

# Monitorización de la tiopurina metiltransferasa y de los metabolitos tiopurínicos para optimizar el tratamiento con azatioprina en la enfermedad inflamatoria intestinal

Javier P. Gisbert, Yago González-Lama y José Maté

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de La Princesa. Universidad Autónoma. Madrid. España

## RESUMEN

La determinación de la actividad de la tiopurina metiltransferasa (TPMT) y de los metabolitos tiopurínicos (nucleótidos de la 6-tioguanina y 6-metilmercaptapurina) podría ser útil para monitorizar de forma individualizada la dosis de azatioprina (AZA) y 6-mercaptopurina (6-MP). La actividad de la TPMT en la población general sigue una distribución trimodal, en la que aproximadamente el 0,3% de los individuos son homocigotos para el alelo de baja actividad. Se ha demostrado una notable correlación entre el fenotipo o el genotipo de baja actividad de la TPMT y el riesgo de mielotoxicidad. Los pacientes con un genotipo o fenotipo homocigoto de alta actividad de la TPMT deberían recibir dosis de inmunosupresores que hayan demostrado ser claramente eficaces. Por el contrario, en los pacientes con genotipo o fenotipo homocigoto de baja actividad de la TPMT se debería contraindicar el empleo de AZA/6-MP o, en todo caso, sería obligado administrar dosis muy reducidas de estos fármacos. En cualquier caso, es importante recalcar que el déficit de TPMP explica únicamente un porcentaje de los casos de mielotoxicidad, por lo que los controles analíticos periódicos deben seguir realizándose en los pacientes que reciben AZA/6-MP, a pesar de que la función de esta enzima sea normal. Actualmente no está establecida la utilidad de determinar de forma sistemática los metabolitos tiopurínicos en los pacientes tratados con AZA/6-MP, y su cuantificación está limitada, en todo caso, a algunas circunstancias problemáticas, como la ausencia de respuesta al tratamiento tiopurínico o la aparición de efectos adversos tras éste. Se precisan estudios aleatorizados que comparen la estrategia habitual de dosificación de la AZA/6-MP (basada únicamente en el peso del paciente) frente a la monitorización

individualizada (basada en la cuantificación de la actividad de la TPMT y/o de los metabolitos tiopurínicos) para poder concluir definitivamente cuál es la alternativa más adecuada.

## MONITORING OF THIOPURINE METHYLTRANSFERASE AND THIOPURINE METABOLITES TO OPTIMIZE AZATHIOPRINE THERAPY IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Determination of the activity of thiopurine methyltransferase (TPMT) and of thiopurine metabolites (6-thioguanine and 6-methylmercaptapurine nucleotides) could be useful for individualized monitoring of azathioprine (AZA) and 6-mercaptopurine (6-MP) doses. TPMT activity in the general population follows a trimodal distribution, in which approximately 0.3% of the population is homozygotic for the low-activity allele. A notable correlation has been observed between the low TPMP activity genotype or phenotype and the risk of myelotoxicity. Patients with a high TPMT activity genotype or homozygous phenotype should receive immunosuppressive doses that have clearly been demonstrated to be effective. In contrast, in patients with a low TPMT activity genotype or homozygous phenotype, the use of AZA/6-MP should be contraindicated or only very small doses should be administered. Importantly, TPMP deficiency explains only some cases of myelotoxicity and consequently periodic laboratory testing should be performed in patients receiving AZA/6-MP, even though TPMP function may be normal.

Currently, the utility of routine thiopurine metabolite determinations in patients undergoing AZA/6-MP therapy has not been established and this practice should be limited to specific situations such as lack of response to thiopurine therapy or the occurrence of thiopurine-related adverse effects. Randomized trials comparing the routine strategy of AZA/6-MP dosing (based exclusively on the patient's weight) versus individualized monitoring (based on quantification of TPMP activity and/or thiopurine metabolites) are required before definitive conclusions on the most effective alternative can be drawn.

Este estudio ha sido financiado, en parte, por dos becas concedidas por el Instituto de Salud Carlos III (C03/02 y PIDJ0109).

Correspondencia: J.P. Gisbert.  
Playa de Mojácar, 29. Urb. Bonanza.  
28669 Boadilla del Monte. Madrid. España.  
Correo electrónico: gisbert@meditex.es

Recibido el 2-2-2006; aceptado para su publicación el 4-2-2006.

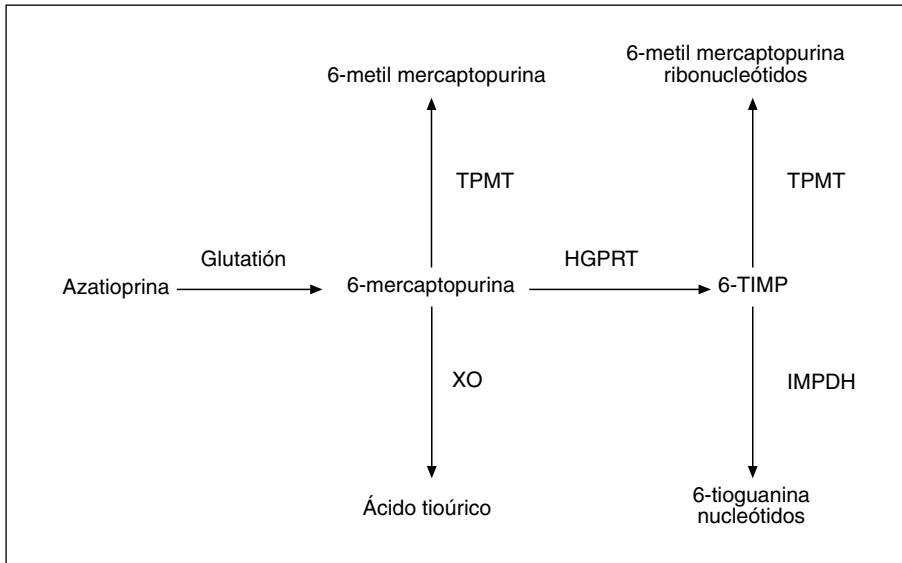


Fig. 1. Vía metabólica de la azatioprina. TPMT: tiopurina metiltransferasa; XO: xantina oxidasa; HGPRT: hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa; 6-TIMP: 6-tioinosina 5-monofosfato; IMPDH: inosina monofosfato deshidrogenasa.

## INTRODUCCIÓN

La azatioprina (AZA) y su metabolito la 6-mercaptopurina (6-MP) son análogos de las purinas con actividad inmunodepresora que se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades, entre las que se encuentra la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)<sup>1,2</sup>. En la enfermedad de Crohn y en la colitis ulcerosa los esteroides y los 5-aminosalicilatos suelen considerarse como los tratamientos de primera elección, mientras que la AZA y la 6-MP se emplean fundamentalmente en los pacientes que no responden al tratamiento con esteroides (corticorresistencia), en los que no es posible su reducción o eliminación (corticodependencia) o en los casos con enfermedad de Crohn fistulizante refractaria al tratamiento antibiótico<sup>1,2</sup>. La AZA sufre inicialmente una conversión no enzimática a 6-MP, la cual puede seguir diversas rutas metabólicas: puede ser metilada a través de la tiopurina metiltransferasa (TPMT), oxidada a ácido tiourico gracias a la xantina oxidasa, o catabolizada hacia los nucleótidos de la 6-tioguanina (6-TGN) a través de la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa (fig. 1)<sup>3</sup>. En suma, el efecto de la AZA y de la 6-MP es consecuencia fundamentalmente de su conversión intracelular en sus metabolitos activos, los 6-TGN<sup>3</sup>. Por el contrario, la enzima TPMT es responsable de la conversión de la AZA en sus metabolitos inactivos, la 6-metilmercaptopurina (6-MMP) y los ribonucleótidos de la 6-metilmercaptopurina (6-MMPR).

La dosis de AZA y 6-MP se ajusta habitualmente en función del peso del paciente. Así, diversos ensayos clínicos controlados han demostrado que en la enfermedad de Crohn la dosis efectiva de AZA es de 2-3 mg/kg/día, mientras que la posología correspondiente para la 6-MP sería de 1,5 mg/kg/día<sup>1,2</sup>. Con esta dosificación se pretende alcanzar la mayor eficacia terapéutica y, al mismo tiempo, reducir la incidencia de efectos adversos, aunque esto obviamente no siempre se consigue. No obstante, se han sugerido diversas estrategias para monitorizar de

forma individualizada y de modo más fiable la dosis de AZA/6-MP con la intención, por una parte, de identificar a los pacientes con riesgo de toxicidad por estos fármacos y, por otro, a los pacientes con dosis subterapéuticas e inmunodepresión inadecuada<sup>3-14</sup>. Entre estas estrategias se encuentra la determinación de los cambios en el volumen corpuscular medio, la confirmación de la inducción de una determinada leucopenia, la monitorización de la actividad de la TPMT y la cuantificación de los valores de 6-TGN; estas dos últimas opciones son las más prometedoras<sup>3-14</sup>.

La actividad de la enzima TPMT parece ser uno de los factores más relevantes en la regulación de las concentraciones de los 6-TGN. Así, en los pacientes con baja actividad de la TPMT se observan elevadas concentraciones de estos metabolitos, mientras que en los pacientes con alta actividad enzimática las concentraciones de los 6-TGN son bajas<sup>3-14</sup>. Por su parte, como se revisará más adelante, se ha observado que las concentraciones intracelulares de 6-TGN parecen estar relacionadas con la toxicidad y con el efecto terapéutico de la AZA/6-MP.

Hace unos pocos años se llevó a cabo una revisión sobre las diversas estrategias que podrían permitir monitorizar de forma individualizada la dosis de AZA/6-MP, haciendo especial hincapié en el papel de la determinación de la TPMT<sup>3</sup>. Desde entonces, se ha acumulado una notable experiencia relacionada con esta cuantificación, y se han publicado además diversos estudios que evalúan la utilidad de determinar las concentraciones de los metabolitos tiopurínicos (6-TGN, 6-MMP y 6-MMPR) con la intención de predecir tanto el efecto terapéutico de la AZA/6-MP como su posible toxicidad. En este artículo se revisará críticamente el papel que las mencionadas estrategias –determinación de TPMT y de metabolitos tiopurínicos– podrían tener en la optimización del tratamiento y el seguimiento de los pacientes con EII que precisan recibir AZA o 6-MP.

Para llevar a cabo esta revisión se realizó una búsqueda bibliográfica en internet hasta enero de 2006, empleando

el motor de búsqueda en PubMed. Se utilizaron en todos los campos de búsqueda los siguientes descriptores o palabras clave: *thiopurine methyltransferase* o TPMT o *nucleotides* o *6-thioguanine* o *tioguanine* o *thioguanine* o *6-methylmercaptapurine* o 6-TGN, y *azathioprine* o *mercaptopurine*, y *ulcerative colitis* o *Crohn's disease* o *inflammatory bowel disease*. Asimismo, se revisaron las referencias bibliográficas incluidas en las revisiones identificadas sobre el tema, así como la bibliografía utilizada en los artículos incluidos. Se tuvieron en consideración los artículos publicados en cualquier idioma, menos en japonés.

## MONITORIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA TPMT

### Distribución de la actividad de la TPMT en la población

La farmacocinética de la AZA está sujeta a una importante variabilidad interindividual que se debe, en gran parte, a un significativo polimorfismo genético de la TPMT. Se han descrito 2 alelos que codifican 2 variantes enzimáticas, una de alta y otra de baja actividad<sup>15</sup>. De este modo, desde el punto de vista genotípico, hace ya más de dos décadas que Weinshilboum y Sladek<sup>16</sup> estudiaron una muestra aleatoria de población de aproximadamente 300 individuos y establecieron el siguiente modelo de distribución trimodal: el 88,6% eran homocigotos para el alelo de alta actividad (TPMT<sup>HH</sup>), el 11,1% eran heterocigotos (TPMT<sup>HL</sup>) y tan sólo el 0,3% eran homocigotos para el alelo de baja actividad (TPMT<sup>LL</sup>).

