

Azatioprin pri kronični vnetni črevesni bolezni: genotipizacija in metaboliti

Azathioprine in inflammatory bowel disease: genotyping and metabolites

Saša Golob² in David Drobne^{*1,2}

¹Klinični oddelek za gastroenterologijo, Interna klinika, UKC Ljubljana

²Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Gastroenterolog 2017; 2: 32–36

Ključne besede: tiopurini, genotipizacija, 6-TGN, 6-MMP, TPMT encim, metaboliti, mielotoksičnost, hepatotoksičnost, azatioprin, 6-merkaptopurin

Key words: thiopurines, genotypization, 6-TGN, 6-MMP, TPMT enzyme, metabolites, myelotoxicity, hepatotoxicity, azathioprine, 6-mercaptopurine

IZVLEČEK

Tiopurine (azatioprin, 6-merkaptopurin) odmerjamo glede na telesno težo bolnika, vendar pa ima ob takem odmerjanju okoli tretjina bolnikov bodisi prevelik ali premajhen odmerek zdravila. Posledično se zaradi prevelikega odmerka pogosteje pojavljajo stranski učinki ali pa zaradi premajhnega odmerka zdravilo ni učinkovito. Vzrok za to je prirojena različna aktivnost metabolnih encimov – z določitvijo genotipa ali fenotipa encima tiopurin metil transferaze (TPMT) lahko tako predvidimo aktivnost encima *pred začetkom terapije in prilagodimo* začetni odmerek zdravila. Z določanjem koncentracij aktivnih metabolitov 6-tiogvanina (6-TGN) in 6-metil merkaptopurina (6-MMP) pa lahko *po uvedeni terapiji korigiramo* odmerek tiopurinov in s tem povečamo učinkovitost zdravljenja za 30 %. Določanje genotipa in določanje obeh metabolitov 6-TGN in 6-MMP je dostopno vsem gastroenterologom v Sloveniji.

ABSTRACT

Thiopurines (azathioprine, 6-mercaptopurine) are traditionally dosed per kg body weight, but when applying this method, approximately one third of patients receive either too high or too low dose of the medication. Consequently, we find higher occurrences of side effects due to medication overdose or, in contrast, reduced efficacy in case the medication doses are too low. The cause of this is the genetic difference in metabolic enzyme activity - with determination of genotype and phenotype of enzyme tiopurin methyl transferase (TPMT), we can predict the enzyme activity before initiation of treatment and adjust the starting dose of the medication. By measuring the concentrations of active metabolites 6-tiogvanin (6-TGN) and 6-methyl mercaptopurine (6-MMP), we can adjust the dose of thiopurines after initiation of treatment and so increase the efficacy of treatment by 30%. Determination of genotype and both metabolites 6-TGN and 6-MMP is accessible to all gastroenterologists in Slovenia.

*doc. dr. David Drobne, dr. med.,

Klinični oddelek za gastroenterologijo, Interna klinika, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

E-pošta: david.drobne@gmail.com

UVOD

Tiopurini so indicirani za vzdrževanje remisije kronične vnetne črevesne bolezni (1, 2). Zdravilo odmerjamo glede na telesno težo bolnika (azatioprin 2–2.5 mg/kg; 6-merkaptopurin 1–1,5 mg/kg), vendar pa se je izkazalo, da obstaja med bolniki zelo velika variabilnost v metabolizmu zdravila. Poleg tega je kompleksna metabolna pot podvržena številnim interakcijam drugih zdravil (npr. aminosalicilatov ali zaviralcev TNF-alfa). Dodaten problem je komplanca bolnikov, saj pomemben delež bolnikov tiopurinov ne jemlje v skladu z navodili zdravnika. Zaradi vseh naštetih razlogov mnogi bolniki prejmejo bodisi previsoke bodisi prenizke odmerke, kar pa vodi v pojav stranskih učinkov ali zmanjšano učinkovitost. Določanje genotipa metabolnih encimov in koncentracij aktivnih metabolitov omogoča optimizacijo odmerkov tiopurinov in s tem bolj učinkovito in varnejše zdravljenje.

