

Inmunomoduladores en la enfermedad inflamatoria intestinal

METOTREXATO

AZATIOPRINA/MERCAPTOPURINA pág. 47

CICLOSPORINA pág. 57

TERAPIAS BIOLÓGICAS pág. 62

EDUARD CABRÉ-
GELADA

Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital Universitari Germans
Trias i Pujol. Badalona.
Barcelona. España.

Puntos clave

El metotrexato es eficaz para inducir y mantener la remisión en la enfermedad de Crohn activa corticodependiente.

El metotrexato es una buena alternativa a azatioprina/6-mercaptopurina en casos de fracaso o efectos adversos de estos fármacos.

Las dosis recomendadas son de 25 mg/semana en la enfermedad activa y 15 mg/semana en el mantenimiento.

Hasta la fecha, el metotrexato no ha demostrado su eficacia en la colitis ulcerosa.

Metotrexato

El metotrexato (MTX) es un análogo del dihidrofolato (fig. 1) originalmente concebido como antimetabolito. A dosis altas, bloquea la formación de tetrahidrofolato, lo cual, entre otras cosas, inhibe la síntesis *de novo* de purinas y pirimidinas, y la transmetilación de ácidos nucleicos.

Una consecuencia indirecta de estas acciones es la acumulación intra y extracelular de adenosina, que –al unirse a diversos receptores de las células inmunológicas– media los efectos antiinflamatorios que posee el fármaco a dosis bajas, y que lo han convertido en tratamiento de elección de enfermedades como la artritis reumatoide o la psoriasis. No es extraño, por tanto, que MTX también forme parte del arsenal terapéutico de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII).

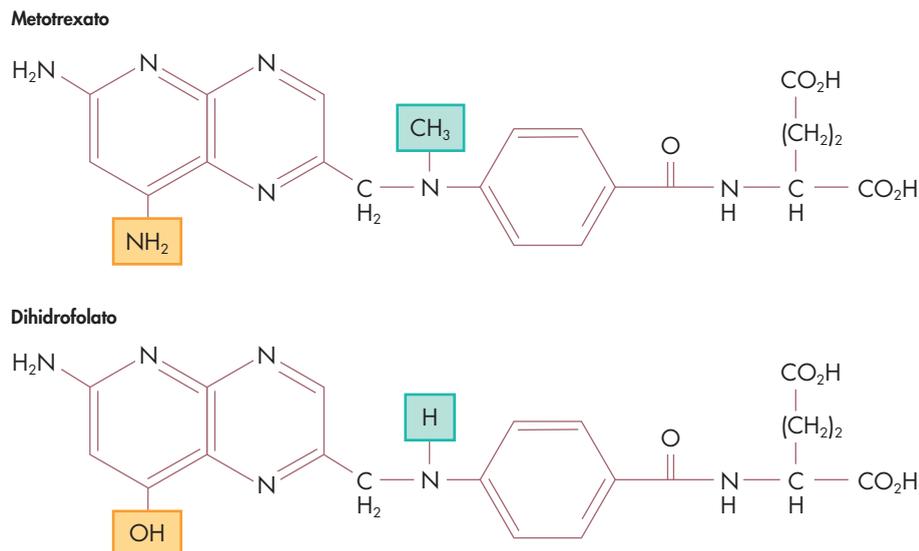
Eficacia terapéutica del metotrexato en la enfermedad inflamatoria intestinal

Desde que, en 1989, Kozarek et al¹ apuntaran la posibilidad de que MTX pudiera ser de utilidad en la EII refractaria, la eficacia del MTX en la EII se ha evaluado sobre todo en la inducción de la remisión y su mantenimiento en la enfermedad de Crohn (EC). El papel de MTX en la colitis ulcerosa (CU) ha sido menos estudiado y con resultados mucho menos brillantes.

