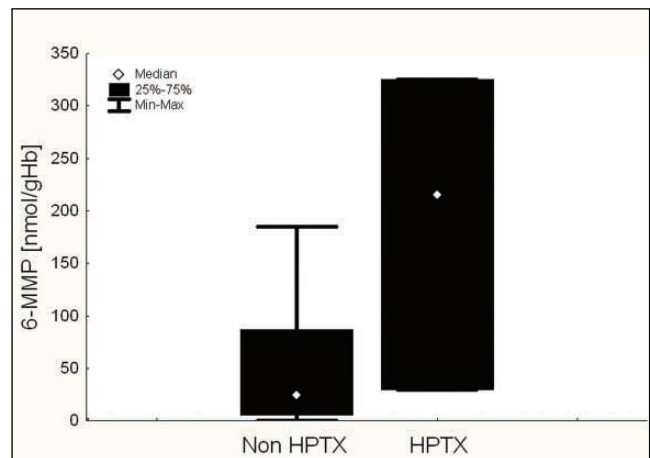
Druhá metabolická cesta 6-merkaptopurinu je zprostředkována thio-purin-metyl-transferázou. Tento enzym, který je kódován genem na 6. chromozomu, degraduje 6-merkaptopurin na 6-methylmerkaptopurin. Dosáhne-li 6-methylmerkaptopurin vysokých koncentrací, může dojít k projevům hepatotoxicity. V bělošské populaci má téměř 90 % osob normální aktivitu thio-purin-metyl-transferázy, v 10 % případů jde o heterozygoty s mutací jedné alely a sníženou aktivitou thio-purin-metyl-transferázy. Asi tři desetiny procenta pacientů jsou homozygoti s mutací obou alel a s výslednou velmi nízkou aktivitou thio-purin-metyl-transferázy (18). U těchto osob chybí degradace na intermediární produkty (6-methylmerkaptopurin) a důsledkem je kumulace 6-thioguanosinů v těle a útlum kostní dřeně. Thio-purin-metyl-transferáza je enzym, který je navíc ovlivnitelný exogenními faktory. Například diuretika a dokonce i azathioprin indukují zvýšenou aktivitu thio-purin-metyl-transferázy, naopak sulfasalazin či mesalazin enzym inhibují (16). Protože byly zjištěny tyto individuální rozdíly v aktivitě, začalo se zkoumat, zda monitorování aktivity enzymu či genotypizace nemohou napomoci snížit toxicitu léku. Colombel se spol. (4) prokázal, že stanovení aktivity thio-purin-metyl-transferázy nebo genetická analýza genu pro thio-purin-metyl-transferázu redukuje riziko myelotoxicity jen u třetiny pacientů (4). Monitorování aktivity thio-purin-metyl-transferázy tedy nemá významnější efekt na predikci toxicity terapie. Výsledky naší studie ukázaly, že není významnější vztah mezi hladinou aktivity thio-purin-metyl-transferázy a příznivou klinickou odpovědí na podání azathioprinu (2). Nežádoucí účinky jsme zaznamenali u 10 %

the induction of lymphocyte apoptosis. The destruction of excessively stimulated lymphocytes in the intestinal mucosa then compensates for the loss of tolerance to microbial antigens. Knowledge of the metabolism was the basis of the belief that administration of the effective substance 6-thioguanine itself could minimize the toxicity of by-products and would have a targeted action. The application of 6-thioguanine spares the long metabolic pathway, which may be one of the possible causes of intolerance and inefficacy of azathioprine or 6-mercaptopurine therapy.