Posteriormente, otros autores han cuantificado la actividad de esta enzima en función del genotipo del paciente<sup>17,18</sup> y han encontrado los siguientes valores: sujetos homocigotos para el alelo de alta actividad (valores altos, > 13,8 U/ml hematíes), sujetos heterocigotos (valores intermedios, 5-13,7 U/ml) y sujetos homocigotos para el alelo de baja actividad (valores bajos, < 5 U/ml). En nuestro medio, un estudio inicial llevado a cabo sobre 135 pacientes con EII no logró identificar ningún paciente con baja actividad de la TPMT (< 5 U/ml)<sup>19</sup>. Más recientemente, otro estudio multicéntrico español con un grupo muy numeroso (7,046 pacientes con EII) permitió establecer la siguiente distribución de la actividad de la TPMT: valores bajos (< 5 U/ml) en el 0,5% de los casos, valores intermedios en el 11,1% y valores altos en el 88,4% de los casos<sup>20</sup>. Estos hallazgos son superponibles a los descritos en un estudio<sup>21</sup>, también realizado en nuestro país, sobre 14.545 pacientes con diversas enfermedades (EII y otras) susceptibles de recibir tratamiento con AZA o 6-MP, al demostrar que tan sólo el 0,5% de los pacientes tenían una actividad de la TPMT clasificada como baja.

### Genotipo y actividad de la TPMT

Hay 2 estrategias para identificar a los pacientes con deficiencia de TPMT: la medición de la actividad de esta enzima en los eritrocitos (es decir, el fenotipo) y la determinación de las diversas mutaciones presentes en el ADN celular (esto es, el genotipo). Diversos autores han detec-

tado la presencia de mutaciones de la TPMT mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y digestión con enzimas de restricción<sup>22-36</sup>. Múltiples estudios han demostrado una elevada concordancia entre la clasificación genotípica y fenotípica de la actividad de la TPMT, que ha sido tan alta como del 97-98%<sup>23,37</sup>, o incluso del 100%<sup>27</sup> en algunos casos, aunque otros autores han comprobado que estos favorables resultados sólo se observan en los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad de la TPMT, pero no en los heterocigotos<sup>18</sup>.

### Ventajas e inconvenientes de la determinación del fenotipo y del genotipo de la TPMT

Una ventaja teórica de la determinación del fenotipo es que éste podría indicar con más fidelidad la actividad real de la enzima, pues la manifestación fenotípica de un determinado genotipo no es siempre la misma, sino que puede depender de diferentes variables, como la edad, el sexo, la dieta, la presencia de insuficiencia renal o el tratamiento con algunos fármacos<sup>38-46</sup>. Así, por ejemplo, diversos tratamientos farmacológicos, algunos de ellos de uso frecuente en la EII, podrían modificar teóricamente la actividad de la TPMT<sup>47-52</sup>. Además, la determinación del genotipo permite únicamente clasificar a los pacientes, como hemos visto, en tres grandes grupos (homocigotos TPMT<sup>HH</sup>, heterocigotos TPMT<sup>HL</sup> y homocigotos TPMT<sup>LL</sup>), mientras que la cuantificación de la actividad enzimática podría permitir, en teoría, la individualización de la dosis de AZA/6-MP en cada paciente, incluso en los que presentan un genotipo «normal» (homocigotos de alta actividad)<sup>53</sup>; en este último grupo hay una notable variabilidad interindividual en la actividad de la TPMT, y es posible que ello implique la necesidad de administrar dosis distintas de fármacos inmunodepresores. Por último, aunque la determinación del genotipo de la TPMT permite detectar la gran mayoría de los pacientes con actividad enzimática reducida, hay la posibilidad de que alguna variante alélica pueda quedar sin identificar<sup>13</sup>. Por su parte, la determinación del genotipo de la TPMT tiene una serie de ventajas, como su sencillez (la automatización progresiva del diagnóstico molecular es ya una realidad), su rapidez (los resultados se obtienen en unas pocas horas) y el precio relativamente bajo de la técnica<sup>22,30,54</sup>. Además, puesto que el genotipo no varía en un determinado paciente, sólo necesita ser determinado una única vez. Finalmente, la medición de la actividad eritrocitaria de la TPMP (el fenotipo) puede modificarse si se ha recibido una transfusión de hematíes en las últimas semanas<sup>55,56</sup> o en presencia de insuficiencia renal<sup>57</sup>, mientras que la clasificación genotípica no se verá influenciada por estas circunstancias.

### Actividad de la TPMT y riesgo de mielotoxicidad debida a AZA/6-MP

La leucopenia es el efecto adverso más frecuentemente producido por la AZA y la 6-MP, alteración analítica que

acontece entre el 5 y el 25% de los pacientes que reciben este tratamiento<sup>58-61</sup>. Más raramente, la mielotoxicidad aparece como una forma más aguda y grave, generalmente de leucopenia o pancitopenia<sup>58,62,63</sup>. Diversos estudios han evidenciado una correlación entre el fenotipo o el genotipo de la TPMT y el riesgo de mielotoxicidad<sup>13,17,18,24-27,39,40,54,58,64-74</sup>. De este modo, los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad de la TPMT tienen un riesgo aumentado de sufrir mielotoxicidad grave debido al exceso de acumulación de 6-TGN, como consecuencia de que una cantidad mayor de 6-MP se metaboliza por la ruta enzimática de la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa<sup>17,38</sup>. Algunos autores han descrito incidencias de mielotoxicidad de hasta el 100% en los sujetos homocigotos para el alelo de baja actividad, pero de tan sólo el 7% en los individuos con una actividad enzimática normal<sup>27</sup>.

No obstante, no todos los estudios coinciden en demostrar una estrecha correlación entre la actividad de TPMT y el riesgo de mielotoxicidad<sup>71,75-79</sup>. Recientemente, se ha evaluado en nuestro medio si aparece dicha correlación en los pacientes con EII tratados con AZA/6-MP<sup>19</sup> y, como se ha mencionado previamente, no se detectó ningún paciente con valores enzimáticos bajos (< 5 U/ml). Por tanto, ninguno de los pacientes con efectos adversos hematológicos tuvo una actividad de la TPMP anormalmente baja, pero ni siquiera intermedia (entre 5 y 13,7 U/ml). En un estudio posterior, también español, se evaluó prospectivamente si la elección de la dosis de AZA/6-MP basada en la actividad de la TPMT era capaz de prevenir la aparición de mielotoxicidad en 131 pacientes con EII<sup>80</sup>. En coincidencia con la experiencia previa, entre los 4 pacientes que presentaron efectos adversos hematológicos, uno tenía una actividad de TPMT intermedia, mientras que 3 tenían, incluso, valores de actividad elevada<sup>80</sup>. En resumen, si bien parece evidente que los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad de la TPMT tienen un riesgo aumentado de sufrir mielotoxicidad grave por AZA/6-MP, la verdadera utilidad de determinar de forma sistemática la actividad de la TPMT con la intención de identificar a los pacientes con EII y riesgo de mielotoxicidad no está definitivamente establecida.

El grado de déficit de actividad de la TPMT parece guardar relación con el período transcurrido entre la administración del tratamiento con AZA/6-MP y la aparición de los efectos adversos hematológicos. Así, se ha descrito que este período de latencia es corto (de aproximadamente unas semanas o unos pocos meses) en los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad, mientras que sería algo más prolongado en los heterocigotos, y más aún en los homocigotos, para el alelo de alta actividad<sup>39,58</sup>. De estos datos se deduce que la neutropenia que aparece precozmente tras haber comenzado el tratamiento, considerada hasta ahora como un efecto adverso de tipo idiosincrásico, se debe en muchos casos al déficit –fundamentalmente absoluto– de actividad de la TPMP. Por otra parte, la toxicidad medular tardía que ocasionalmente se identifica en los pacientes tratados con AZA/6-

MP estaría relacionada, posiblemente, con otros factores distintos de la deficiencia de TPMT.

### Actividad de la TPMT y efectos secundarios distintos de la mielotoxicidad

Aunque la hepatotoxicidad asociada al tratamiento con AZA o 6-MP está bien documentada, sus mecanismos patogénicos son aún desconocidos. Se ha comprobado que una actividad elevada de la TPMT tiene como consecuencia la acumulación de 6-MMP y 6-MMMP, metabolitos que, aunque son inactivos, parecen incrementar, como se revisará más adelante, el riesgo de hepatotoxicidad<sup>26,27,81-83</sup>. No obstante, otros autores no han podido demostrar ninguna relación entre la deficiencia de la TPMT y la toxicidad hepática<sup>18,25,27</sup>, por lo que el verdadero papel que esta enzima desempeña en la predicción de los efectos adversos hepáticos es aún controvertido.

La posible relación entre la actividad de la TPMT y la incidencia de efectos adversos no hematológicos ni hepáticos, como la intolerancia digestiva o las diversas reacciones de tipo idiosincrásico, no está en absoluto establecida<sup>73,75,78,84</sup>. Algunos autores han sugerido que la incidencia de efectos adversos gastrointestinales podría estar también relacionada con un déficit de actividad de la TPMT<sup>26,74,85,86</sup>, aunque estos resultados deberán ser confirmados en el futuro.

En resumen, se precisan más estudios para poder esclarecer definitivamente si la actividad de la TPMT está relacionada con la aparición de otros efectos adversos diferentes de la mielotoxicidad, como la hepatotoxicidad, la intolerancia digestiva o las reacciones de tipo idiosincrásico (p. ej., pancreatitis)<sup>9,13</sup>.

### Actividad de la TPMT y eficacia clínica de la AZA/6-MP

Mediante la determinación de la actividad enzimática de la TPMT no sólo podría estimarse el riesgo de sufrir efectos adversos hematológicos, sino también la probabilidad de que la dosis administrada de AZA/6-MP esté produciendo la inmunodepresión adecuada y el consiguiente efecto terapéutico. Así, se ha sugerido que los pacientes homocigotos para el alelo de alta actividad de la TPMT, y especialmente los que presentan una actividad muy elevada de esta enzima, estarían indebidamente inmunosuprimidos con la posología convencional de AZA/6-MP y podrían beneficiarse de dosis más elevadas de este fármaco<sup>17,40,74,79,87-89</sup>. Esto se debería a la creación de un *shunt* o cortocircuito preferencial desde la AZA hacia la vía de los metabolitos inactivos (6-MMP y 6-MMMP), perfil que definiría a los pacientes «resistentes» a la AZA/6-MP<sup>6,11,81,82,90,91</sup>. No obstante, una vez más, se han publicado artículos con resultados discordantes, donde no ha podido demostrarse una correlación entre la actividad de la TPMT y la respuesta al tratamiento con AZA/6-MP<sup>77,92</sup>.

### ¿Cómo se puede ajustar la dosis de AZA/6-MP en función de la actividad de la TPMT?

Se ha sugerido que, según la actividad de la TPMT, se podría actuar básicamente de 3 formas. Los pacientes con un genotipo homocigoto de alta actividad (o con actividad elevada de la TPMT) deberían recibir dosis de inmunosupresores que hayan demostrado ser claramente eficaces; por ejemplo, en el caso de la EII, entre 2 y 3 mg/kg/día de AZA, y aproximadamente 1,5 mg/kg/día de 6-MP<sup>93</sup>. En estos pacientes, además, podrían administrarse dosis «de carga» de estos fármacos en determinadas circunstancias clínicas que precisen una actividad terapéutica inmediata<sup>94</sup>. En los pacientes con genotipo heterocigoto o con actividad intermedia de la TPMT se ha sugerido que la dosis inicial de AZA/6-MP debería reducirse empíricamente hasta cerca del 50%<sup>5,6,9,11,13,93</sup>, puesto que algún estudio ha demostrado una mayor incidencia de efectos adversos de la AZA también en ellos<sup>74</sup>. No obstante, otros autores no han podido confirmar una mayor frecuencia de mielotoxicidad en los pacientes heterocigotos<sup>92</sup>, y se ha propuesto que la mencionada recomendación de reducir a la mitad la dosis de AZA/6-MP en los pacientes con actividad intermedia no parece estar basada en evidencias científicas sólidas, por lo que otra opción igualmente válida es utilizar dosis plenas de AZA/6-MP también en estos casos. Finalmente, ante un paciente con un genotipo o fenotipo homocigoto de baja actividad de la TPMT, se debería contraindicar el empleo de AZA/6-MP o, en todo caso, sería obligada la prescripción de dosis muy reducidas de estos fármacos (p. ej., un 10-15% de la dosis estándar)<sup>18,27,38,93,95,96</sup>. En este sentido, algunos autores han demostrado que a pesar de que haya una deficiencia completa de TPMT es posible administrar finalmente tratamiento con AZA/6-MP, aunque en mínimas dosis y bajo un estricto control clínico y analítico<sup>18,87,97</sup>.