Inducción de la remisión en la enfermedad de Crohn activa refractaria²

Hasta la fecha, se han publicado 3 estudios aleatorizados controlados con placebo que han evaluado la eficacia del MTX en la inducción de la remisión de la EC³⁻⁵ (fig. 2). En el más numeroso de ellos³, 141 pacientes con EC cor-

Figura 1. El metotrexato es un análogo estructural del dihidrofolato.



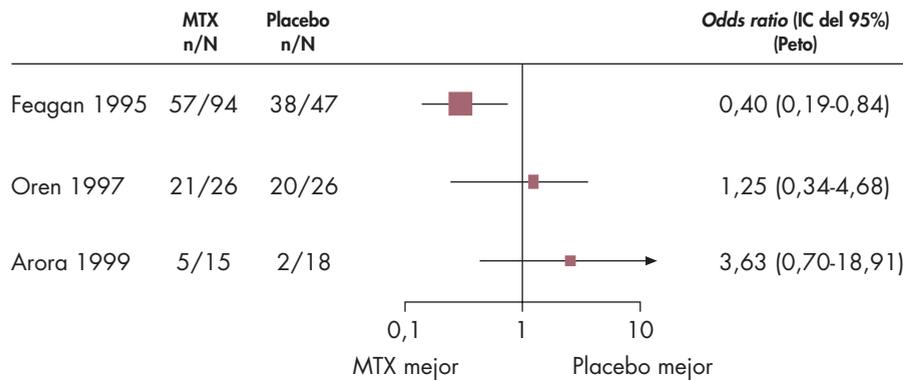


Figura 2. Estudios controlados con placebo sobre el efecto del metotrexato (MTX) en la enfermedad de Crohn activa. IC: intervalo de confianza; N: número de pacientes incluido en cada grupo; n: número de pacientes con fracaso en entrar en remisión, tras 16 semanas de tratamiento. Adaptada de Alfadhli et al².

ticodependiente se aleatorizaron para recibir 25 mg/semana de MTX intramuscular o placebo. Al cabo de 16 semanas de tratamiento, el 39% de los pacientes del grupo MTX había entrado en remisión (Crohn's Disease Activity Index [CDAI]) < 150 + supresión total de esteroides) frente a sólo el 19% de los tratados con placebo (p = 0,025). El efecto beneficioso del MTX se tradujo, asimismo, en una mejoría de calidad de vida y mayores posibilidades de suprimir el tratamiento esteroideo. El beneficio más importante se obtuvo en el subgrupo de pacientes que, a su inclusión, requerían más de 20 mg/día de prednisolona. Los otros 2 estudios controlados publicados^{4,5} no alcanzaron a demostrar un efecto significativo, pero el número de pacientes y las dosis de MTX empleadas, fueron inferiores a las utilizadas en el estudio previo. Posteriormente, se han publicado diversas experiencias no controladas⁶⁻⁹ en las que la eficacia terapéutica de MTX en la EC activa oscila entre el 35 y el 85% (tabla 1a).

Un aspecto escasamente evaluado es el posible papel del MTX en el tratamiento de la EC perianal y fistulizante. No hay estudios controlados que hayan analizado específicamente este efecto. Muy recientemente, se han publicado algunas series abiertas con muy escaso número de pacientes en las que la capacidad de cierre total de las fistulas no supera el 25% y la mejoría oscila entre el 30 y el 45%⁹⁻¹¹ (tabla 1b). En conjunto, estos resultados sugieren que el MTX puede ser una buena alternativa terapéutica en la enfermedad de Crohn luminal corticodependiente (y, posiblemente, en la corticorrefractaria), mientras que su potencial terapéutico en las formas perianales y fistulosas está aún por demostrar. Una cuestión relevante, poco evaluada², es la eficacia relativa del MTX, respecto a otros inmunosupresores, como la azatioprina (AZA) o la 6-mercaptopurina (6-MP), ampliamente utilizados en estos enfermos. Hasta el momento se han publicado 3 estudios aleatoriza-