6-thioguanine concentration and the effect of azathioprine (6-mercaptopurine)

Several recent studies have analyzed correlation between the levels of metabolites in blood and the efficacy or toxicity of azathioprine and 6-mercaptopurine. The cut-off level of 6-thioguanine concentration in blood corresponds to 230 - 250 pmol/ 8×10^8 red blood cells and concentration higher than 500 pmol/ 8×10^8 red blood cells is linked with a risk of myelotoxicity. This fact is based on the study (9) in which 65 % patients with 6-thioguanine concentration higher than 230 pmol/ 8×10^8 red blood cells were free of clinical signs of the disease activity. In comparison with these, only 28 % of the patients who had active disease while having the same 6-thioguanine concentration. The occurrence of hepatotoxicity is correlated with the concentration of 6-methylmercaptopurine in the erythrocytes. Patients with clinical or laboratory signs of toxic liver damage had a significantly higher value of 6-methylmercaptopurine in the erythrocytes (>5.700 pmol/ 8×10^8 red blood cells) in comparison with patients who did not develop liver damage (9). Cuffari et al. found that patients with a concentration of 6-thioguanine in the erythrocytes higher than 235 pmol/ 8×10^8 red blood cells had a significantly lower production of γ interferons in the peripheral lymphocytes (6). However, it is necessary to mention that correlation between the levels of erythrocyte 6-thioguanine and clinical response was not confirmed in all studies (1,12). Currently, it is not clear whether measuring 6-thioguanine concentration in erythrocytes has any predictive significance for estimating the therapeutic response.

Thomas et al. (17) assessed the size of erythrocytes in patients treated with azathioprine or 6-mercaptopurine in relation with the concentration of 6-thioguanine. They found that the size of the erythrocytes was



Graph 1 / Graf 1

6-methylmercaptopurine levels and hepatotoxicity.

Levels of 6-methylmercaptopurine (6-MMP) are significantly higher in patients with signs of hepatotoxicity (HPTX) compared to those without hepatotoxicity (Non HPTX), $p < 0.05$.

Hodnoty 6-metylmekaptopurinu a hepatotoxicita.

Hodnoty 6-metylmekaptopurinu (6-MMP) jsou významně vyšší u pacientů se známkami hepatotoxicity (HPTX) ve srovnání s nemocnými bez hepatotoxicity (Non HPTX), $p < 0,05$.

našich pacientů. Hepatotoxicita korelovala se zvýšenou hladinou 6-metylmekaptopurinu (graf 1).

Třetí metabolickou cestou degradace 6-merkaptopurinu je vlastní tvorba účinných substancí (6-thioguaninů) majících imunopresivní efekt. Vznikají působením hypoxantin-guanin-fosforibosyl-transferázy a přes metabolický meziprodukt kyselinu thio-inosinovou umožňují tvorbu 6-thioguaninových nukleotidů. Gen pro tvorbu hypoxantin-guanin-fosforibosyl-transferázy na rozdíl od genu pro thio-purin-metyltransferázu polymorfismus nevykazuje. Vrozená absolutní deficeience aktivity enzymu hypoxantin-guanin-fosforibosyl-transferázy je podkladem tzv. Leschova-Nyhanova syndromu. Imunopresivní účinek 6-thioguaninů spočívá v indukci apoptózy nadměrně stimulovaných lymfocytů. Důsledkem je úprava porušené rovnováhy imunitního systému střeva reagujícího na mikrobiální antigeny. Na základě těchto znalostí je založena představa, že podáváním vlastní účinné látky 6-thioguaninu se sníží výskyt nežádoucích účinků způsobených meziproducty purinového metabolismu a zrychlí se nástup účinku. Obejde se totiž metabolická cesta, která může být jednou z hlavních příčin intolerance a neúčinnosti terapie azathioprinem nebo 6-merkaptopurinem.

Koncentrace 6-thioguaninu a efekt terapie azathioprinu (6-merkaptopurinu)

Recentní studie analyzovaly korelaci mezi hladinou metabolitů azathioprinu a 6-merkaptopurinu v krvi

closely correlated with the concentration of 6-thioguanine and that it is a significant and simple laboratory indicator of the efficiency (17). In another trial, it was shown that an increase of at least 6 fL in the volume of red blood cells, in comparison with baseline, is correlated with a concentration of 6-thioguanine in erythrocytes of approximately 175 pmol/8x10⁸ red blood cells and with a favourable clinical response to the therapy (7).