### Interacción entre diversos fármacos y la actividad de la TPMT

Se ha sugerido que el propio tratamiento con AZA podría incrementar la actividad de la TPMT. No obstante, los investigadores que han descrito la mencionada interacción lo han hecho fundamentalmente en pacientes con trasplante renal<sup>40,47,57</sup> o leucemia<sup>42,43</sup>, situaciones en que se administra tratamiento concomitante con otros fármacos que podrían ser realmente los responsables de la inducción de la TPMT. Además, recientemente se ha demostrado que la uremia en los pacientes sometidos a trasplante renal incrementa la actividad de la TPMT<sup>57</sup>. Hasta el momento, sólo en un estudio se ha evaluado la inducción de la actividad de la TPMT en controles sanos tras la administración de 6-MP, sin poder demostrar ningún efecto<sup>98</sup>, lo que coincide con lo observado en pacientes con EII<sup>19,20</sup> u otras enfermedades<sup>21</sup>.

Diversos estudios farmacológicos realizados tanto *in vitro* como *in vivo* han evidenciado una inhibición de la TPMT o un incremento en los 6-TGN debidos al tratamiento con

sulfasalazina o 5-aminosalicilatos<sup>48-50,92,99-102</sup>. Sin embargo, muchos otros estudios llegan a la conclusión de que estos fármacos no parecen modificar de forma clínicamente relevante la actividad enzimática de la TPMT o los valores de 6-TGN, al inducir únicamente cambios mínimos, tanto *in vitro*<sup>103</sup> como *in vivo*<sup>19,20,26,50,77,79,82,84,101,102,104-107</sup>. Por tanto, el posible sinergismo entre la AZA/6-MP y los 5-aminosalicilatos no está establecido, pero, en todo caso, éste no estaría mediado por una inhibición de la TPMT.

Por último, el tratamiento concomitante con alopurinol parece incrementar el riesgo de mielotoxicidad debida a la AZA/6-MP<sup>38,108-110</sup>. Por una parte, no hay evidencia de que este fármaco interactúe con la TPMP. Por otra, como es sabido, la enzima xantina oxidasa metaboliza tanto la 6-MP como los 6-TGN hasta ácido tiourico (un metabolito inactivo), y el alopurinol actúa como un inhibidor competitivo de dicha enzima. De este modo, con la intención de favorecer la producción de 6-TGN, se ha llegado a administrar este fármaco en pacientes que no responden al tratamiento con AZA/6-MP y que tienen un exceso de síntesis de 6-MMP<sup>110</sup>. Aunque el objetivo de elevar las concentraciones de 6-TGN se cumplió en el mencionado estudio, no se evaluó con precisión si ello se acompañaba o no de una mejoría en la actividad de la EII<sup>110</sup>, por lo que la relevancia clínica de este hallazgo está aún por confirmar. En cualquier caso, parece prudente extremar los controles hematológicos en los pacientes tratados con AZA/6-MP que reciben concomitantemente alopurinol.

### ¿Está indicado hacer un seguimiento de la actividad de la TPMT en todos los pacientes que vayan a recibir tratamiento con AZA o 6-MP? ¿Cuál es su relación coste-beneficio?

Como se ha mencionado previamente, los resultados «negativos» obtenidos por algunos estudios, en los que la determinación de la actividad de la TPMT no muestra una utilidad clínica para identificar a los pacientes con EII y riesgo de mielotoxicidad, plantean dudas sobre si realmente está indicada la monitorización sistemática de la actividad de esta enzima en todos los pacientes que vayan a recibir tratamiento con AZA o 6-MP. Sin embargo, los resultados más alentadores de otros estudios ya comentados, que demuestran que el conocimiento de la actividad de la TPMP permite predecir con notable fiabilidad la aparición de efectos adversos hematológicos graves argumentan a favor de la determinación sistemática del genotipo o fenotipo de esta enzima en los pacientes que van a recibir tratamiento tiopurínico<sup>17,27,30,93,111</sup>. Es posible que la decisión final dependa en gran medida de la proporción de pacientes no sólo homocigotos para el alelo de baja actividad sino, y más importante, de la proporción de sujetos heterocigotos (ya que este subgrupo constituye aproximadamente un 10%, una cifra ya mucho más relevante)<sup>16</sup>. De todos modos, la prevalencia del genotipo o fenotipo homocigoto de baja actividad de la TPMT, aunque relativamente baja, es suficientemente elevada (1

entre 300) y las complicaciones de la potencial mielosupresión suficientemente graves como para que diversos autores hayan recomendado la determinación sistemática de dicho parámetro antes de comenzar el tratamiento con AZA/6-MP.

Es evidente que se precisan más estudios, no sólo clínicos sino también de coste-beneficio, para aclarar definitivamente esta cuestión. Así, es posible que el estudio de la actividad de la TPMT en todos los pacientes sea coste-efectiva si tenemos en cuenta lo costoso del tratamiento de los pacientes con mielotoxicidad grave inducida por AZA/6-MP<sup>25,54</sup>. En este sentido, Tavadía et al<sup>54</sup> han calculado el coste de la determinación sistemática de la actividad de la TPMT basándose en los resultados de un caso real de toxicidad medular ocurrido en su propio centro. Los autores llegan a la conclusión de que esta actitud sería «neutra» desde el punto de vista económico si se asume que la mielotoxicidad aparece únicamente en los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad de la TPMT, pero sería coste-efectiva si, como algunos investigadores han sugerido que ocurre realmente, los efectos adversos aparecen también en los pacientes heterocigotos<sup>54</sup>.

Otros autores han llevado a cabo una evaluación farmacoeconómica de la determinación sistemática de la actividad de la TPMT, para lo cual han desarrollado modelos de análisis de decisión, y han concluido que esta estrategia es coste-efectiva<sup>112,113</sup>. En el primero de estos análisis se tuvo en cuenta tanto el coste de la determinación de la TPMT como el derivado de la leucopenia y las infecciones asociadas<sup>112</sup>. En el segundo modelo de análisis de decisión se consideró también el impacto de la determinación de la TPMT sobre la eficacia terapéutica de la AZA/6-MP<sup>113</sup>. Estos alentadores resultados coinciden con los descritos en otras enfermedades, como la artritis reumatoide o el lupus eritematoso sistémico, donde la determinación del genotipo de la TPMT ha demostrado tener también una favorable relación coste-beneficio<sup>114,115</sup>.

No obstante, no debemos olvidar que los modelos de análisis de decisión se basan en diversas hipótesis respecto a los costes y los beneficios, y las probabilidades de los distintos desenlaces se basan en datos obtenidos de la literatura médica, por lo que sus resultados pueden no ser aplicables en todos los medios. De ello se deduce que un modelo de análisis de decisión no debe reemplazar a un buen diseño prospectivo. Precisamente, un reciente estudio aleatorizado ha comparado la estrategia «clásica» (comenzar con una dosis baja de AZA e ir incrementando ésta progresivamente) frente a la «personalizada» (en la que tras la determinación de la actividad de la TPMP se administraba AZA en dosis de 2,5 mg/kg)<sup>76</sup>. Aunque únicamente se incluyó a 29 pacientes y el seguimiento fue relativamente corto, los autores demuestran que la estrategia basada en la determinación de la TPMP no permite predecir la aparición de efectos adversos y, además, se asocia con un incremento de los costes<sup>76</sup>. Por tanto, es evidente que los aspectos económicos relacionados con la monitorización de la TPMT precisan un mayor y mejor estudio. De todos modos, como en cualquier decisión médica, es preciso tener presente no sólo los condicionantes

económicos, sino también, y fundamentalmente, los éticos. De esta forma, si es posible llevar a cabo una determinación analítica que permita evaluar los riesgos de la AZA, o incluso utilizar una dosis completa más precozmente, parecería apropiado ofrecérsela al paciente, siempre que sus costes sean asumibles.

### **El seguimiento de la actividad de la TPMT, ¿evita la necesidad de realizar controles analíticos sistemáticos?**

Para responder a esta pregunta es necesario plantearse, en primer lugar, si el déficit de TPMT es responsable de todos los casos de mielotoxicidad o, por el contrario, hay otros factores que pueden desencadenar esta complicación. Diversos estudios han demostrado que el fenotipo o el genotipo asociado con el déficit de TPMP explica un porcentaje variable de casos de mielotoxicidad, pero que en ningún caso llega a ser del 100%<sup>3-14</sup>. Por tanto, se concluye que diversos factores –algunos conocidos, ambientales o farmacológicos, y otros aún no identificados– no relacionados con la actividad de la TPMP pueden ser responsables de la mielotoxicidad producida por la AZA/6-MP, por lo que los controles analíticos periódicos deben seguir realizándose en estos pacientes a pesar de que la función de esta enzima sea rigurosamente normal.

## **CONTROL DE LOS METABOLITOS TIOPURÍNICOS**

### **Correlación entre actividad de la TPMT y valores de 6-TGN**

Los metabolitos tiopurínicos están representados fundamentalmente por los 6-TGN, la 6-MMP y los 6-MMPR. Los 6-TGN pueden determinarse en el interior de los eritrocitos mediante técnicas de cromatografía de alta resolución, y se ha demostrado que la concentración intraeritrocitaria refleja la que presentan los tejidos<sup>116</sup>. En general, se ha considerado que los pacientes con baja actividad de la TPMT se asocian con unos valores elevados de 6-TGN<sup>26,64,72,87,90,92,104,106,117-125</sup>, lo que, como se ha revisado previamente, parece implicar un mayor riesgo de mielotoxicidad. Sin embargo, diversos autores han puesto de manifiesto que el conocimiento de la actividad de la TPMT en un determinado paciente no nos indica con precisión si en él predomina la vía metabólica de los 6-TGN o la de los 6-MMPR y, por tanto, han descrito una escasa o incluso nula correlación entre la actividad enzimática de la TPMT y las concentraciones intracelulares de 6-TGN<sup>26,74,77,90,92,106,126-129</sup>.

### **Concentraciones de metabolitos tiopurínicos y riesgo de mielotoxicidad debida a AZA/6-MP**

Se ha sugerido que las concentraciones intracelulares de 6-TGN estarían relacionadas con la toxicidad medular de

la AZA. Así, diversos autores han descrito una correlación entre los valores de estos metabolitos y la incidencia de leucopenia<sup>25,26,43,50,51,64,84,122,128,130-132</sup>. Sin embargo, en otros estudios no se ha podido comprobar la relación entre el recuento leucocitario de los pacientes tratados con AZA o 6-MP y las concentraciones séricas de 6-TGN<sup>26,91,92,104,107,120,126,133</sup>, lo que cuestiona seriamente la idea de que estos metabolitos sean los principales responsables de la mielosupresión asociada al tratamiento tiopurínico. Por otra parte, la administración directa de tioguanina no parece incrementar el riesgo de mielotoxicidad, a pesar de que va seguida de un incremento notable de las concentraciones de 6-TGN, mucho más elevadas que las descritas habitualmente en los pacientes tratados con AZA/6-MP<sup>14,134-136</sup>. Más aun, en estos últimos estudios el tratamiento con tioguanina –y los consiguientes valores elevados de 6-TGN– no se correlacionaron, paradójicamente, con la incidencia de efectos adversos hematológicos<sup>134,135,137,138</sup>. En resumen, si bien es cierto que algunos estudios han descrito una relación evidente entre las concentraciones elevadas de 6-TGN y la mielotoxicidad, otros no han podido demostrar dicha asociación, lo que obliga a continuar investigando en esta línea.