METABOLIZEM TIOPURINOV

Po absorpciji se azatioprina (AZA) v jetrih preko glutation-S-transferaze pretvori v 6-merkaptopurin (6-MP). Ta se nato metabolizira dalje preko 3 različnih kompetitivnih encimskih poti (slika 1);

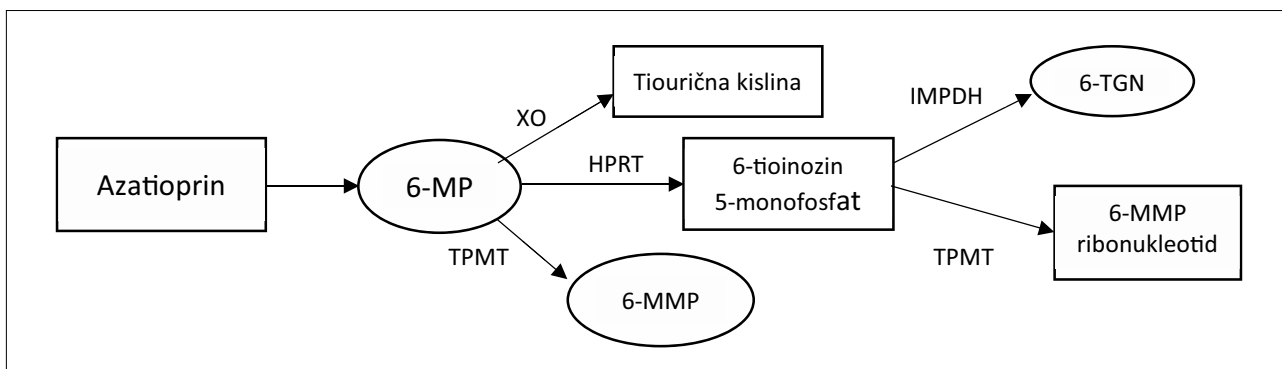
1. preko xantinske oksidaze se pretvori v neaktivni metabolit, tiourično kislino, ki se izloča z urinom,
2. preko TPMT v 6-metilmercaptapurin (6-MMP), ki je povezan s hepatotoksičnostjo,
3. največji meri pa preko hipoksantin gvaninske fosforiboziltransferaze (HPRT) v eritrocitih in nato

preko TPMT v 6-metil-merkaptopurin ribonukleotid ali z inozin-5-monofosfat dehidrogenazo (IMPDH) v 6-TGN, ki predstavljajo aktivne metabolite in so hkrati povezani z mielotoksičnostjo tiopurinov.

Terapevtski odgovor je odvisen od intracelularne produkcije 6-TGN, ki se morajo vgraditi v DNA, zato je klinična učinkovitost vidna šele po 3–4 mesecih zdravljenja (3, 4).