Efficacy of the 6-thioguanine therapy

Dubinsky et al. (8) first described the clinical experience with the administration of 6-thioguanine (Lanvis[®] tablets, GlaxoWellcome, UK) to patients with inflammatory bowel disease. She published this open-label pilot trial in 2001. It included 10 patients with Crohn's disease who had previously not responded to azathioprine or 6-mercaptopurine therapy. The dosage of the drug differed widely, ranging from 20 mg to 100 mg daily. The treatment lasted 16 weeks. The efficiency of the treatment was evaluated according to clinical criteria, with favourable effects occurring, on average, from week 4 of the treatment. Treatment was effective in 7 of the 10 patients (8). In 2003, a trial from German centres was presented at the Falk Symposium (No. 134). This was an open label prospective study in which a total of 37 patients with chronic active Crohn's disease were enrolled. The dosage of the drug was 40 mg, exceptionally 80 mg daily, and the overall duration of the treatment was 24 weeks. In a total of 21 patients, i.e. 57 %, the therapy was assessed as effective (11). The largest European population of patients treated with 6-thioguanine was presented by Reinisch, who followed a total of 45 patients with chronic active Crohn's disease. The duration of the administration of 6-thioguanine was 26 weeks, with doses of 40 mg daily. Positive effects were observed in 28 of them, i.e. 63 % of the patients. The mean Crohn's disease activity index (CDAI) decreased during the treatment from initial 211 to 141 points at week 14, and then to a final value of 114 at the end of the study at week 26 (personal communication, 2003).

Our experience is similar. A total of 16 patients with inflammatory bowel disease were treated in our centre, among whom 12 underwent an earlier azathioprine or 6-mercaptopurine therapy without effect and 4 had symptoms of drug intolerance. The dose of 6-thioguanine varied from 40 mg to 60 mg daily, the

a efektem nebo toxicitou této terapie. Účinná hladina 6-thioguaninu v krvi odpovídá koncentraci 230 - 250 pmol/8x10⁸ erytrocytů, hodnota nad 500 pmol/8x10⁸ erytrocytů je spojena s vyšším rizikem myelotoxicity. Tento poznatek vyplývá zejména ze studie (9), kde u 65 % pacientů, u nichž dosáhla koncentrace 6-thioguaninu vyšší hladiny než 230 pmol/8x10⁸ erytrocytů, došlo k ústupu klinických známek aktivity choroby. Ve srovnání s tím, jen u 28 % nemocných se klinický stav a aktivita nemoci nezměnila, přestože v jejich krvi bylo dosaženo stejné koncentrace 6-thioguaninu. Výskyt hepatotoxicity je spojován s vyšší koncentrací 6-metylmerkaptopurinu v erytrocytech. Pacienti, u nichž byly patrné klinické nebo laboratorní známky toxické jaterní leze, měli zjištěny signifikantně vyšší hodnoty 6-metylmerkaptopurinu v erytrocytech (>5.700 pmol/8x10⁸ erytrocytů) než ostatní nemocní (9). Cuffari se spol. zjistil, že pacienti, kteří mají koncentraci 6-thioguaninu v erytrocytech vyšší než 235 pmol/8x10⁸, mají také zřetelně nižší produkci γ interferonu v periferních lymfocytech (6). Je však nutno zmínit, že korelace mezi hladinou 6-thioguaninu v erytrocytech a příznivou klinickou odpovědí nebyla potvrzena ve všech provedených studiích (1,12). V současné době tedy není všeobecně přijímáno, že hladina 6-thioguaninu v erytrocytech slouží jako vhodný prediktivní faktor klinické odpovědi.

Thomas a spol. ukázali, že velikost erytrocytů u pacientů léčených azathioprinem a 6-merkaptopurinem je v těsné korelaci s hladinou 6-thioguaninu a může tedy sloužit jako jednoduchý a účinný laboratorní indikátor efektivity terapie (17). V další studii bylo zjištěno, že vzrůst objemu červené krvinky o 6 fl ve srovnání s výchozí hodnotou odpovídá hladině 6-thioguaninu zhruba na úrovni 175 pmol/8x10⁸ a koreluje s uspokojivou klinickou odpovědí na terapii (7).