Tabla 1. Experiencias no controladas sobre la eficacia del metotrexato en la enfermedad de Crohn activa

a) Enfermedad luminal	N	Respuesta (%)	Remisión (%)
Vandeputte et al, 1999 ⁶	20	70	NE
Lémann et al, 2000 ⁷	49	NE	84
Chong et al, 2001 ⁸	76	63	37
Soon et al, 2004 ⁹	30	36	NE
b) Enfermedad fistulosa	N	Mejoría (%)	Cierre (%)
Mahadevan et al, 2003 ¹⁰	16	31	25
Soon et al, 2004 ⁹	18	44	NE
Schröder et al, 2004 ¹¹	12*	43	25

*En combinación con infliximab.
 NE: no evaluado.

Lectura rápida



El metotrexato es un antimetabolito análogo del ácido fólico que, a dosis bajas, posee efectos antiinflamatorios que lo han convertido en el tratamiento de primera línea en enfermedades como la artritis reumatoide y la psoriasis.

El metotrexato se ha mostrado eficaz en la inducción de la remisión en pacientes con enfermedad de Crohn activa, así como en el mantenimiento de la remisión en estos casos.

El tratamiento de la enfermedad fistulosa y perianal, y el mantenimiento de la remisión inducida por infliximab en la enfermedad de Crohn son potenciales indicaciones para las que la eficacia de metotrexato aún no se ha demostrado fehacientemente.



Lectura rápida



Aunque los estudios al respecto son escasos, la eficacia del metotrexato en la enfermedad de Crohn es posiblemente similar a la de azatioprina/6-mercaptopurina. Sin embargo, dado su peor perfil de seguridad y su potencial teratogénico, el uso del metotrexato debe considerarse sólo en aquellos casos en los que azatioprina/6-mercaptopurina han fracasado o se han tenido que retirar por efectos adversos.

La dosis recomendada del metotrexato en la enfermedad de Crohn es de 25 mg/semana en la enfermedad activa y de 15 mg/semana en el mantenimiento. Se recomienda la vía parenteral (intramuscular o subcutánea) si bien su eficacia terapéutica no se ha comparado con la vía oral.

dos controlados que comparen la eficacia de MTX y AZA/6-MP en la EC activa cortico-dependiente^{4,12,13}. En todos ellos, ambos tratamientos han mostrado una eficacia similar a las 24-36 semanas de tratamiento, aunque uno de ellos¹² incluyó un número de pacientes tan exiguo que la fiabilidad de sus resultados es dudosa.

Mantenimiento de la remisión en la enfermedad de Crohn

El único estudio controlado con placebo, publicado hasta la fecha, sobre el papel del MTX como tratamiento de mantenimiento en la EC¹⁴ incluyó a 76 pacientes en los que la remisión había sido inducida con MTX (25 mg/semana intramuscular durante 16-24 semanas), que fueron aleatorizados para proseguir con MTX (15 mg/semana) o placebo durante 40 semanas. Al final del estudio, 26 (65%) de los 40 pacientes tratados con MTX permanecían en remisión, frente a sólo 14 (39%) de los 36 tratados con placebo ($p = 0,04$)¹⁴. Además, los pacientes tratados con MTX requirieron esteroides con una menor frecuencia que los tratados con placebo (el 27 frente al 58%).

En series no controladas publicadas con posterioridad, la tasa de remisión al año también se ha cifrado alrededor del 60%^{7,15,16}. Además, la respuesta terapéutica rápidamente se pierde (hasta tasas de remisión cercanas al 20%) en los pacientes que abandonan el tratamiento¹⁵.

Es preciso señalar, sin embargo, que en todos los estudios mencionados los pacientes habían alcanzado la remisión con MTX, lo cual introduce un sesgo que podría sobreestimar su eficacia real como tratamiento de mantenimiento en la EC. Por otra parte, es necesario realizar estudios controlados que comparen la eficacia del MTX y la AZA/6-MP como tratamiento de mantenimiento de la remisión inducida con anticuerpos antifactor de necrosis tumoral (TNF)- α en la EC, aunque experiencias retrospectivas recientes parecen sugerir que ambos tratamientos poseen una eficacia similar¹⁷.