GENOTIPIZACIJA IN FENOTIPIZACIJA TIOPURINMETIL TRASFERAZE (TPMT) ENCIMA

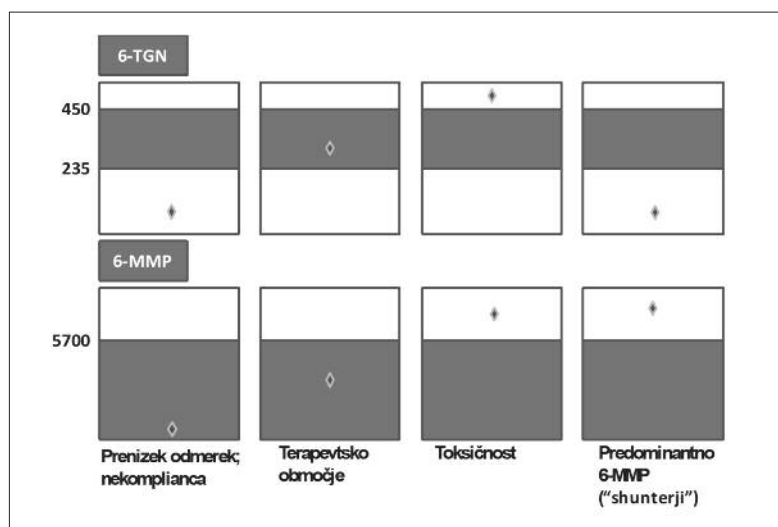
Produkcija aktivnih metabolitov je regulirana predvsem preko encima TPMT, ki pa ima med posamezniki široko genetsko variabilnost. Približno 90 % populacije ima normalno (*1/*1 divji tip) genetsko različico encima in bo imelo normalno encimsko aktivnost TPMT. 11 % populacije ima prisoten en mutiran alel (heterozigoti), ki pri teh bolnikih vodi v znižano aktivnost encima. V 0,3 % pa je prisotna homozigotna mutacija alela *3/*3, ki ima za posledico skoraj ničelno encimsko aktivnost TPMT-ja. Pri bolnikih z dvema mutiranima aleloma standardni začetni odmerek tiopurinov lahko vodi v življenjsko ogrožajočo mielosupresijo, zato pri bolnikih, pri katerih pred začetkom terapije ne moremo določiti genotipa TPMT, tiopurinov nikoli ne uvajamo v polnem odmerku. TPMT aktivnost pa lahko ocenjujemo tudi z direktnim merjenjem encimske aktivnosti,



Slika 1: poenostavljen shematski prikaz metabolizma tiopurinov (povzeto po (8).)

Tabela 1. začetno zdravljenje s tiopurini pri bolnikih z različnim genotipom/fenotipom (1)

Genotip	Fenotip (aktivnost encima)	Prilagoditev odmerka tiopurinov
normalen (*1/*1) (homozigot divji)	visoka/normalna	standardni odmerek
heterozigot (X/*1)	zmanjšana	30–50 % standardnega odmerka
mutiran homozigot ali sestavljeni heterozigot (X/X)	nizka/odsotna	tiopurini kontraindicirani



Slika 2. 4 skupine pacientov glede na metabolitni profil (4)

s tako imenovanim določanjem fenotipa TPMT encima, ki ga izrazimo v deležu normalne aktivnosti (zaenkrat ni na voljo v Sloveniji) (5).

Določanje genotipa ali fenotipa encima TPMT pred začetkom zdravljenja s tiopurini je priporočeno, saj pripomore k varnejšemu in hitrejšemu uvajanju zdravila v polnem odmerku. V kolikor genotipa ali fenotipa ne določimo, moramo zdravilo uvajati postopno; tj povečevanje odmerka AZA za 50 mg vsakih 14 dni do polnega odmerka ob sprotne spremljanju diferencialne krvne slike. Prednost poznavanja genotipa ali fenotipa TPMT pred začetkom terapije s tiopurini torej omogoča hitrejšo in varnejšo uvedbo zdravila, vendar pa nikakor ne nadomešča rednih kontrol diferencialne krvne slike in hepatograma, saj se mielotoksičnost in hepatotoksičnost še vedno lahko pojavita, kljub normalnemu genotipu TPMT (4).

KLINIČNA UPORABNOST DOLOČANJA KONCENTRACIJE METABOLITOV TIOPURINOV

Glavna končna produkta metabolizma tiopurinov sta 6-TGN in 6-MMP. Zaradi velike variabilnosti v aktivnosti encima TPMT med bolniki, je korelacija med odmerjanjem tiopurinov in koncentracijo 6-TGN in 6-MMP slaba in nepredvidljiva. Po drugi strani pa prav koncentracija 6-TGN dobro korelira s klinično učinkovitostjo, koncentracija 6-MMP pa s hepatotoksičnostjo.

Ciljna koncentracija 6-TGN je med 235 pmol/8x10⁸ eritrocitov in 450 pmol/8x10⁸ eritrocitov. Nad 450 je večja verjetnost za pojav mielotoksičnosti (1, 4). Zgornja meja 6-MMP je 5700 pmol/8x10⁸, saj se nad to koncentracijo poveča tveganje za hepatotoksičnost (6).