Efektivita terapie 6-thioguaninem

Klinickou zkušenost s podáváním 6-thioguaninu (Lanvis[®] tbl, GlaxoWellcome, Velká Británie) pacientům s idiopatickými střevními záněty popsala jako první Dubinsky se spol. v roce 2001 (8). Její pilotní studie zahrnovala 10 pacientů bez předchozí odpovědi na terapii azathioprinem a 6-merkaptopurinem. 6-thioguanin podávala v rozdílných dávkách, od 20 mg do 100 mg denně. Léčba trvala 16 týdnů. Efekt léčby byl hodnocen pomocí klinických kritérií po 4 týdnech a byl dosažen u 7 z 10 nemocných (8). V roce 2003 byla na Falkově sympoziu (č. 134) prezentována studie německých center. Tato otevřená prospektivní

period of the treatment was 26 weeks. For a total of 10 patients (63 %), treatment was efficient and resulted in a decrease of the disease activity and/or to a withdrawal of corticosteroids (3).

Only one presented trial dealt with the efficiency of a long-term maintenance therapy. Herrlinger et al. confirmed that maintenance treatment with 6-thioguanine in doses of 20 - 40 mg daily over a period of 26 weeks was effective for 88 % of the patients and maintained the remission (11).

Safety of the 6-thioguanine therapy

A shift to 6-thioguanine therapy can be effective. However, the data on the safety of 6-thioguanine in patients with inflammatory bowel disease are still preliminary. Opinion on long-term 6-thioguanine therapy was significantly influenced by the work of Poordad in 2002 (13). The author followed a population of 125 patients treated with 6-thioguanine, a total of 30 % of the patients showed an elevation of liver enzymes, and a significant decrease of leucocytes or thrombocytes. A total of 20 patients underwent a liver biopsy. In 14 cases, a nodular regenerative hyperplasia was histologically confirmed. Another three cases of periportal or perivenular fibrosis and six cases of liver steatosis were observed. Dubinsky et al. (10) analyzed the same revised population of patients and found that 29 patients (26 %) showed laboratory deviations (elevation of liver enzymes). A liver biopsy was carried out in 17 patients. Nodular regenerative hyperplasia was observed in 13 cases. No correlation was found between the occurrence of a nodular regenerative hyperplasia and the length of the 6-thioguanine therapy, the overall cumulative dose of the drug or the concentration of 6-thioguanine in the erythrocytes. As independent risk factors for the occurrence of liver damage during a treatment with 6-thioguanine, the author identified male sex, as well as a higher production of 6-methylmercaptopurine in the previous 6-mercaptopurine therapy (10).

The results of the European researchers were obtained on smaller patient populations, the occurrence of hepatotoxicity and myelotoxicity was significantly lower than overseas. In the Czech population of 16 patients, there was an elevation of liver enzyme values in three cases. These patients agreed to undergo liver biopsy. Abnormal results of liver histology occurred in all cases. All were assessed as liver fibrosis of different degree (Figures 2 and 3). All patients had

studie zahrnovala celkem 37 pacientů s chronickou aktivní Crohnovou chorobou. Byla podávána dávka 40 mg (výjimečně 80 mg) denně a léčba trvala 24 týdnů. U celkem 21 pacientů, tj. 57 %, byla léčba hodnocena jako úspěšná (11). Největší skupinu pacientů v Evropě, celkem 45 nemocných s chronickou aktivní Crohnovou chorobou, prezentoval Reinisch. Těmto pacientům podával po 26 týdnů dávku 40 mg denně. Pozitivní efekt léčby byl zaznamenán u 28 z nich, tj. u 63 %. Hodnota indexu aktivity (CDAI) se u nich snížila z 211 na počátku léčby na 141 bodů ve 14. týdnu, resp. na 114 na konci léčby ve 26. týdnu (osobní sdělení, 2003).