Eficacia del metotrexato en la colitis ulcerosa

Como se ha apuntado anteriormente, las expectativas generadas por el estudio inicial de Kozarek et al¹ respecto al papel del MTX como tratamiento de la CU no se han visto, por desgracia, confirmadas.

En el único estudio controlado con placebo de que se dispone¹⁸, se aleatorizó a 67 pacientes con CU persistentemente activa y refractaria a

esteroides y/o inmunosupresores para ser tratados con 12,5 mg/semana de MTX o placebo por vía oral, sin que se registraran diferencias significativas en la tasa ni el tiempo de remisión entre ambos grupos. Obviamente, estos resultados no permiten recomendar el uso de MTX en la CU, si bien hay que reconocer que la dosis y la vía de administración probablemente no fueron las óptimas¹⁹. Por otra parte, los escasos estudios no controlados publicados hasta la fecha han incluido a pocos pacientes –tratados, además, con dosis muy variables– como para extraer conclusiones fiables^{9,12,15,20-22}.

Perfil de seguridad del metotrexato en la enfermedad inflamatoria intestinal

De la recopilación de efectos adversos en los distintos estudios controlados sobre el uso de MTX en la EII se desprende que la frecuencia y la gravedad de los efectos adversos es relativamente modesta, y es necesario retirar el fáрма-

Tabla 2. Efectos adversos detectados en los estudios controlados sobre el uso de metotrexato en la enfermedad inflamatoria intestinal ($n = 465$)

	Frecuencia (%)
Frecuentes	
Náuseas y vómitos	22,4
Infecciones	12,7
Cefalea	8,4
Alteración de las pruebas de función hepática	7,5
Fatiga	5,8
Poco frecuentes	
Artromialgias	4,7
Dolor abdominal	3
Diarrea	2,8
Rash cutáneo	2,8
Estomatitis	2
Raros	
Meteorismo	1,7
Leucopenia	1,5
Alopecia	1,1
Parestesias	1,1

Modificada de Schröder y Stein²³.

co por esta razón en menos del 10% de los casos²³ (tabla 2). Entre los efectos adversos más frecuentes (> 5%) se cuentan la intolerancia digestiva (en forma de náuseas y vómitos, diarrea, etc.), la alteración de las transaminasas séricas, la cefalea y las infecciones (tabla 2). Menos frecuentes son las artromialgias, las parestesias o la neumonitis. Aunque rara, esta complicación de causa inmunológica debe distinguirse de la neumonía de etiología infecciosa, y puede obligar a suspender la administración del fármaco. Una complicación que preocupa particularmente en el uso de MTX a largo plazo es la posibilidad de desarrollar fibrosis o cirrosis hepática. En un metaanálisis sobre la hepatotoxicidad del MTX en pacientes con artritis reumatoide (n = 636), la probabilidad de desarrollar hepatotoxicidad, según los criterios de Roenigk (tabla 3), fue del 25% en los pacientes con un consumo diario de alcohol < 100 g/semana, y de casi el 80% en los que consumían más de esa cantidad de etanol²⁴. La probabilidad de desarrollar lesión histológica grave (Roenigk IIIB o IV) fue del 5 y el 20% en los consumidores de < 100 g y > 100 g de etanol semanales, respectivamente²⁴. La probabilidad de progresión histológica por gramo acumulado de MTX se estimó en el 6,7% (intervalo de confianza [IC] del 95%, 2,1-11,4)²⁴. La experiencia a este respecto en la EII es mucho más exigua: un estudio de 20 pacientes que habían recibido dosis acumuladas entre 1,5 y 5,4 g de MTX mostró que sólo 3 de ellos presentaron alteraciones histológicas moderadas o graves (Roenigk II o IIIB)²⁵. No hay que olvidar el potencial teratogénico cuestionable del MTX. Por ello, todos los pacientes (varones y mujeres) en edad fértil deben usar un método anticonceptivo eficaz mientras estén usando el fármaco, que debe suspenderse en los pacientes que deseen procrear, al menos, 3 meses antes de la concepción. Asimismo, el MTX no es aconsejable durante el período de lactancia.