#### Concentraciones de metabolitos tiopurínicos y riesgo de hepatotoxicidad debida a AZA/6-MP

Como se ha mencionado previamente, los pacientes con baja actividad de la TPMT tienen, con frecuencia, valores altos de 6-TGN; en sentido contrario, una actividad elevada de la TPMT va seguida de una producción excesiva de 6-MMP/6-MMPR, lo que podría comportar un riesgo aumentado de hepatotoxicidad. De este modo, diversos estudios han confirmado que la acumulación de 6-MMP/6-MMPR (en concentraciones mayores de  $5.700 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  hematíes) incrementa el riesgo de sufrir efectos adversos hepáticos<sup>6,26,81-83,104</sup>, aunque no todos los autores coinciden en ello<sup>62</sup>. No obstante, es preciso recalcar que la excesiva actividad de la TPMT no es la única causa que condiciona el metabolismo preferencial de la AZA por la vía de la 6-MMP/6-MMPR, pues se ha demostrado una desproporcionada acumulación de estos metabolitos en algunos pacientes con actividad normal de la TPMT<sup>82</sup>. Puesto que la hepatotoxicidad puede tardar en aparecer varias semanas tras haberse detectado unos valores excesivos de 6-MMP/6-MMPR, algún autor ha recomendado la reducción de la dosis de AZA/6-MP precozmente, para así «adelantarnos» a la aparición de estos efectos adversos<sup>82</sup>.

#### Concentraciones de metabolitos tiopurínicos y eficacia clínica de la AZA/6-MP

Dado que los 6-TGN son los metabolitos tiopurínicos activos, sería lógico pensar que sus concentraciones séricas podrían ser útiles para ajustar la dosis de AZA/6-MP. Así, algunos autores han demostrado que los pacientes con EII

tratados con AZA/6-MP que responden favorablemente y alcanzan la remisión clínica tienen unos valores medios de 6-TGN superiores a los de los pacientes en que ha fracasado el tratamiento inmunomodulador<sup>26,87,89,90,104,106,107,120,127,139,140</sup>. Estudios recientes han confirmado que los pacientes tratados con dosis bajas de AZA/6-MP tienen unas concentraciones subterapéuticas de 6-TGN, y que al incrementar progresivamente la dosis de los fármacos tiopurínicos se logra alcanzar valores más elevados de estos metabolitos y se consigue así una mejor respuesta clínica<sup>84,120</sup>, si bien otro estudio demuestra que este objetivo únicamente se consigue en una minoría de los pacientes<sup>82</sup>.

En sentido contrario, en otros estudios no se ha podido comprobar ninguna relación entre la actividad de la EII de los pacientes tratados con AZA/6-MP y las concentraciones séricas de 6-TGN y, de hecho, se han descrito numerosos pacientes que han logrado la remisión clínica con estos inmunomoduladores a pesar de no alcanzar unos valores de 6-TGN considerados «suficientes»<sup>77,91,92,126,128,133,141</sup>. Más aun, tras la administración directa de tioguanina se obtuvieron, en 2 estudios muy recientes, unas concentraciones impredecibles de 6-TGN, y además estas últimas no se correlacionaron claramente con la eficacia terapéutica<sup>134,135</sup>.

Finalmente, cabe destacar que incluso en los estudios en que se evidencia una diferencia en los valores de 6-TGN entre los pacientes con y sin respuesta clínica, no se ha podido identificar un punto de corte nítido que pueda discriminar de forma certera entre ambos grupos. De este modo, la notable amplitud de los rangos observados en pacientes en remisión o en actividad, y la superposición entre los valores de 6-TGN, hace casi imposible elaborar una aproximación diagnóstica común razonable.

En la tabla I se resumen los estudios que han evaluado la utilidad de determinar los valores de 6-TGN como marcadores de eficacia del tratamiento con AZA/6-MP, y a partir de los que se puede calcular la exactitud diagnóstica de dicha cuantificación<sup>26,87,89-92,120,126,128,139-141</sup>. Otros autores han determinado también estos metabolitos tiopurínicos, pero la presentación de los resultados no ha permitido la valoración de un punto de corte concreto<sup>77,106,107,133</sup>. A partir de los estudios incluidos en la tabla I se puede comparar la probabilidad de detectar unas concentraciones de 6-TGN superiores a un determinado punto de corte en los pacientes en remisión y en actividad. Así, como se representa gráficamente en la figura 2, la *odds ratio* para esta asociación es de 3,16 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,8-5,6), lo que indica que, efectivamente, la probabilidad de encontrar unos valores de 6-TGN por encima de un determinado punto de corte es, aproximadamente, 3 veces mayor en los pacientes en remisión que en los que presentan actividad clínica. Sin embargo, la traducción práctica de esta asociación es escasa, pues la detección de unas concentraciones de 6-TGN superiores a un cierto valor tiene una sensibilidad y una especificidad para el diagnóstico de la remisión clínica en los pacientes con EII tratados con AZA/6-MP de tan sólo el 60 y el 58%, respectivamente (fig. 3).

**TABLA I. Estudios que evalúan la utilidad de determinar las concentraciones de los nucleótidos de la 6-tioguanina (6-TGN) como marcadores de eficacia del tratamiento con azatioprina/6-mercaptopurina en pacientes con enfermedad de Crohn (EC) o colitis ulcerosa (CU)**

| Autor                            | Valores de 6-TGN (PC) | Población        | N.º de pacientes total/en remisión | Probabilidad de tener 6-TGN > PC en pacientes en remisión | Probabilidad de tener 6-TGN > PC en pacientes en actividad | Sensibilidad (%) <sup>c</sup> | Especificidad (%) <sup>c</sup> |
|----------------------------------|-----------------------|------------------|------------------------------------|---|--|-------------------------------|--------------------------------|
| Achkar et al <sup>139</sup>      | > 235 <sup>a</sup>    | EC y CU, adultos | 60/24                              | 19/24 (79%)   | 21/36 (58%)  | 19/24 (79%)                   | 15/36 (42%)                    |
|                                  | > 260 <sup>b</sup>    |                  |                                    | 16/24 (67%)   | 15/36 (42%)  |                               |                                |
| Belaiche et al <sup>126</sup>    | > 230 <sup>a</sup>    | EC, adultos      | 28/19                              | 6/19 (32%)  | 2/9 (22%)  | 6/19 (32%)                    | 7/9 (78%)                      |
|                                  | > 250 <sup>b</sup>    |                  |                                    | 5/19 (26%)  | 1/9 (11%)  | 5/19 (26%)                    | 8/9 (89%)                      |
| Cuffari et al <sup>140</sup>     | > 250                 | EC y CU, adultos | 82/42                              | 32/42 (76%)   | 9/40 (23%)   | 32/42 (76%)                   | 31/40 (78%)                    |
| Cuffari et al <sup>120</sup>     | > 250                 | EC y CU, adultos | 82/45                              | 31/45 (69%)   | 5/37 (14%)   | 31/45 (69%)                   | 32/37 (86%)                    |
| Cuffari et al <sup>87</sup>      | > 292                 | EC y CU, adultos | 40/17                              | 12/17 (71%)   | 2/23 (8,7%)  | 12/17 (71%)                   | 21/23 (91%)                    |
| Derijks et al <sup>90</sup>      | > 235                 | EC y CU, adultos | 10/6                               | 5/6 (83%)   | 1/4 (25%)  | 5/6 (83%)                     | 3/4 (75%)                      |
| Dubinsky et al <sup>26</sup>     | > 235                 | EC y CU, niños   | 92/30                              | 69/103 (67%)  | 20/70 (29%)  | 69/103 (67%)                  | 50/70 (71%)                    |
| Goldenberg et al <sup>91</sup>   | > 235                 | EC y CU, adultos | 74/15                              | 7/15 (47%)  | 22/59 (37%)  | 7/15 (47%)                    | 37/59 (63%)                    |
| Gupta et al <sup>128</sup>       | > 235                 | EC y CU, niños   | 101/47                             | 20/47 (42%)   | 16/54 (30%)  | 20/47 (42%)                   | 38/54 (70%)                    |
| Lowry et al <sup>92a</sup>       | > 230                 | EC y CU, adultos | 170/114                            | 45/114 (39%)  | 26/56 (46%)  | 45/114 (39%)                  | 30/56 (54%)                    |
|                                  | > 250                 |                  |                                    | 40/114 (35%)  | 20/56 (36%)  | 40/114 (35%)                  | 36/56 (64%)                    |
| Paerregaard et al <sup>127</sup> | > 235 <sup>a</sup>    | EC y CU, niños   | 19/7                               | 7/7 (100%)  | 8/9 (89%)  | 7/7 (100%)                    | 1/9 (11%)                      |
|                                  | > 250 <sup>b</sup>    |                  |                                    | 7/7 (100%)  | 7/9 (78%)  | 7/7 (100%)                    | 2/9 (22%)                      |
| Roblin et al <sup>89b</sup>      | > 250                 | EC y CU, adultos | 106/63                             | 63/63 (100%)  | 27/43 (63%)  | 63/63 (100%)                  | 16/43 (37%)                    |
| Wusk et al <sup>141</sup>        | > 235                 | EC y CU, adultos | 158/83                             | 67/83 (81%)   | 62/75 (83%)  | 67/83 (81%)                   | 13/75 (23%)                    |

<sup>a</sup>Método de cuantificación de 6-TGN distinto del habitual (por lo que se ha llevado a cabo su conversión a las unidades habituales).

<sup>b</sup>Remisión clínica a los 12 meses.

<sup>c</sup>Sensibilidad y especificidad del empleo de los valores de 6-TGN (> PC) para el diagnóstico de la remisión clínica en los pacientes tratados con azatioprina o 6-mercaptopurina. Unidades de medida de 6-TGN: pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes.

PC: punto de corte.

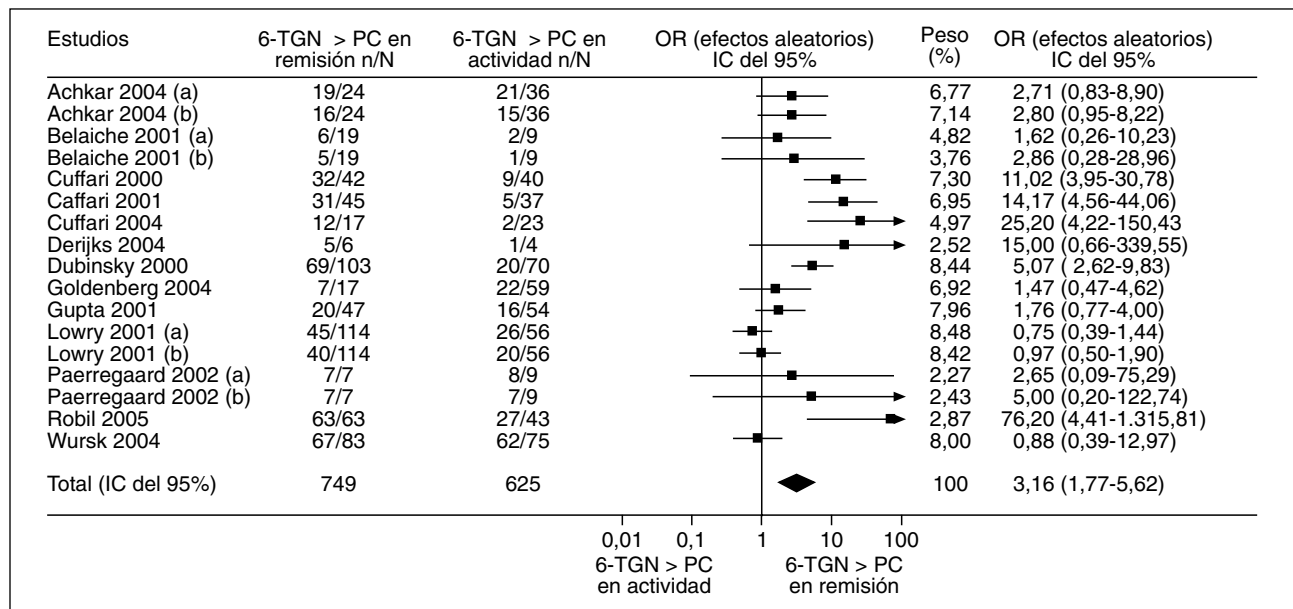


Fig. 2. Asociación entre las concentraciones de los nucleótidos de la 6-tioguanina (6-TGN) y la remisión clínica en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal tratados con azatioprina o 6-mercaptopurina. (a) y (b) indican diferentes puntos de corte para las concentraciones de los nucleótidos de la 6-tioguanina (véase tabla I para más detalles). IC: intervalo de confianza; OR: odds ratio; PC: punto de corte.



