

**Título**

Prevalência de Neutropenia Secundária à Azatioprina numa População Pediátrica com Doença Inflamatória Intestinal

C. Pereira <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

**Email:** [catarinaopereira@gmail.com](mailto:catarinaopereira@gmail.com)

**Endereço:**

Rua Teófilo Braga – nº45, 5º esq.

3030-076 Coimbra

**Orientador:** S. Almeida<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Hospital Pediátrico Carmona da Mota - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

## Índice

Lista de Abreviaturas.....	3
Resumo .....	4
Abstract.....	6
Introdução .....	8
Material e Métodos.....	10
Resultados .....	10
Discussão .....	13
Referências.....	20
Agradecimentos.....	24

**Lista de Abreviaturas**

Azatioprina.....	AZA
Doença inflamatória intestinal .....	DII
6-mercaptopurina.....	6-MP
6-tioguanina .....	6-TG
6-metilmercaptopurina.....	6-MMP
Hipoxantina fosforibosil transferase.....	HPRT
Tiopurina metiltransferase .....	TPMT

## **Resumo**

### **Introdução:**

A azatioprina é um fármaco imunossupressor utilizado na doença inflamatória intestinal. Um dos efeitos secundários da azatioprina é a depressão da medula óssea, com consequente neutropenia e predisposição a infecções, podendo motivar a redução ou mesmo suspensão do fármaco. A monitorização hematológica regular é obrigatória nos doentes sob tratamento com este fármaco. Contudo, faltam estudos no sentido de avaliar factores de risco para a ocorrência de neutropenia e a vantagem da realização do doseamento da actividade da enzima tiopurina metiltransferase antes do início do tratamento, podendo ajudar a distinguir os doentes com maior risco de depressão medular.

### **Objectivos:**

Estudo retrospectivo, com o objectivo principal de avaliar a prevalência de leucopenia e neutropenia como efeito secundário da azatioprina na doença inflamatória intestinal. Como segundo objectivo, pretendeu-se avaliar o custo benefício da genotipagem da enzima tiopurina metiltransferase em função da prevalência e gravidade dos casos de leucopenia e neutropenia encontrados.

### **Metodologia:**

Análise dos processos clínicos dos doentes com o diagnóstico confirmado de doença inflamatória intestinal em tratamento com azatioprina, seguidos em consulta de Gastroenterologia no Hospital Pediátrico de Coimbra. As variáveis analisadas foram: sexo, idade, tipo de doença inflamatória intestinal, medicações concomitantes, dose, tempo de tratamento com o fármaco e número de leucócitos e neutrófilos em hemogramas seriados. Foi utilizado o programa Excel para o Windows 2003.

### **Resultados:**

Nos 31 doentes estudados, a prevalência de casos de leucopenia foi de 8 (25,8%) e de neutropenia foi de 7 (22,6%), (5 raparigas e 2 rapazes). Não se registaram neutropenias severas.

A dose média do fármaco administrada nos doentes que desenvolveram neutropenia foi 1,89 mg/kg/dia e a mediana foi de 1,8 mg/kg/dia.

Até à ocorrência de neutropenia o tratamento teve uma duração média de 10 meses, com desvio padrão de 7,7 meses, mediana de 7 meses e amplitude interquartil de 5,5 meses.

Todos os doentes recuperaram os valores hematológicos com redução ou suspensão do fármaco.

### **Conclusões:**

A prevalência de casos de neutropenia obtida na nossa série foi elevada, sendo a maioria em doentes do sexo feminino. O tempo de duração de tratamento até ao desenvolvimento do efeito adverso foi muito variável, desde 5 meses até 27 meses. Todos os casos encontrados foram de gravidade ligeira e reversível com a redução ou suspensão do fármaco. A determinação da actividade da enzima tiopurina metiltransferase ou o estudo molecular, não seria, no nosso caso, vantajosa em termos de custo/benefício.

### **Palavras-chaves:**

Azatioprina, 6-mercaptopurina, tiopurinas, doença inflamatória intestinal, leucopenia, neutropenia, tiopurina metiltransferase.