Aspectos prácticos del uso del metotrexato en la enfermedad inflamatoria intestinal

Algunos aspectos de carácter práctico referentes al tratamiento con MTX en la EII son: *a)* la dosis; *b)* la vía de administración; *c)* el uso concomitante de ácido fólico, y *d)* la duración óptima del tratamiento.

Dosis eficaz

Hay que remarcar que los estudios controlados en los que el MTX se ha mostrado eficaz en inducir la remisión en la EC han utilizado dosis de 25 mg/semana. No parece que dosis inferiores sean eficaces con este objetivo. Por otro lado, la dosis de mantenimiento que se ha mostrado efectiva (15 mg/semana) es superior a la utilizada en otras enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide, en las que dosis de 7,5 mg/semana es suficiente. Hay autores que incluso recomiendan la dosis de 25 mg/semana para el mantenimiento de la remisión en la EC.

Vía de administración

Un tema controvertido es la necesidad de utilizar la vía subcutánea para el tratamiento de mantenimiento a largo plazo en la EC, habida cuenta que la vía oral parece eficaz en la artritis reumatoide y la psoriasis. En un estudio farmacocinético con un número muy pequeño de pacientes, el área bajo la curva tras la administración de una dosis oral fue inferior en la EC (n = 5), comparado con la CU (n = 4) o la artritis reumatoide, lo que sugiere que la absorción del fármaco podría estar disminuida en la EC²⁶. Otro estudio en 7 pacientes con EC señala que la biodisponibilidad del fármaco cuando se administra por vía oral es del 80% de la que se obtiene cuando se administra por vía

Lectura rápida



El tratamiento con metotrexato debe combinarse con la administración de ácido fólico (a dosis de 5 mg/semana) con objeto de minimizar la toxicidad del fármaco.

No hay suficientes datos para poder determinar con precisión la duración óptima del tratamiento con metotrexato en la enfermedad de Crohn.

La utilidad del metotrexato en la colitis ulcerosa no se ha podido demostrar de forma concluyente, por lo que éste es un tratamiento no recomendado en estos pacientes.



Tabla 3. Criterios de Roenigk para la hepatotoxicidad inducida por metotrexato

Grado	Histología
I	Normal; esteatosis leve, anisonucleosis o inflamación del espacio porta
II	Esteatosis de moderada a grave, anisonucleosis, aumento de los espacios porta, necrosis.
IIIA	Fibrosis leve (septos fibrosos que se insinúan en el lobulillo)
IIIB	Fibrosis moderada o grave
IV	Cirrosis

Con grados I/II el tratamiento con metotrexato se puede mantener.
 Con grado IIIA el tratamiento con metotrexato puede continuar, pero hay que repetir la biopsia hepática en 6 meses.
 Con grados IIIB/IV el tratamiento con metotrexato se debe suspender.

Bibliografía recomendada

Alfadhli AAF, McDonald JWD, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;Issue 4:CD003459.

Revisión sistemática de los estudios clínicos controlados sobre el uso de metotrexato (MTX) en la enfermedad de Crohn activa. De los 3 estudios controlados con placebo sólo en uno (el más numeroso) el MTX se mostró eficaz en inducir la remisión.

Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, et al. Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. *N Engl J Med.* 1995;332:292-7.

Pacientes con EC corticodependiente fueron aleatorizados para recibir 25 mg/semana de MTX intravenoso o placebo. Al cabo de 16 semanas de tratamiento, el 39% de los pacientes del grupo MTX había entrado en remisión frente a sólo el 19% de los tratados con placebo.