Además, como también puede observarse en la figura 3, los resultados son notablemente heterogéneos, lo que obliga a interpretar con cautela los hallazgos derivados de la combinación de los estudios. Los resultados contradictorios obtenidos por diversos autores podrían explicarse, al menos en parte, por diversas diferencias en: *a*) la población de estudio (adultos o niños); *b*) el diseño del protocolo (estudios retrospectivos, transversales o prospectivos); *c*) el número de pacientes incluido (muy reducido

en algunos casos, con la consiguiente limitación de su potencia estadística); *d*) el índice utilizado para evaluar la respuesta clínica (índices de actividad clásicos o de calidad de vida); *e*) el tiempo de seguimiento desde que se inició el tratamiento con AZA/6-MP (pues es bien sabido que la latencia para constatar el efecto beneficioso de estos fármacos varía considerablemente); *f*) los criterios de exclusión (en algún estudio se excluyen precisamente los pacientes que no han respondido a la AZA/6-MP o que

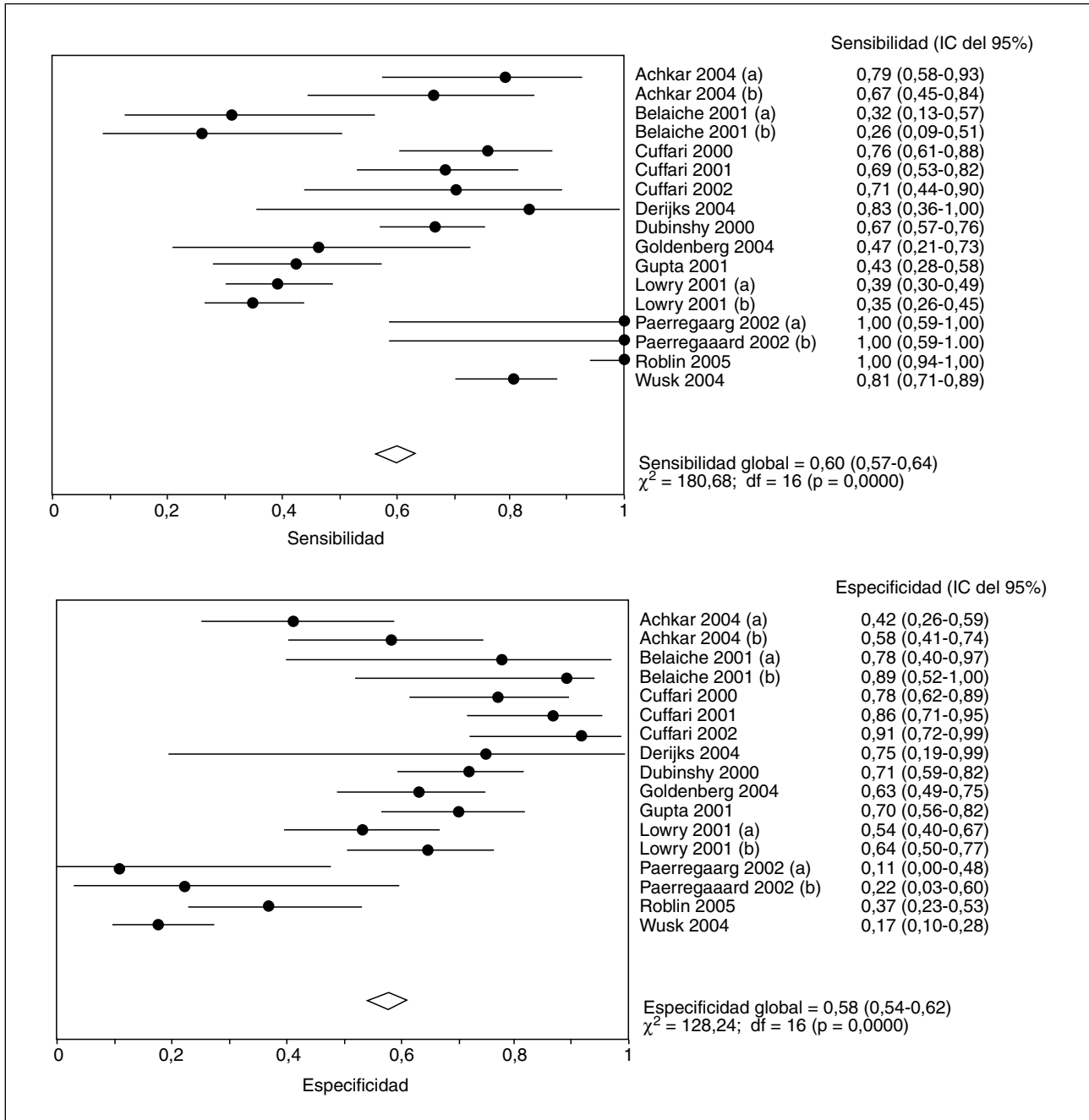


Fig. 3. Exactitud diagnóstica de la determinación de los valores de los nucleótidos de la 6-tioguanina como marcadores de eficacia del tratamiento con azatioprina o 6-mercaptopurina en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. (a) y (b) indican diferentes puntos de corte para las concentraciones de los nucleótidos de la 6-tioguanina (véase tabla I para más detalles). IC: intervalo de confianza.

han presentado efectos adversos); g) los métodos de cuantificación de las concentraciones de 6-TGN (lo que puede impedir la comparación directa entre diversos estudios, en especial en lo que se refiere al punto de corte más adecuado)<sup>142</sup>, y h) la notable variabilidad en las concentraciones de 6-TGN en el mismo paciente con el tiempo, a pesar de recibir una dosis constante de AZA/6-MP, podría justificar algunos resultados discordantes, lo que supone una limitación adicional de la determinación aislada –puntual– de estos metabolitos tiopurínicos<sup>107</sup>.

### Valores de referencia de los metabolitos tiopurínicos y puntos de corte recomendados

La selección precisa del punto de corte para establecer si las cifras de 6-TGN son o no normales es motivo de controversia. Como se ha expuesto previamente, hay una notable superposición entre los valores considerados en los diversos estudios pero, en general, se acepta que las cifras «normales» de 6-TGN, las que se asocian teóricamente con una mayor probabilidad de respuesta terapéutica a la AZA/6-MP y un escaso riesgo de efectos adversos, se situarían entre 230 y 450 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes (tabla I). Por tanto, habitualmente se consideran valores bajos, con probabilidad de inmunosupresión insuficiente, los inferiores a aproximadamente 230 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes. No obstante, otros autores han recomendado el empleo de puntos de corte más elevados, en torno a 250 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes (tabla I). En sentido opuesto, habitualmente se han considerado como valores altos y, por tanto, con riesgo de mielotoxicidad, los que se encuentran por encima de 450 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes. Por su parte, se han de-

finido como normales las concentraciones de 6-MMP menores de 5.700 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes, y los valores superiores se asociarían con un mayor riesgo de hepatotoxicidad<sup>11</sup>.

Por último, se ha sugerido que la determinación del cociente entre 6-MMP y 6-TGN, al considerar conjuntamente ambos parámetros, sería más fiable para predecir la respuesta de los pacientes al tratamiento con AZA/6-MP<sup>6,82,90</sup>. Así, se ha propuesto que un cociente elevado entre 6-MMP y 6-TGN (30-100:1) se asociaría con una actividad elevada de la TPMT<sup>6</sup>. Dicho de otro modo, los pacientes con un cociente 6-MMP/6-TGN bajo (p. ej., < 11) responderían mejor al tratamiento<sup>6,82,90</sup>. No obstante, como ocurre con los metabolitos tiopurínicos, tanto la verdadera utilidad como el punto de corte adecuado del mencionado cociente deberá ser validado en futuros estudios.

### Interpretación de las concentraciones de los metabolitos tiopurínicos y su utilidad en la práctica clínica

En la tabla II se resume la interpretación de las posibles combinaciones de resultados de los metabolitos tiopurínicos y la recomendación que se ha sugerido para cada situación. En primer lugar, unos valores normales tanto de 6-TGN (230-450 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes) como de 6-MMP (< 5.700 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes) indicaría que, si la respuesta clínica es adecuada, se ha administrado la dosis correcta de AZA/6-MP. El hallazgo de concentraciones muy bajas o indetectables de ambos metabolitos haría sospechar una falta de cumplimiento terapéutico. Si los

TABLA II. Interpretación de los resultados de la determinación de los metabolitos tiopurínicos y actitud práctica

| Valores de 6-TGN          | Valores de 6-MMP          | Interpretación  | Actitud  |
|---------------------------|---------------------------|---|--|
| Normales                  | Normales                  | Si la respuesta es adecuada, indica una dosis correcta de AZA/6-MP                          | No modificar la dosis de AZA/6-MP  |
| Muy bajos o indetectables | Muy bajos o indetectables | Falta de cumplimiento del tratamiento con AZA/6-MP  | Confirmar el correcto cumplimiento del tratamiento con AZA/6-MP                |
| Bajos                     | Bajos                     | Dosis subterapéuticas de AZA/6-MP   | Incrementar la dosis de AZA/6-MP si la respuesta es inadecuada                 |
| Bajos                     | Altos                     | Si la respuesta es adecuada: riesgo de hepatotoxicidad; sospechar actividad de TPMT elevada | Vigilar estrechamente la aparición de hepatotoxicidad                          |
| Bajos                     | Altos                     | Si la respuesta es inadecuada: «resistencia» a la AZA/6-MP                                  | No incrementar la dosis de AZA/6-MP y plantear un tratamiento alternativo      |
| Normales                  | Altos                     | Riesgo de hepatotoxicidad   | Vigilar estrechamente la aparición de hepatotoxicidad                          |
| Altos                     | Bajos                     | Si la respuesta es adecuada: riesgo de mielotoxicidad; sospechar una deficiencia de TPMT    | Vigilar estrechamente la aparición de mielotoxicidad. ¿Reducir dosis AZA/6-MP? |
| Normales                  | Normales                  | Si la respuesta es inadecuada: «refractoriedad» a la AZA/6-MP                               | Plantear un tratamiento alternativo a la AZA/6-MP                              |
| Altos                     | Altos                     | Sobredosis  | Reducir la dosis de AZA/6-MP   |

AZA: azatioprina; TPMT: tiopurina metiltransferasa; 6-TGN: nucleótidos de la 6-tioguanina; 6-MMP: 6-metilmercaptapurina; 6-MP: 6-mercaptapurina. Valores de 6-TGN normales definidos como 230-450 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes; valores bajos, < 230-250; valores altos, > 450. Valores de 6-MMP normales definidos como < 5.700 pmol/8 × 10<sup>8</sup> hematíes; valores altos, > 5.700.

valores de 6-TGN y 6-MMP son bajos, pero no tanto como en el supuesto previo, cabría deducir que se han administrado dosis subterapéuticas de AZA/6-MP y, en ausencia de respuesta clínica, el incremento de su dosis sería la actitud recomendable. En cualquier caso, debe tenerse presente que el objetivo fundamental es conseguir la remisión clínica (y evitar la toxicidad), y no alcanzar unas adecuadas concentraciones de metabolitos séricos per se. Por tanto, si las concentraciones de 6-TGN son bajas pero la respuesta clínica a la AZA/6-MP es adecuada, no será preciso incrementar la dosis de estos fármacos. En el extremo contrario, unas concentraciones elevadas de ambos metabolitos en un paciente con respuesta al tratamiento indicarían una sobredosis y quizá harían aconsejable reducir la posología. Los pacientes denominados «resistentes» a la AZA/6-MP tendrían unos valores bajos de 6-TGN y altos de 6-MMP, lo que indicaría una preferencia de la vía de síntesis de metabolitos inactivos, con el consiguiente riesgo de hepatotoxicidad; en estos casos, el incremento de la dosis de AZA no conseguirá alcanzar unas adecuadas concentraciones de 6-TGN, sino que elevará aún más los valores de 6-MMP, por lo que debería plantearse un tratamiento alternativo (con otros inmunomoduladores o cirugía). Por último, los pacientes auténticamente «refractarios» presentarían un perfil de metabolitos tiopurínicos similar al de los respondedores, pero sin respuesta al tratamiento a la AZA/6-MP. Estos pacientes deberían ser también candidatos a tratamiento coadyuvante o alternativo, en lugar de empeñarse en incrementar la dosis de AZA/6-MP, lo que probablemente será inútil. Otras situaciones intermedias quedan también recogidas en la tabla II.