Naše zkušenosti s podáváním 6-thioguaninu pacientům s idiopatickými střevními záněty jsou obdobné. Léčili jsme celkem 16 pacientů, z nich 12 v minulosti neodpovídalo adekvátně na terapii azathioprinem (6-merkaptopurinem) a u 4 se projevovала nesnášenlivost této léčby. 6-thioguanin jsme podávali v dávce od 40 do 60 mg denně a léčba trvala 26 týdnů. Deset pacientů (tj. 63 %) z léčby profitovalo a mohly jim být sníženy nebo vysazeny kortikosteroidy (3).

Pouze jedna studie se zabývala 6-thioguaninem jako udržovací dlouhodobou léčbou. Herrlinger et al. podávali dávku 20-40 mg déle než 26 týdnů jako udržovací léčbu a tato měla efekt na udržení remise u 88 % pacientů (11).

Bezpečnost terapie 6-thioguaninem

Terapie 6-thioguaninem se zdá být efektivní, ale údaje o její bezpečnosti jsou stále nejasné. Nebezpečí dlouhodobé terapie idiopatických střevních zánětů pomocí 6-thioguaninu se jeví velmi zřetelně v práci Poordada a spol. z roku 2002 (13). Autor sledoval 125 pacientů léčených 6-thioguaninem, z nichž u 30 % se projevilo zvýšení jaterních enzymů a signifikantní pokles počtu leukocytů a trombocytů. Celkem 20 těchto pacientů podstoupilo jaterní biopsii a u 14 případů byla popsána regenerativní nodulární hyperplazie. Tři pacienti měli periportální fibrózu a 6 nemocných steatózu jater. Dubinsky et al. na stejném, ale revidovaném souboru pacientů popisuje zvýšení jaterních testů u 29 pacientů (10). Sedmáct jich mělo provedenu jaterní biopsii a nodulární regenerativní hyperplazie byla zjištěna u 13 z nich. Korelace mezi výskytem nodulární regenerativní hyperplazie a délkou terapie 6-thioguaninem a celkovou koncentrací 6-thioguaninu v erytrocytech nebyla zjištěna. Za nezávislý rizikový faktor výskytu jaterní léze považuje autorka mužské pohlaví a zvýšenou hladinu 6-metyl-

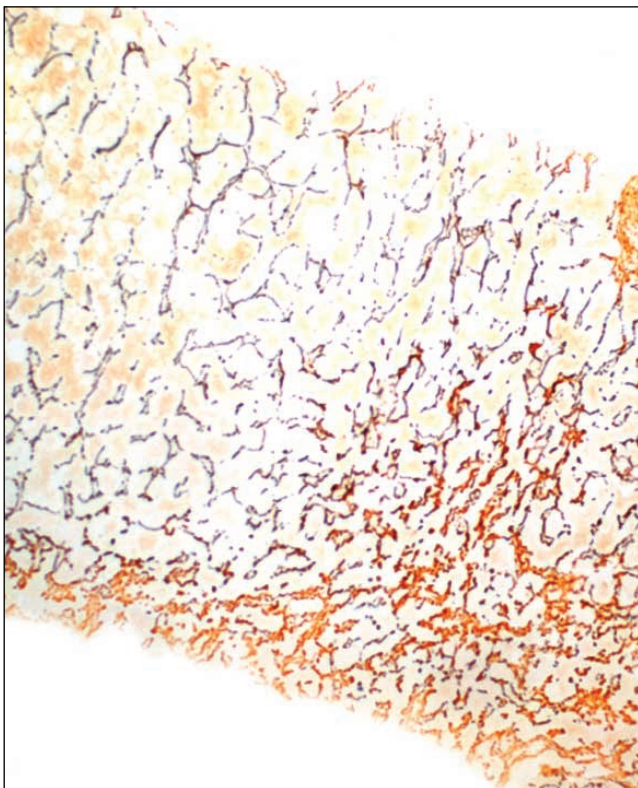


Figure 2 / Obr. 2

Liver histology of patients treated by 6-thioguanine in our centre. Histology of liver biopsy specimen described periportal fibrosis without any signs of nodular regenerative hyperplasia. Biopsy is from 36-year-old man taking 6-thioguanine for eight months. Trichrome staining. Magnification 120x.