Schröder O, Stein J. Low dose methotrexate in inflammatory bowel disease: Current status and future directions. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:530-7.

Artículo de revisión sobre la utilidad del metotrexato (MTX) en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). El artículo también incluye un repaso de los mecanismos de acción del fármaco, así como de su toxicidad.

Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, et al. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2000;342:1627-32.

Setenta y seis pacientes con enfermedad de Crohn en los que la remisión había sido inducida con metotrexato (MTX) fueron aleatorizados para proseguir con MTX o placebo durante 40 semanas. El 65% de los pacientes tratados con MTX permanecía en remisión, frente a sólo el 39% de los tratados con placebo.

subcutánea, aunque la variabilidad es notable²⁷. Estos datos han llevado a recomendar la vía subcutánea como la idónea en la EC, aunque hay que reconocer que no hay estudios en que se haya comparado la eficacia de dosis similares por vía oral y subcutánea en estos pacientes.

Uso concomitante de ácido fólico o folínico

Dado el carácter antifólico del MTX, se aconseja la administración concomitante de ácido fólico o folínico, con objeto de minimizar la toxicidad del fármaco. Aunque no hay datos específicos al respecto en la EII, se han llevado a cabo diversos estudios controlados, en pacientes con artritis reumatoide. Una revisión sistemática y un metaanálisis de éstos indican que la mejor estrategia es el uso de ácido fólico (y no de ácido folínico) a dosis no superiores a 10 mg/semana²⁸.

Duración del tratamiento

No existen datos suficientes que permitan determinar con precisión la duración óptima del tratamiento con MTX en la EC²⁹. En teoría, el tratamiento debería mantenerse tanto tiempo como sea posible, teniendo en cuenta que los pacientes que abandonan el tratamiento presentan una rápida pérdida de la respuesta. Sin embargo, no existen datos fiables acerca de la dosis acumulada límite en estos pacientes. Algunos autores han sugerido empíricamente un período máximo de 3-4 años, aunque reconocen que posiblemente sean pocos los que mantengan tratamientos tan prolongados (sin presentar efectos adversos, suspender el tratamiento por deseo de procreación, etc.)³⁰. Por tanto, hoy día, no es posible hacer recomendaciones a este respecto.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