V naši klinični praksi prvič določamo koncentracije 6-TGN in 6-MMP 4–6 tednov po začetku zdravljenja. Glede na metabolitni profil 6-TGN in 6-MMP razdelimo bolnike v 4 skupine (slika 2):

- 1) Prenizek odmerek /nekomplianca (6-TGN < 235 in 6-MMP < 5700):

Kar ¾ pacientov, ki klinično ne odgovorijo na zdravljenje s tiopurini ima prenizke koncentracije aktivnega metabolita 6-TGN (4). Pri nezaznavnih nivojih je vzrok nekomplianca bolnikov, največkrat zaradi strahu pred stranskimi učinki kot so kožni rak, limfom in negativnega vpliva na no-

sečnost, ali pa nepoznavanja kronične narave bolezni. Kadar so koncentracije metabolitov zaznavne, a prenizke, lahko s povišanjem odmerka tiopurinov dosežemo remisijo bolezni, zato je smiselno določiti koncentracijo pri bolnikih, ki se niso zadostno odzvali na zdravlilo (1, 3).

- 2) Metaboliti v terapevtskem območju: 6-TGN med 235 in 450 in 6-MMP < 5700

Pacienti, ki imajo koncentracije metabolitov v terapevtskem območju imajo večjo verjetnost remisije bolezni in manjšo tveganje za hepatotoksičnost in mielotoksičnost. Če pacienti kljub optimalni koncentraciji metabolitov ne dosežejo remisije bolezni, je bolezen refraktarna na tiopurine in je indicirana menjava terapije, največkrat uvedba bioloških zdravil (1, 3).

- 3) toksičnost: 6-TGN > 450 in 6-MMP > 5700

Bolniki z visoko koncentracijo 6-MMP (> 5700) imajo večjo tveganje za pojav hepatotoksičnosti, a kar 90 % teh bolnikov ne razvije hepatotoksičnosti (7). Posledično je ob remisiji bolezni svetovano nadaljevanje z enakim odmerkom tiopurinov kljub visokim koncentracijam 6-MMP in pozorno spremljanje jetrnih encimov.

Bolniki z visokimi koncentracijami 6-TGN, remisijo bolezni in z znaki mielosupresije prejemajo prevelik odmerek, zato je potrebno znižanje tiopurinov (1, 3).

V kolikor mielosupresija ni prisotna ob visoki koncentraciji 6-TGN, bolnik pa je ob tem v remisiji, ni jasnih priporočil. Nekateri v tem primeru ne nižajo odmerka tiopurinov in bolnika skrbno spremljajo, zaradi nekoliko večje možnosti, da bo do mielosupresije prišlo odloženo. V naši klinični praksi pri teh bolnikih znižamo odmerek tiopurnov; v večini primerov bolniki ostanejo v remisiji.

- 4) Predominantno v smeri 6-MMP ("shunterji"): Nizka 6-TGN (< 235) in visoka koncentracija 6-MMP (> 5700)

Gre za "rezistentne" paciente z visoko aktivnostjo TPMT encima in predominantnim metaboliz-

mom v smeri hepatotoksičnega metabolita 6-MMP namesto v smeri aktivnega metabolita 6-TGN (t.i. shunterji, značilno je razmerje 6-MPP/6-TGN > (11)). Povečanje odmerka ne bo vplivalo na klinični uspeh, saj bo koncentracija 6-TGN naraščala zelo počasi, ob tem pa 6-MMP zelo hitro. Pri teh bolnikih lahko izkoristimo močno farmakokinetično interakcijo alopurinola s tiopurini in preusmerimo metabolizem v smer 6-TGN namesto v smer 6-MMP. Te paciente lahko v specializiranih centrih tako zdravimo z znižanjem odmerka tiopurinov za vsaj 50 % in s sočasnim dajanjem alopurinola (100mg/dan), ki kot inhibitor xantinske oksidaze preusmeri metabolizem v smer 6-TGN. Pri tem moramo, zaradi potencialne mielotoksičnosti, podrobno spremljati diferencialno krvno sliko in jetrne teste vsakih 14 dni do stabilnega stanja (1–3).