Jaterní histologie nemocných léčených 6-thioguaninem v našem centru.

Histologie vzorku jaterní biopsie popisuje periportální fibrózu bez známek nodulární regenerativní hyperplázie. Biopsie 36-letého muže léčeného 6-thioguaninem osm měsíců. Barvení trichromem. Zvětšení 120-krát.

signs of perivenular fibrosis, two subjects had periportal fibrosis. In addition all patients had liver steatosis. However no case of nodular regenerative hyperplasia was found.

Current position and future perspectives

Over the last 10 years, some progress has been made in understanding the metabolism of thioguanine derivatives and its implications for clinical practice. New strategies are proposed to improve the efficacy of treatment of inflammatory bowel disease. In some cases of patients who previously did not respond favourably or were intolerant to the treatment with azathioprine and 6-mercaptopurine, 6-thioguanine therapy may be helpful. However, the relatively limited experience with 6-thioguanine in patients with Crohn's disease or ulcerative colitis still makes this approach controversial. From the standpoint of efficacy, 6-thioguanine therapy may be promising drugs

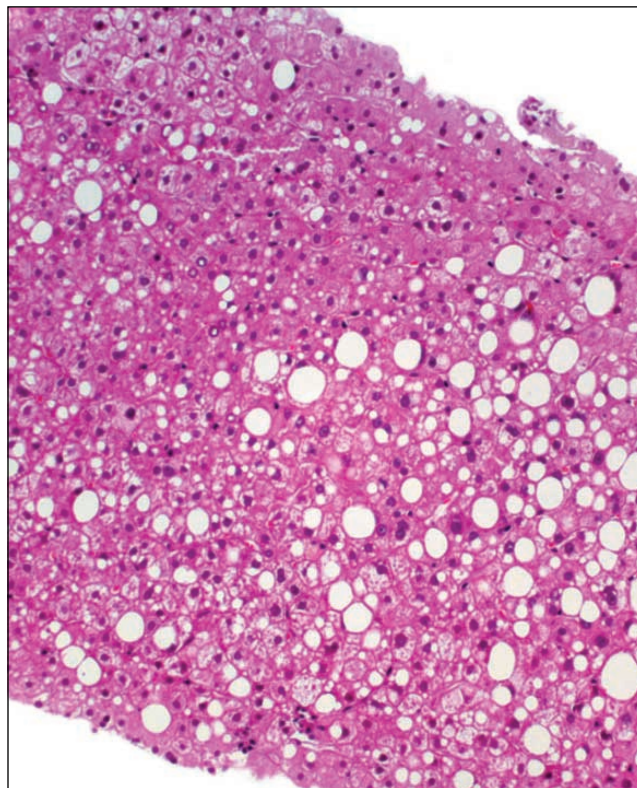


Figure 3 / Obr. 3

Liver histology of patients treated by 6-thioguanin in our centre. Perivenular and centroacinar fibrosis was described in this case of 43-year-old woman taking 6-thioguanine for twelve months. Haematoxylin-eosin. Magnification 200x.

Jaterní histologie nemocných léčených 6-thioguaninem v našem centru.

Perivenulární a centroacinarární fibróza byla popsána v případě 43-leté ženy léčené 6-thioguaninem dvanáct měsíců. Hematoxilin-eozin. Zvětšení 200-krát.

merkaptopurinu během předchozí terapie 6-merkaptopurinem (10).

Výsledky z evropských center jsou získány na menším počtu pacientů, ale výskyt hepatotoxicity i myelotoxicity je menší než v zámoří. Z naší skupiny 16 pacientů se objevilo zvýšení jaterních testů ve třech případech a všichni tito tři pacienti podstoupili jaterní biopsii. Patologický histologický nález byl prokázán u všech tří nemocných a odpovídal různému stupni jaterní fibrózy. U všech pacientů byly zjištěny známky perivenulární fibrózy, ve dvou případech známky periportální fibrózy (obrázek 2,3). Všichni pacienti měli navíc steatózu jater. Ani v jednom případě jsme však nezjistili regenerativní nodulární hyperplazii.