### Coste-eficacia del seguimiento de los metabolitos tiopurínicos

Como en el caso de la TPMT, algunos autores han llevado a cabo una evaluación farmacoeconómica de la determinación sistemática de la actividad de los 6-TGN en los pacientes que van a recibir tratamiento con AZA/6-MP empleando modelos de análisis de decisión, y han concluido que la evaluación de la actividad TPMT es más útil para estimar inicialmente la respuesta al tratamiento (al permitir administrar desde el comienzo dosis plenas de AZA/6-MP), mientras que la cuantificación de los 6-TGN sería más coste-efectiva para la evaluación de la respuesta sostenida a lo largo del seguimiento (al detectar valores subterapéuticos de estos metabolitos y permitir, por tanto, la corrección la dosis de AZA/6-MP más precozmente)<sup>113</sup>.

### Indicaciones para el seguimiento de los metabolitos tiopurínicos en la práctica clínica

Como se deduce de lo hasta aquí expuesto, actualmente no está establecida la utilidad de la determinación sistemática, en la práctica clínica, de las concentraciones de

6-TGN y 6-MMP en los pacientes tratados con AZA/6-MP. Así, se ha sugerido que probablemente su cuantificación sólo estaría indicada en las siguientes situaciones<sup>6,10,11,84,93,143</sup>: *a*) cuando se sospecha que el paciente no está cumpliendo correctamente el tratamiento con AZA/6-MP (para así confirmar la sospecha clínica); *b*) cuando se administre tratamiento concomitante con allopurinol (por el incremento en la síntesis de 6-TGN que puede inducir); *c*) cuando la actividad de la TPMT es baja, y quizá también intermedia (con el objetivo de ajustar con precisión las dosis, más bajas, de AZA/6-MP); *d*) cuando se detecta un efecto adverso (especialmente si es de tipo hematológico o hepático), y *e*) finalmente, y sobre todo, cuando no hay respuesta clínica o se produce una recidiva de la enfermedad a pesar de administrar una dosis estándar de AZA o 6-MP. En este último caso, como se ha revisado previamente, el hallazgo de unas concentraciones adecuadas de 6-TGN confirmaría la refractariedad a los fármacos tiopurínicos y nos obligaría a optar sin más demora por otras alternativas terapéuticas; por el contrario, unos valores de 6-TGN bajos nos llevarían a incrementar la dosis de AZA/6-MP. No obstante, la verdadera utilidad de las indicaciones expuestas, en particular de la última estrategia, deberá demostrarse en estudios prospectivos diseñados a tal efecto.

### Interacciones farmacológicas con la AZA/6-MP: papel de los metabolitos tiopurínicos

Algunos estudios han sugerido que la administración de AZA/6-MP asociada al tratamiento con infliximab mejora su eficacia y, sobre todo, su seguridad; de hecho, se recomienda el tratamiento combinado<sup>144</sup>. Aunque esta mejor respuesta se atribuye generalmente a la prevención de la formación de anticuerpos antiinfliximab, también se ha postulado la existencia de una interacción farmacológica sinérgica entre infliximab y AZA, que potenciaría la eficacia de esta última. Así, un reciente estudio ha cuantificado los valores de 6-TGN en pacientes con EII que estaban recibiendo previamente AZA y requerían posteriormente infliximab, y se ha demostrado un incremento de estas concentraciones entre 1 y 3 semanas después de administrar la infusión de infliximab, aunque las cifras de 6-TGN se normalizaron posteriormente<sup>145</sup>. Además, la constatación de un incremento en los valores de 6-TGN por encima de  $400 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  hematíes en este mismo estudio se correlacionó estrechamente con una buena tolerancia y una respuesta favorable al infliximab<sup>145</sup>.

### CONCLUSIONES

A pesar del elevado número de pacientes con EII que reciben tratamiento con AZA/6-MP, no conocemos actualmente cuál es la dosis más adecuada para cada uno de ellos. Se han sugerido diversas estrategias para evaluar de forma individualizada y de modo más fiable la dosis de

AZA/6-MP con la intención, por una parte, de identificar a los pacientes con riesgo de toxicidad por estos fármacos y, por otro, a los pacientes con dosis subterapéuticas e inmunodepresión inadecuada. Entre estas estrategias destacan como las más prometedoras la determinación de la actividad de la TPMT y el seguimiento de los metabolitos tiopurínicos. La actividad de la enzima TPMT parece ser el factor más importante en la regulación de las concentraciones de los 6-TGN. La actividad de la TPMT en la población general sigue una distribución trimodal, en la que aproximadamente el 0,3% de los individuos es homocigoto para el alelo de baja actividad. La identificación de los pacientes con deficiencia de TPMT se puede llevar a cabo mediante la determinación de la actividad enzimática (fenotipo) o de las diversas mutaciones presentes en el ADN celular (genotipo). Hay una elevada concordancia entre ambas estrategias y cada una tiene sus ventajas e inconvenientes. Se ha demostrado una notable correlación entre el fenotipo o el genotipo de baja actividad de la TPMT y el riesgo de mielotoxicidad. Sin embargo, el papel que puede desempeñar este parámetro en la predicción de otros efectos adversos no hematológicos es aún controvertido. Aunque se ha sugerido que mediante la determinación de la actividad enzimática de la TPMT podría estimarse la probabilidad de que la dosis administrada de AZA esté produciendo la inmunodepresión adecuada y el consiguiente efecto terapéutico, este punto precisa aún ser confirmado. Los pacientes con un genotipo o fenotipo homocigoto de alta actividad de la TPMT deberían recibir dosis de inmunosupresores que hayan demostrado ser claramente eficaces. Por el contrario, en los pacientes con genotipo o fenotipo homocigoto de baja actividad de la TPMT se debería contraindicar el empleo de AZA/6-MP o, en todo caso, sería obligado administrar dosis muy reducidas de estos fármacos. Aunque algunos estudios farmacológicos han evidenciado una inhibición de la TPMT o un incremento en los 6-TGN debidos al tratamiento con sulfasalazina o 5-aminosalicilatos, otros no han podido confirmar que esta interacción sea clínicamente relevante. En resumen, la determinación de la actividad de la TPMT es una atractiva opción para individualizar el empleo de AZA/6-MP y prevenir el riesgo de efectos adversos, aunque está por demostrar si esta estrategia es coste-efectiva y si debe, definitivamente, aplicarse sistemáticamente en todos los pacientes. En cualquier caso, es importante recalcar que el déficit de TPMP explica sólo un porcentaje de los casos de mielotoxicidad, por lo que los controles analíticos periódicos deben seguir realizándose en los pacientes que reciben AZA/6-MP, aunque la función de esta enzima sea normal.

A pesar de los múltiples estudios que han evaluado el papel de los metabolitos tiopurínicos en el seguimiento del tratamiento con AZA/6-MP, aún no se conoce con seguridad si hay una correlación –y cuán estrecha es– entre la actividad de la TPMT y las concentraciones intracelulares de 6-TGN y 6-MMP. Del mismo modo, se desconoce si la relación que se ha descrito por algunos autores entre dichas concentraciones y la eficacia y los efectos adversos de la AZA/6-MP es suficientemente precisa como

para que su determinación sea útil en la práctica clínica. Los resultados contradictorios descritos en la literatura médica podrían deberse a diferencias metodológicas o de diseño del estudio. La elección del punto de corte adecuado para las concentraciones de 6-TGN es también motivo de controversia. Aunque, en teoría, la cuantificación de los metabolitos tiopurínicos podría ser útil tanto para los pacientes con riesgo de toxicidad (en los que debería llevarse a cabo un seguimiento más estrecho) como para los que presentan una respuesta inadecuada (en los que la comprobación de unos valores bajos de 6-TGN llevaría a incrementar la dosis de AZA/6-MP), actualmente no está establecida la utilidad de su determinación sistemática en los pacientes tratados con fármacos tiopurínicos, cuya cuantificación está limitada, en todo caso, a algunas circunstancias problemáticas, como la ausencia de respuesta al tratamiento tiopurínico o la aparición de efectos adversos. Se precisan estudios prospectivos amplios, con un diseño adecuado (aleatorizado), que comparen la estrategia habitual de dosificación de la AZA/6-MP (basada únicamente en el peso del paciente) frente al seguimiento individualizado (basado en la cuantificación de la actividad de la TPMT y/o de los metabolitos tiopurínicos) para poder concluir definitivamente cuál es la alternativa más adecuada desde el punto de vista de la eficacia, de la seguridad y de la relación coste-beneficio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gisbert JP, Gomollón F, Maté J, Pajares JM. Preguntas y respuestas sobre el papel de la azatioprina y la 6-mercaptopurina en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol.* 2002;25:401-5.
2. Su C, Lichtenstein GR. Treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gastroenterol Clin North Am.* 2004;33:209-34.
3. Gisbert JP, Gomollón F, Mate J, Pajares JM. Terapia individualizada con azatioprina o 6-mercaptopurina mediante monitorización de la actividad de la tiopurina metiltransferasa (TPMT). *Rev Clin Esp.* 2002;202:555-62.
4. Lennard L. TPMT in the treatment of Crohn's disease with azathioprine. *Gut.* 2002;51:143-6.
5. Dubinsky MC. Optimizing immunomodulator therapy for inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2003; 5:506-11.
6. Seidman EG. Clinical use and practical application of TPMT enzyme and 6-mercaptopurine metabolite monitoring in IBD. *Rev Gastroenterol Dis.* 2003;3 Suppl 1:30-8.
7. Bloomfeld RS, Onken JE. Mercaptopurine metabolite results in clinical gastroenterology practice. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17:69-73.
8. Sandborn WJ. Pharmacogenomics and IBD: TPMT and thiopurines. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10 Suppl 1:35-7.
9. Ho GT, Lees C, Satsangi J. Pharmacogenetics and inflammatory bowel disease: progress and prospects. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10:148-58.
10. Abera FN, Lichtenstein GR. Review article: monitoring of immunomodulators in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;21:307-19.
11. Al Hadithy AF, de Boer NK, Derijks LJ, Escher JC, Mulder CJ, Brouwers JR. Thiopurines in inflammatory bowel disease: pharmacogenetics, therapeutic drug monitoring and clinical recommendations. *Dig Liver Dis.* 2005;37:282-97.
12. Coulthard S, Hogarth L. The thiopurines: an update. *Invest New Drugs.* 2005.