ZAKLJUČEK

- 1) Določanje genotipa TPMT:

- a) smiselno pred uvedbo tiopurinov, saj lahko v primeru normalnega genotipa zdravljenje začnemo takoj s polnim odmerkom.
- b) Če določanje genotipa TPMT ni na voljo, uvajamo tiopurine postopoma do polnega odmerka, ob tem pa ob vsakem povišanju kontroliramo hemogram, diferencialno krvno sliko in hepatogram po protokolu (glej 3a).

- 2) Določanje metabolitov:

- a) 6-TGN je aktivni metabolit, ki dobro korelira s klinično učinkovitostjo, v višjih koncentracijah pa lahko povzroča mielotoksičnost. Ciljna vrednost je med 235 pmol/8x10⁸ eritrocitov in 450 pmol/8x10⁸ eritrocitov.
- b) 6-MMP je povezan s hepatotoksičnostjo. Ciljna vrednost je < 5700 pmol/8x10⁸ eritrocitov.
- c) Določanje koncentracije metabolitov je smiselno ob neuspehu terapije in 4–6 tednov po uvedbi tiopurinov, saj takrat omogoča prilagoditev odmerka. V remisiji določanje ni indicirano.

- 3) Predlagano laboratorijsko spremljanje bolnika (hemogram z diferencialno krvno sliko, hepatogram) ob uvedbi tiopurinov in ob vsaki spremembi odmerka:
- a) pred uvedbo zdravila, 14 dni po uvedbi, 1x/mesečno naslednja 2 meseca in nato vsake 3 mesece (9).
 - b) Določanje genotipa TPMT ali koncentracije metabolitov ne nadomešča rednega laboratorijskega spremljanja bolnika, saj se mielotoksičnost in hepatotoksičnost lahko pojavijo kljub normalnemu genotipu TPMT in kljub optimalnim koncentracijam 6-TGN in 6-MMP.

Literatura

1. Chouchana L, Narjoz C, Beaune P, Lorient M-A, Roblin X. Review article: the benefits of pharmacogenetics for improving thiopurine therapy in inflammatory bowel disease: Review: pharmacogenetics of thiopurines in IBD. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 35(1): 15–36.
2. Drnovšek J, Drobne D. Sodobno vodenje imunosupresivnega in biološkega zdravljenja pri bolnikih s kronično vnetno črevesno boleznijo. *Tavčarjevi dnevi* 58. 2016; 119-130.
3. Goel RM, Blaker P, Mentzer A, Fong SCM, Marinaki AM, Sanderson JD. Optimizing the use of thiopurines in inflammatory bowel disease. *Ther Adv Chronic Dis.* 2015; 6(3): 138–46.
4. Dubinsky MC. Optimizing immunomodulator therapy for inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2003; 5(6): 506–11.
5. Geary RB, Barclay ML. Azathioprine and 6-mercaptopurine pharmacogenetics and metabolite monitoring in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 20(8): 1149–57.
6. Bradford K, Shih DQ. Optimizing 6-mercaptopurine and azathioprine therapy in the management of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(37): 4166-73.
7. Shaye OA, Yadegari M, Abreu MT, Poordad F, Simon K, Martin P, in dr. Hepatotoxicity of 6-mercaptopurine (6-MP) and Azathioprine (AZA) in adult IBD patients. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102(11): 2488–94.
8. Perri D, Cole DEC, Friedman O, Piliotis E, Mintz S, Adhikari NKJ. Azathioprine and diffuse alveolar haemorrhage: the pharmacogenetics of thiopurine methyltransferase. *Eur Respir J* 2007; 30: 1014-17.
9. <https://www.ecco-ibd.eu/publications/toolkits.html> (25.10.2017)