■ Metaanálisis
■ Ensayo clínico controlado

1. Kozarek RA, Patterson DJ, Gelfand MD, Botoman VA, Ball TJ, Wilske KR. Methotrexate induces clinical and histologic remission in patients with refractory inflammatory bowel disease. *Ann Intern Med.* 1989;110:353-6.
2. ● Alfadhli AAF, McDonald JWD, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;Issue 4:CD003459.
3. ● Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, et al. Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. *N Engl J Med.* 1995;332:292-7.
4. Oren R, Moshkowitz M, Odes S, Becker S, Keter D, Pomeranz I, et al. Methotrexate in chronic active Crohn's disease: a double-blind, randomized, Israeli multicenter trial. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:2203-9.
5. Arora S, Katkov WN, Cooley J, Kemp JA, Johnston DE, Schapiro RH, et al. Methotrexate in Crohn's disease: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatogastroenterology.* 1999;46:1724-9.
6. Vandeputte L, D'Haens G, Baert F, Rutgeerts P. Methotrexate in refractory Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 1999;5:11-5.
7. Lémann M, Zenjari T, Bouhnik Y, Cosnes J, Mesnard B, Rambaud JC, et al. Methotrexate in Crohn's disease: Long-term efficacy and toxicity. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:1730-4.
8. Chong RY, Hanauer SB, Cohen RD. Efficacy of parenteral methotrexate in refractory Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001;15:35-44.
9. Soon SY, Ansari A, Yaneza M, Raouf S, Hirst J, Sanderson JD. Experience with the use of low-dose methotrexate for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:921-6.
10. Mahadevan U, Marion JF, Present DH. Fistula response to methotrexate in Crohn's disease: a case series. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:1003-8.
11. Schröder O, Blumenstein I, Schulte-Bockholt A, Stein J. Combining infliximab and methotrexate in fistulizing Crohn's disease resistant or intolerant to azathioprine. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19:295-301.
12. Maté-Jiménez J, Hermida C, Cantero-Perona J, Moreno-Otero R. 6-Mercaptopurine or methotrexate added to prednisone induces and maintains remission in steroid-dependent inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:1227-33.
13. Ardizzone S, Bollani S, Manzonina G, Imbesi V, Colombo E, Bianchi Porro G. Comparison between methotrexate and azathioprine in the treatment of chronic active Crohn's disease: a randomised, investigator-blind study. *Dig Liver Dis.* 2003;35:619-27.
14. ● Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, et al. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2000;342:1627-32.
15. Fraser AG, Morton D, McGovern D, Travis S, Jewell DP. The efficacy of methotrexate for maintaining remission in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:693-7.
16. Mañosa M, Doménech E, Bernal I, García-Planella E, Navarro M, Boix J, et al. Eficacia del tratamiento con metotrexato en la enfermedad de Crohn corticodependiente [abstract]. *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28:172-3.
17. Masnou H, Mañosa M, Doménech E, Navarro M, García-Planella E, Bernal I, et al. Impacto clínico de la utilización de metotrexato o azatioprina concomitante a infliximab en la enfermedad de Crohn [abstract]. *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28:172.
18. Oren R, Arber N, Odes S, Moshkowitz M, Keter D, Pomeranz I, et al. Methotrexate in chronic active ulcerative colitis: a double-blind, randomized, Israeli multicenter trial. *Gastroenterology.* 1996;110:1416-21.
19. Kozarek RA. Methotrexate and ulcerative colitis: Wrong drug? Wrong dose? Or wrong disease? *Gastroenterology.* 1996;110:1652-6.
20. Baron TH, Truss CD, Elson CO. Low-dose oral methotrexate in refractory inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 1993;38:1851-6.
21. Egan LJ, Sandborn WJ, Tremaine WJ, Leighton JA, Mays DC, Pike MG, et al. A randomized dose-response and pharmacokinetic study of methotrexate for refractory inflammatory Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13:1597-604.
22. Paoluzi OA, Pica R, Marcheggiano A, Crispino P, Iacopini F, Iannoni C, et al. Azathioprine or methotrexate in the treatment of patients with steroid-dependent or steroid-resistant ulcerative colitis: results of an open-label study on efficacy and tolerability in inducing and maintaining remission. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:1751-9.
23. ●● Schröder O, Stein J. Low dose methotrexate in inflammatory bowel disease: Current status and future directions. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:530-7.
24. Whiting-O'Keefe QE, Fye KH, Sack KD. Methotrexate and histologic hepatic abnormalities: a meta-analysis. *Am J Med.* 1991;90:711-6.
25. Te HS, Schiano TD, Kuan SF, Hanauer SB, Conjeevaram HS, Baker AL. Hepatic effects of long-term methotrexate use in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:3150-6.
26. Moshkowitz M, Oren R, Tishler M, Konikoff FM, Graff E, Brill S, et al. The absorption of low-dose methotrexate in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1997;11:569-73.
27. Kumik D, Loebstein R, Fishbein E, Almog S, Halkin H, Bar-Meir S, et al. Bioavailability of oral vs subcutaneous low-dose methotrexate in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:57-63.
28. Ortiz Z, Shea B, Suárez-Almazor M, Moher D, Wells G, Tugwell P. Folic acid and folinic acid for reducing side effects in patients receiving methotrexate for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;Issue 2:CD000951.
29. Fraser AG. Methotrexate: first-line or second-line immunomodulator? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15:225-31.
30. Modigliani R. Immunosuppressors for inflammatory bowel disease: how long is long enough? *Inflamm Bowel Dis.* 2000;6:251-7.