Současný stav a perspektivy

V posledních 10 letech došlo k velkému pokroku v poznání metabolismu thioguaninových derivátů a jejich použití v klinické praxi. Nová strategie předpokládá zdokonalení efektu léčby idiopatických střevních zánětů. U pacientů, kteří uspokojivě neodpovída-

with good efficiency in 60 - 70 % of the patients for whom a previous therapy was unsuccessful. The second possible advantage of 6-thioguanine is the significantly shorter period of time needed for the positive clinical effects to begin, which was around 4 weeks in the majority of the trials carried out. Until now, there has been no randomized, double-blind, placebo-controlled trial performed with 6-thioguanine. However, all studies published so far were prospective and some of them were multicentre. From that point of view, it will be necessary to conduct blind controlled clinical trials where the efficiency of the treatment of chronically active Crohn's disease will be verified on a large patient population. It is not currently possible to express an opinion on the evaluation of the efficiency of 6-thioguanine in maintenance therapy of inflammatory bowel disease. From the pharmacoeconomic point of view, the efficiency of 6-thioguanine is comparable to that of infliximab, yet its price is significantly lower.

The question of the safety of the treatment is currently the subject of intense trials and discussions. In view of the uncertain and still not fully understood hepatotoxicity of 6-thioguanine, the use of the drug should only be limited to controlled clinical studies. A multicentre international Austrian-Czech-German trial is underway. It should assess the toxicity of 6-thioguanine in long-term administration and evaluate histological findings in the liver.

li na léčbu azathioprinem či 6-merkaptopurinem nebo ji dobře netolerovali, by mohla být léčba 6-thioguaninem velkým přínosem. Relativně omezené zkušenosti s 6-thioguaninem u pacientů s Crohnovou chorobou nebo ulcerózní kolitidou činí tento postup stále kontroverzním. Co se týká efektu léčby, 6-thioguanin se jeví jako slibný lék u 60 - 70 % pacientů, u kterých předchozí léčení bylo neúspěšné. Další výhodou 6-thioguaninu je zřetelné zkrácení doby do nástupu klinických účinků, která ve většině studií nepřesahovala 4 týdny. Dosud však chybí randomizovaná dvojitě slepá placebem kontrolovaná studie s 6-thioguaninem. Všechny dosud provedené studie jsou sice prospektivní, avšak jen některé z nich multicentrické. Aby bylo možné vyslovit jednoznačné hodnocení, je nutné provést dvojitě slepou placebem kontrolovanou studii s 6-thioguaninem k verifikaci jeho efektu a bezpečnosti v léčbě chronické aktivní Crohnovy nemoci u větší skupiny pacientů. Po stránce farmakoekonomické se zdá být léčebný efekt 6-thioguaninu srovnatelný s infliximabem, ale jeho cena je významně nižší.

Otázka bezpečnosti léčby 6-thioguaninem je stále předmětem zkoumání a diskusí. Vzhledem k tomu, že zůstává nevyjasněná problematika hepatotoxicity 6-thioguaninu, je léčivo vyhrazeno k použití pouze v kontrolovaných klinických studiích. V současné době proběhla rakousko-česko-německá studie, která by měla ozřejmit toxicitu 6-thioguaninem při dlouhodobé terapii zhodnocením histologických nálezů jaterní biopsie.