13. Geary RB, Barclay ML. Azathioprine and 6-mercaptopurine pharmacogenetics and metabolite monitoring in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20:1149-57.
14. Duley JA, Florin TH. Thiopurine therapies: problems, complexities, and progress with monitoring thioquinine nucleotides. *Ther Drug Monit.* 2005;27:647-54.
15. Lennard L. Therapeutic drug monitoring of antimetabolic cytotoxic drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;47:131-43.
16. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet.* 1980;32:651-62.
17. Snow JL, Gibson LE. The role of genetic variation in thiopurine methyltransferase activity and the efficacy and/or side effects of azathioprine therapy in dermatologic patients. *Arch Dermatol.* 1995;131:193-7.
18. Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol.* 2001;19:2293-301.
19. Gisbert JP, Luna M, Mate J, González-Guijarro L, Cara C, Pajares JM. Actividad de la tiopurina metiltransferasa y mielotoxicidad debida a azatioprina y 6-mercaptopurina en pacientes con enfermedad inflamatoria del intestino. *Med Clin (Barc).* 2003;121:1-5.
20. Gisbert JP, Gomollón F, Cara C, Luna M, González-Lama Y, Pajares JM, et al. Actividad de tiopurina metiltransferasa (TPMT) y enfermedad inflamatoria intestinal. Un estudio sobre 7.046 pacientes españoles. *Med Clin (Barc).* 2005;125:281-5.
21. Gisbert JP, Gomollón F, Cara C, Luna L, González-Lama Y, Pajares JM, et al. Thiopurine methyltransferase (TPMT) activity in Spain: a study on 14,545 patients. *Dig Dis Sci.* En prensa 2006.
22. Krynetski EY, Evans WE. Pharmacogenetics as a molecular basis for individualized drug therapy: the thiopurine S-methyltransferase paradigm. *Pharm Res.* 1999;16:342-9.
23. Yates CR, Krynetski EY, Loennechen T, Fessing MY, Tai HL, Pui CH, et al. Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med.* 1997;126:608-14.
24. Corominas H, Doménech M, González-Juan D, González-Suárez B, Díaz C, Pujol J, et al. Aplasia medular tras administración de azatioprina: papel del polimorfismo genético de la tiopurina metiltransferasa. *Med Clin (Barc).* 2000;115:299-301.
25. Black AJ, McLeod HL, Capell HA, Powrie RH, Matowe LK, Pritchard SC, et al. Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. *Ann Intern Med.* 1998;129:716-8.
26. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnett D, Theoret Y, et al. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2000;118:705-13.
27. Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro RC, Krynetski EY, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91:2001-8.
28. Reuther LO, Sonne J, Larsen N, Dahlerup JF, Thomsen OO, Schmiegelow K. Thiopurine methyltransferase genotype distribution in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17:65-8.
29. McLeod HL, Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus -implications for clinical pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2002;3:89-98.
30. Corominas H, Doménech M, González D, Díaz C, Roca M, García-González MA, et al. Allelic variants of the thiopurine S-methyltransferase deficiency in patients with ulcerative colitis and in healthy controls. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:2313-7.
31. Otterness D, Szumlanski C, Lennard L, Klemetsdal B, Aarbakke J, Park-Hah JO, et al. Human thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: gene sequence polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;62:60-73.
32. Lindqvist M, Haglund S, Almer S, Peterson C, Taipalensu J, Hertervig E, et al. Identification of two novel sequence variants affecting thiopurine methyltransferase enzyme activity. *Pharmacogenetics.* 2004;14:261-5.
33. Haglund S, Lindqvist M, Almer S, Peterson C, Taipalensu J. Pyrosequencing of TPMT alleles in a general Swedish population and in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Chem.* 2004;50:288-95.
34. Mascheretti S, Schreiber S. Genetic testing in crohn disease: utility in individualizing patient management. *Am J Pharmacogenomics.* 2005;5:213-22.
35. Schaeffeler E, Fischer C, Brockmeier D, Wernet D, Moerike K, Eichelbaum M, et al. Comprehensive analysis of thiopurine S-methyltransferase phenotype-genotype correlation in a large population of German-Caucasians and identification of novel TPMT variants. *Pharmacogenetics.* 2004;14:407-17.
36. Coulthard SA, Hall AG. Recent advances in the pharmacogenomics of thiopurine methyltransferase. *Pharmacogenomics J.* 2001;1:254-61.
37. Rossi AM, Bianchi M, Guarnieri C, Barale R, Pacifici GM. Genotype-phenotype correlation for thiopurine S-methyltransferase in healthy Italian subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 2001;57:51-4.
38. Vesell ES. Therapeutic lessons from pharmacogenetics. *Ann Intern Med.* 1997;126:653-5.
39. Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, Marteau P, Gendre JP, Bonaz B, et al. Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. *Gastroenterology.* 2000;118:1025-30.
40. Chocair PR, Duley JA, Simmonds HA, Cameron JS. The importance of thiopurine methyltransferase activity for the use of azathioprine in transplant recipients. *Transplantation.* 1992;53:1051-6.
41. Pazmino PA, Sladek SL, Weinshilboum RM. Thiol S-methylation in uremia: erythrocyte enzyme activities and plasma inhibitors. *Clin Pharmacol Ther.* 1980;28:356-67.
42. Lennard L, Van Loon JA, Lilleyman JS, Weinshilboum RM. Thiopurine pharmacogenetics in leukemia: correlation of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity and 6-thioguanine nucleotide concentrations. *Clin Pharmacol Ther.* 1987;41:18-25.
43. Lennard L, Lilleyman JS, Van Loon J, Weinshilboum RM. Genetic variation in response to 6-mercaptopurine for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet.* 1990;336:225-9.
44. McLeod HL, Relling MV, Liu Q, Pui CH, Evans WE. Polymorphic thiopurine methyltransferase in erythrocytes is indicative of activity in leukemic blasts from children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1995;85:1897-902.
45. Klemetsdal B, Straume B, Wist E, Aarbakke J. Identification of factors regulating thiopurine methyltransferase activity in a Norwegian population. *Eur J Clin Pharmacol.* 1993;44:147-52.
46. Pacifici GM, Romiti P, Giuliani L, Rane A. Thiopurine methyltransferase in humans: development and tissue distribution. *Dev Pharmacol Ther.* 1991;17:16-23.
47. Mircheva J, Legendre C, Soria-Royer C, Thervet E, Beaune P, Kreis H. Monitoring of azathioprine-induced immunosuppression with thiopurine methyltransferase activity in kidney transplant recipients. *Transplantation.* 1995;60:639-42.
48. Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Sulphasalazine inhibition of thiopurine methyltransferase: possible mechanism for interaction with 6-mercaptopurine and azathioprine. *Br J Clin Pharmacol.* 1995;39:456-9.
49. Lewis LD, Benin A, Szumlanski CL, Otterness DM, Lennard L, Weinshilboum RM, et al. Olsalazine and 6-mercaptopurine-related bone marrow suppression: a possible drug-drug interaction. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;62:464-75.
50. Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Szumlanski CL, Mays DC, Loftus EV, et al. Leucopenia resulting from a drug interaction between azathioprine or 6-mercaptopurine and mesalamine, sulphasalazine, or balsalazide. *Gut.* 2001;49:656-64.
51. Lennard L. Clinical implications of thiopurine methyltransferase: optimization of drug dosage and potential drug interactions. *Ther Drug Monit.* 1998;20:527-31.
52. Xin HW, Fischer C, Schwab M, Klotz U. Thiopurine S-methyltransferase as a target for drug interactions. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;61:395-8.

53. Balis FM, Adamson PC. Application of pharmacogenetics to optimization of mercaptopurine dosing. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91:1983-5.
54. Tavadia SM, Mydlarski PR, Reis MD, Mittmann N, Pinkerton PH, Shear N, et al. Screening for azathioprine toxicity: a pharmacoeconomic analysis based on a target case. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42:628-32.
55. Schwab M, Schaeffeler W, Marx C, Zanger U, Aulitzky W, Eichelbaum M. Shortcoming in the diagnosis of TPMT deficiency in a patient with Crohn's disease using phenotyping only. *Gastroenterology.* 2001;121:500-1.
56. Cheung ST, Allan RN. Mistaken identity: misclassification of TPMT phenotype following blood transfusion. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15:1245-7.
57. Weyer N, Kroplin T, Fricke L, Iven H. Human thiopurine S-methyltransferase activity in uremia and after renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2001;57:129-36.
58. Anstey A, Lennard L, Mayou SC, Kirby JD. Pancytopenia related to azathioprine: an enzyme deficiency caused by a common genetic polymorphism: a review. *JR Soc Med.* 1992; 85:752-6.
59. Lorenzen I, Brun C, Videbaek A. Treatment of immunologic diseases with cytostatics. *Acta Med Scand.* 1969;185:501-6.
60. Ginzler E, Sharon E, Diamond H, Kaplan D. Long-term maintenance therapy with azathioprine in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1975;18:27-34.
61. Mertens HG, Hertel G, Reuther P, Ricker K. Effect of immunosuppressive drugs (azathioprine). *Ann NY Acad Sci.* 1981; 377:691-9.
62. Present DH, Meltzer SJ, Krumholz MP, Wolke A, Korelitz BI. 6-Mercaptopurine in the management of inflammatory bowel disease: short- and long-term toxicity. *Ann Intern Med.* 1989;111:641-9.
63. Connell WR, Kamm MA, Ritchie JK, Lennard-Jones JE. Bone marrow toxicity caused by azathioprine in inflammatory bowel disease: 27 years of experience. *Gut.* 1993;34:1081-5.
64. Lennard L, Van Loon JA, Weinshilboum RM. Pharmacogenetics of acute azathioprine toxicity: relationship to thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther.* 1989;46:149-54.
65. Ishioka S, Hiyama K, Sato H, Yamanishi Y, McLeod HL, Kumagai K, et al. Thiopurine methyltransferase genotype and the toxicity of azathioprine in Japanese. *Intern Med.* 1999; 38:944-7.
66. Andersen JB, Szumlanski C, Weinshilboum RM, Schmiege-low K. Pharmacokinetics, dose adjustments, and 6-mercaptopurine/methotrexate drug interactions in two patients with thiopurine methyltransferase deficiency. *Acta Paediatr.* 1998; 87:108-11.
67. Leipold G, Schutz E, Haas JP, Oellerich M. Azathioprine-induced severe pancytopenia due to a homozygous two-point mutation of the thiopurine methyltransferase gene in a patient with juvenile HLA-B27-associated spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1896-8.
68. Gummert JF, Schutz E, Oellerich M, Mohr FW, Dalichau H. Monitoring of TPMT in heart transplant recipients under immunosuppressive therapy with azathioprine. *Artif Organs.* 1995;19:918-20.
69. Ben Ari Z, Mehta A, Lennard L, Burroughs AK. Azathioprine-induced myelosuppression due to thiopurine methyltransferase deficiency in a patient with autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 1995;23:351-4.
70. Kerstens PJ, Stolk JN, De Abreu RA, Lambooy LH, Van de Putte LB, Boerbooms AA. Azathioprine-related bone marrow toxicity and low activities of purine enzymes in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995;38:142-5.
71. Naughton MA, Battaglia E, O'Brien S, Walport MJ, Botto M. Identification of thiopurine methyltransferase (TPMT) polymorphisms cannot predict myelosuppression in systemic lupus erythematosus patients taking azathioprine. *Rheumatology (Oxford).* 1999;38:640-4.
72. Sandborn WJ, Faubion WA. Clinical pharmacology of inflammatory bowel disease therapies. *Curr Gastroenterol Rep.* 2000;2:440-5.
73. Schwab M, Schaeffeler E, Marx C, Fischer C, Lang T, Behrens C, et al. Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism. *Pharmacogenetics.* 2002; 12:429-36.
74. Ansari A, Hassan C, Duley J, Marinaki A, Shobowale-Bakre EM, Seed P, et al. Thiopurine methyltransferase activity and the use of azathioprine in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:1743-50.
75. Gearry RB, Barclay ML, Burt MJ, Collett JA, Chapman BA, Roberts RL, et al. Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) genotype does not predict adverse drug reactions to thiopurine drugs in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:395-400.
76. Sayani FA, Prosser C, Bailey RJ, Jacobs P, Fedorak RN. Thiopurine methyltransferase enzyme activity determination before treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine: effect on cost and adverse events. *Can J Gastroenterol.* 2005;19:147-51.
77. Reuther LO, Sonne J, Larsen NE, Larsen B, Christensen S, Rasmussen SN, et al. Pharmacological monitoring of azathioprine therapy. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38:972-7.
78. Kader HA, Wenner WJ Jr., Telega GW, Maller ES, Baldassano RN. Normal thiopurine methyltransferase levels do not eliminate 6-mercaptopurine or azathioprine toxicity in children with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol.* 2000; 30:409-13.
79. Campbell S, Kingstone K, Ghosh S. Relevance of thiopurine methyltransferase activity in inflammatory bowel disease patients maintained on low-dose azathioprine. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:389-98.
80. Gisbert JP, Luna M, Maté J, González-Guijarro L, Cara C, Pajares JM. Choice of azathioprine or 6-mercaptopurine dose based on thiopurine methyltransferase (TPMT) activity to avoid myelosuppression. A prospective study. *Hepatogastroenterology.* 2006;53:399-404.
81. Dubinsky MC, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, et al. An open-label pilot study using thioguanine as a therapeutic alternative in Crohn's disease patients resistant to 6-mercaptopurine therapy. *Inflamm Bowel Dis.* 2001;7:181-9.
82. 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.
83. Gilissen LP, Derijks LJ, Bos LP, Verhoeven HM, Bus PJ, Hoymans PM, et al. Some cases demonstrating the clinical usefulness of therapeutic drug monitoring in thiopurine-treated inflammatory bowel disease patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:705-10.
84. Mardini HE, Arnold GL. Utility of measuring 6-methylmercaptopurine and 6-thioguanine nucleotide levels in managing inflammatory bowel disease patients treated with 6-mercaptopurine in a clinical practice setting. *J Clin Gastroenterol.* 2003;36:390-5.
85. Stolk JN, Boerbooms AM, De Abreu RA, De Koning DG, Van Beusekom HJ, Muller WH, et al. Reduced thiopurine methyltransferase activity and development of side effects of azathioprine treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1858-66.
86. Marinaki AM, Ansari A, Duley JA, Arenas M, Sumi S, Lewis CM, et al. Adverse drug reactions to azathioprine therapy are associated with polymorphism in the gene encoding inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPase). *Pharmacogenetics.* 2004;14:181-7.
87. Cuffari C, Dassopoulos T, Turnbough L, Thompson RE, Bayless TM. Thiopurine methyltransferase activity influences clinical response to azathioprine in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004;2:410-7.
88. Lennard L, Lilleyman JS. Individualizing therapy with 6-mercaptopurine and 6-thioguanine related to the thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. *Ther Drug Monit.* 1996;18:328-34.
89. Roblin X, Serre-Debeauvais F, Phelip JM, Faucheron JL, Hardy G, Chartier A, et al. 6-thioguanine monitoring in steroid-dependent patients with inflammatory bowel diseases receiving azathioprine. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;21:829-39.
90. Derijks LJ, Gilissen LP, Engels LG, Bos LP, Bus PJ, Lohman JJ, et al. Pharmacokinetics of 6-mercaptopurine in patients