REFERENCES / LITERATURA

1. Belaiche J, Desager JP, Horsmans Y, Louis E. Therapeutic drug monitoring of azathioprine and 6-mercaptopurine metabolites in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 71 - 76.
2. Chalupná P, Lukáš M, Kumšta M, Šebesta I. Vliv aktivity thiopurinmetyltransferázy na výsledek dlouhodobé imunosupresivní terapie azathioprinem (6-merkaptopurinem) u nemocných s idiopatickými střevními záněty. *Čes Slov Gastroenterol Hepatol* 2002; 56: 208 - 213.
3. Chalupná P, Lukáš M, Kumšta M, Bortlík M, Novotný A, Adamec S. 6-thioguanine therapy in IBD patients refractory or intolerant to azathioprine treatment. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9, Suppl 1: S42.
4. Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, Marteau P, Gendre JP, Bnaz Bm Soule JC, Modigliani R, Touze Y, Catala P, Libresa C, Broly F. Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. *Gastroenterology* 2000; 118: 1025 - 1030.
5. Crawford DJ, Maddocks L, Jones DN, Szawlovski P. Rational design of novel immunosuppressive drugs: analogues of azathioprine lacking the 6-mercaptopurine substituent retain or have enhanced immunosuppressive effects. *J Med Chem* 1996; 39: 2690 - 2695.
6. Cuffari C, Hunt S, Bayless T. Utilisation of erythrocyte 6-thioguanine metabolite levels to optimise azathioprine therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2001; 48: 642 - 646.
7. Decaux G, Prosperit F, Horsmans Y, Desager JP. Relationship between red cell mean corpuscular volume and 6-thioguanine nucleotids in patients treated with azathioprine. *J Lab Clin Med* 2000; 135: 256 - 262.
8. Dubinsky MC, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, Targa SR, Vasiliauskas EA. An open-label pilot study using thioguanine as a therapeutic alternative in Crohn's disease patients resistant to mercaptopurine therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7: 181 - 189.
9. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnet D, Theoret Y, Seidman EG. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 118: 705 - 713.
10. Dubinsky MC, Vasiliauskas EA, Singh H, Abreu MT, Papadakis KA, Tran T, Martin P, Vierling JM, Geller SA, Targan SR, Poordad F. 6-thioguanine can cause serious liver injury in inflammatory bowel disease patients. *Gastroenterology* 2003; 125: 298 - 303.
11. Herrlinger KR, Kreisel W, Schwab M, Fischer C, Schölmerich J, Fleig WE, Ruhl A, Reinshagen M, Metzler J, Fellerman K, Stange EF. 6-thioguanine-efficacy and safety in chronic active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 503 - 508.
12. Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Pike MG, Mays DC, Tremaine WJ, Lipsky JJ, Sandborn WJ. Measurement of thiopurine methyltransferase activity and azathioprine metabolites in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2001; 49: 665 - 670.

13. Poordad F, Vasiliauskas E, Abreu M, Tran T, Martin P, Vierling J, Targan SR, Geller S, Dubinsky M. Nodular regenerative hyperplasia (NRH) of the liver associated with 6-thioguanine (6-TG) therapy in inflammatory bowel disease. *Hepatology* 2002; 36: 333A.
14. Present DH, Meltzer SJ, Krumholz MP, Wolke A, Korelitz BI. Mercaptopurine in the management of inflammatory bowel disease: short- and long-term toxicity. *Ann Intern Med* 1989; 111: 641 - 649.
15. Sandborn WJ, Tremaine WJ, Wolf DC, Targan SR, Sninsky CA, Sutherland LR, Hanauer SB, McDonald JW, Feagan BG, Fedorak R, Isaacs KL, Pike MG, Mays DC, Lipsky JJ, Gordon S, Kleoudis CS, Murdock RH Jr. Lack of effect of intravenous administration on time to respond to azathioprine for steroid-treated Crohn's disease. North American Azathioprine Study Group. *Gastroenterology* 1999; 117: 527 - 535.
16. Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Sulphasalazine inhibition of thiopurine methyltransferase: possible mechanism for interaction with 6-mercaptopurine and azathioprine. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 39: 456 - 459.
17. Thomas CW, Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Myhre GM, Mays DC, Tremaine WJ, Lipsky JJ, Sandborn WJ. Erythrocyte mean corpuscular volume as a surrogate marker for 6-thioguanine nucleotide concentration monitoring in patients with inflammatory bowel disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 237 - 245.
18. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics; monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genetics* 1980; 32: 651 - 652.

Correspondence to: / Adresa pro korespondenci:

MUDr. Petra Chalupná, Gastroenterologické centrum VFN,
4. interní klinika VFN a 1. LF UK, U nemocnice 2, 128 08 Praha 2,
Česká republika / Czech Republic
E-mail: p.chalupna@seznam.cz