- with inflammatory bowel disease: implications for therapy. *Ther Drug Monit.* 2004;26:311-8.
91. Goldenberg BA, Rawsthorne P, Bernstein CN. The utility of 6-thioguanine metabolite levels in managing patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2004;99:1744-8.
  92. Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Pike MG, Mays DC, Tremaine WJ, et al. Measurement of thiopurine methyltransferase activity and azathioprine metabolites in patients with inflammatory bowel disease. *Gut.* 2001;49:665-70.
  93. Sandborn WJ. Rational dosing of azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut.* 2001;48:591-2.
  94. García Sánchez A, Escudero Roldán M, Pérez Calle JL, González Lara V. Utilización en el año 2000 de la azatioprina y 6-mercaptopurina en el manejo de la enfermedad inflamatoria intestinal. En: González Lara V, editor. *Tratamiento médico en el año 2000. Enfermedad inflamatoria intestinal.* Madrid: Ergon; 2001. p. 113-40.
  95. Evans WE, Horner M, Chu YQ, Kalwinsky D, Roberts WM. Altered mercaptopurine metabolism, toxic effects, and dosage requirement in a thiopurine methyltransferase-deficient child with acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr.* 1991; 119:985-9.
  96. Lennard L, Lewis IJ, Michelagnoli M, Lilleyman JS. Thiopurine methyltransferase deficiency in childhood lymphoblastic leukaemia: 6-mercaptopurine dosage strategies. *Med Pediatr Oncol.* 1997;29:252-5.
  97. Kaskas BA, Louis E, Hindorf U, Schaeffeler E, Deflandre J, Graepler F, et al. Safe treatment of thiopurine S-methyltransferase deficient Crohn's disease patients with azathioprine. *Gut.* 2003;52:140-2.
  98. Keuzenkamp-Jansen CW, Leegwater PA, De Abreu RA, Lambooy MA, Bokkerink JP, Trijbels JM. Thiopurine methyltransferase: a review and a clinical pilot study. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1996;678:15-22.
  99. Lowry PW, Szumlanski CL, Weinsilboum RM, Sandborn WJ. Balsalazide and azathioprine or 6-mercaptopurine: evidence for a potentially serious drug interaction. *Gastroenterology.* 1999;116:1505-6.
  100. Schwab M, Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the treatment of inflammatory bowel disease. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40:723-51.
  101. Gilissen LP, Bierau J, Derijks LJ, Bos LP, Hooymans PM, Van Gennip A, et al. The pharmacokinetic effect of discontinuation of mesalazine on mercaptopurine metabolite levels in inflammatory bowel disease patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22:605-11.
  102. Dewit O, Vanheuverzwyn R, Desager JP, Horsmans Y. Interaction between azathioprine and aminosalicylates: an in vivo study in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:79-85.
  103. Campbell S, Ghosh S. Effective maintenance of inflammatory bowel disease remission by azathioprine does not require concurrent 5-aminosalicylate therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13:1297-301.
  104. Cuffari C, Theoret Y, Latour S, Seidman G. 6-Mercaptopurine metabolism in Crohn's disease: correlation with efficacy and toxicity. *Gut.* 1996;39:401-6.
  105. Menor C, Fuego J, Escribano O, Pina MJ, Redondo P, Cara C, et al. Thiopurine methyltransferase activity in a spanish population sample: decrease of enzymatic activity in multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2002;8:243-8.
  106. Hindorf U, Lyrenas E, Nilsson A, Schmiegelow K. Monitoring of long-term thiopurine therapy among adults with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004; 39:1105-12.
  107. Wright S, Sanders DS, Lobo AJ, Lennard L. Clinical significance of azathioprine active metabolite concentrations in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2004;53:1123-8.
  108. Jeurissen ME, Boerbooms AM, Van de Putte LB. Pancytopenia related to azathioprine in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1988;47:503-5.
  109. Bacon BR, Treuhafth WH, Goodman AM. Azathioprine-induced pancytopenia. Occurrence in two patients with connective-tissue diseases. *Arch Intern Med.* 1981;141:223-6.
  110. Sparrow MP, Hande SA, Friedman S, Lim WC, Reddy SI, Cao D, et al. Allopurinol safely and effectively optimizes thioguanine metabolites in inflammatory bowel disease patients not responding to azathioprine and mercaptopurine. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22:441-6.
  111. Regueiro M, Mardini H. Determination of thiopurine methyltransferase genotype or phenotype optimizes initial dosing of azathioprine for the treatment of Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol.* 2002;35:240-4.
  112. Winter J, Walker A, Shapiro D, Gaffney D, Spooner RJ, Mills PR. Cost-effectiveness of thiopurine methyltransferase genotype screening in patients about to commence azathioprine therapy for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20:593-9.
  113. Dubinsky MC, Reyes E, Ofman J, Chiou CF, Wade S, Sandborn WJ. A cost-effectiveness analysis of alternative disease management strategies in patients with Crohn's disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:2239-47.
  114. Marra CA, Esdaile JM, Anis AH. Practical pharmacogenetics: the cost effectiveness of screening for thiopurine s-methyltransferase polymorphisms in patients with rheumatological conditions treated with azathioprine. *J Rheumatol.* 2002; 29:2507-12.
  115. Oh KT, Anis AH, Bae SC. Pharmacoeconomic analysis of thiopurine methyltransferase polymorphism screening by polymerase chain reaction for treatment with azathioprine in Korea. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43:156-63.
  116. Tidd DM, Paterson AR. A biochemical mechanism for the delayed cytotoxic reaction of 6-mercaptopurine. *Cancer Res.* 1974;34:738-46.
  117. Lennard L, Brown CB, Fox M, Maddocks JL. Azathioprine metabolism in kidney transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* 1984;18:693-700.
  118. Lennard L. Assay of 6-thioinosinic acid and 6-thioguanine nucleotides, active metabolites of 6-mercaptopurine, in human red blood cells. *J Chromatogr.* 1987;423:169-78.
  119. Lennard L, Lilleyman JS. Variable mercaptopurine metabolism and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1989;7:1816-23.
  120. 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; 48:642-6.
  121. Lilleyman JS, Lennard L. Mercaptopurine metabolism and risk of relapse in childhood lymphoblastic leukaemia. *Lancet.* 1994;343:1188-90.
  122. Bergan S, Rugstad HE, Bentdal O, Sodal G, Hartmann A, Leivestad T, et al. Monitored high-dose azathioprine treatment reduces acute rejection episodes after renal transplantation. *Transplantation.* 1998;66:334-9.
  123. Schutz E, Gummert J, Armstrong VW, Mohr FW, Oellerich M. Azathioprine pharmacogenetics: the relationship between 6-thioguanine nucleotides and thiopurine methyltransferase in patients after heart and kidney transplantation. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996;34:199-205.
  124. Decaux G, Prosperit F, Horsmans Y, Desager JP. Relationship between red cell mean corpuscular volume and 6-thioguanine nucleotides in patients treated with azathioprine. *J Lab Clin Med.* 2000;135:256-62.
  125. Dervieux T, Meyer G, Barham R, Matsutani M, Barry M, Bouliou R, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of erythrocyte thiopurine nucleotides and effect of thiopurine methyltransferase gene variants on these metabolites in patients receiving azathioprine/6-mercaptopurine therapy. *Clin Chem.* 2005;51:2074-84.
  126. Belaiche J, Desager JP, Horsmans Y, Louis E. Therapeutic drug monitoring of azathioprine and 6-mercaptopurine metabolites in Crohn disease. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36: 71-6.
  127. Paerregaard A, Schmiegelow K. Monitoring azathioprine metabolite levels and thiopurine methyl transferase (TPMT) activity in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37:371-2.
  128. Gupta P, Gokhale R, Kirschner BS. 6-mercaptopurine metabolite levels in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001;33:450-4.
  129. Pettersson B, Almer S, Albertioni F, Soderhall S, Peterson C. Differences between children and adults in thiopurine methyltransferase activity and metabolite formation during thiopuri-

- ne therapy: possible role of concomitant methotrexate. *Ther Drug Monit.* 2002;24:351-8.
130. Schutz E, Gummert J, Mohr FW, Armstrong VW, Oellerich M. Azathioprine myelotoxicity related to elevated 6-thioguanine nucleotides in heart transplantation. *Transplant Proc.* 1995;27:1298-300.
131. Schutz E, Gummert J, Mohr FW, Armstrong VW, Oellerich M. Should 6-thioguanine nucleotides be monitored in heart transplant recipients given azathioprine? *Ther Drug Monit.* 1996;18:228-33.
132. Geary RB, Barclay ML, Roberts RL, Harraway J, Zhang M, Pike LS, et al. Thiopurine methyltransferase and 6-thioguanine nucleotide measurement: early experience of use in clinical practice. *Intern Med J.* 2005;35:580-5.
133. Sandborn WJ, Tremaine WJ, Wolf DC, Targan SR, Sninsky CA, Sutherland LR, et al. 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;117:527-35.
134. De Boer NK, De Graaf P, Wilhelm AJ, Mulder CJ, Van Bodegraven AA. On the limitation of 6-thioguanine nucleotide monitoring during thioguanine treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22:447-51.
135. Herrlinger KR, Fellermann K, Fischer C, Kreisel W, Deibert P, Schoelmerich J, et al. Thioguanine-nucleotides do not predict efficacy of thioguanine in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19:1269-76.
136. Teml A, Schwab M, Harrer M, Miehsler W, Schaeffeler E, Dejaco C, et al. A prospective, open-label trial of 6-thioguanine in patients with ulcerative or indeterminate colitis. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40:1205-13.
137. Dubinsky MC, Feldman EJ, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. Thioguanine: a potential alternate thiopurine for IBD patients allergic to 6-mercaptopurine or azathioprine. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:1058-63.
138. Derijks LJ, De Jong DJ, Gilissen LP, Engels LG, Hooymans PM, Jansen JB, et al. 6-Thioguanine seems promising in azathioprine- or 6-mercaptopurine-intolerant inflammatory bowel disease patients: a short-term safety assessment. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15:63-7.
139. Achkar JP, Stevens T, Easley K, Brzezinski A, Seidner D, Lashner B. Indicators of clinical response to treatment with six-mercaptopurine or azathioprine in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10:339-45.
140. Cuffari C, Hunt S, Bayless TM. Enhanced bioavailability of azathioprine compared to 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease: correlation with treatment efficacy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14:1009-14.
141. Wusk B, Kullak-Ublick GA, Rammert C, Von Eckardstein A, Fried M, Rentsch KM. Therapeutic drug monitoring of thiopurine drugs in patients with inflammatory bowel disease or autoimmune hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:1407-13.
142. Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Oellerich M. Differences in nucleotide hydrolysis contribute to the differences between erythrocyte 6-thioguanine nucleotide concentrations determined by two widely used methods. *Clin Chem.* 2003;49:260-8.
143. Papadakis KA. Optimizing the therapeutic potential of azathioprine/6-mercaptopurine in the treatment of inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol.* 2003;36:379-81.
144. Doménech E, Esteve M, Gomollón F, Hinojosa J, Panes J, Obrador A, et al. Recomendaciones GETECCU-2005 para el uso de infliximab (Remicade) en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28:126-34.
145. Roblin X, Serre-Debeauvais F, Phelip JM, Bessard G, Bonaz B. Drug interaction between infliximab and azathioprine in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:917-25.