## **Abstract**

### **Introduction:**

Azathioprine is an immunosuppressive drug used in inflammatory bowel disease. One of the side effects of azathioprine is bone marrow depression, which results in neutropenia and susceptibility to infections, and this may encourage the reduction or suspension of the drug. The regular hematological monitoring is mandatory in patients receiving this drug. However, there are few studies assessing the risk factors associated with the occurrence of neutropenia and the advantage of performing the dosage of enzyme thiopurine methyltransferase activity before the beginning of the treatment, which could help distinguish patients with increased risk of bone marrow depression.

### **Objective:**

Retrospective study, with the main objective being the assessment of the prevalence of leukopenia and neutropenia as a side effect of azathioprine in inflammatory bowel disease. The second objective is to evaluate the cost benefit of the enzyme thiopurine methyltransferase genotyping based on the prevalence and severity of cases of leukopenia and neutropenia.

### **Methods:**

Analysis of clinical files of patients with confirmed diagnosis of inflammatory bowel disease treated with azathioprine, followed in an outpatient appointment of Gastroenterology in Coimbra Pediatric Hospital. The variables analyzed were gender, age, type of inflammatory bowel disease, concomitant medications, dosage and duration of treatment with azathioprine, and the number of leukocytes and neutrophils in regular blood count. Excel for Windows 2003 was used for statistical proposes.

**Results:**

In the 31 patients studied, the prevalence of leukopenia was 8 (25.8%) and 7 of those had neutropenia (22.6%), (five girls and two boys). There were no cases of severe neutropenia.

The mean dose of drug administered to patients who developed neutropenia was 1,89 mg/kg/day and the median was 1,8 mg/kg/day.

Until the occurrence of neutropenia, the treatment had a mean duration of 10 months, with standard deviation of 7,7 months, median of 7 months and inter-quartile range of 5,5 months.

All patients recovered hematological indices with reduction or discontinuation of the drug.

**Conclusion:**

The prevalence of neutropenia cases identified in our series was high, and occurred mostly in female patients. The duration of the treatment until the development of the adverse effect varied widely, namely from 5 months to 27 months. All observed cases were of mild severity and reversible upon a reduction or suspension of the drug. The determination of enzyme thiopurine methyltransferase activity or molecular analysis wasn't, in our case, advantageous in terms of cost/benefit.

**Key words:**

Azathioprine, 6-mercaptopurine, thiopurine, inflammatory bowel disease, leucopenia, neutropenia, thiopurine methyltransferase.

### **Introdução:**

A azatioprina (AZA) é um agente imunossupressor utilizado na doença inflamatória intestinal (DII) que inclui colite ulcerosa, doença de Crohn e, em 15% dos casos, colite indeterminada [Romano C et al (2008)]. É usada desde o diagnóstico, no sentido de reduzir a actividade da doença, manter remissão, prevenir recaídas e diminuir o uso de corticóides [Barabino A et al (2002)], correspondendo o intervalo terapêutico à dose de 1,5 a 2,5 mg/Kg/dia. No entanto, o tratamento com AZA está associado a efeitos secundários potencialmente graves, nomeadamente supressão medular, sobretudo neutropenia e leucopenia [Connell et al (1993)], sendo este efeito dose-dependente. Por esse motivo, os doentes devem ser submetidos a avaliação laboratorial regular [Cunliffe RC, Scott BB (2001)].

Dados os possíveis efeitos adversos causados pela AZA, no Hospital Pediátrico de Coimbra, um doente sob este tratamento é submetido a controlo laboratorial 15 dias após o início da terapêutica e depois, novamente, passados mais 15 dias. Posteriormente, o controlo é feito de 4 em 4 meses (também sugerido em “Persley e Present (2001)”).

A AZA é convertida em 6-mercaptopurina (6-MP), e esta no metabólito activo 6-tioguanina (6-TG). Por sua vez, este actua como antagonista das purinas, integrando-se no DNA e interferindo na síntese proteica, o que conduz a fenómenos de imunossupressão e também citotoxicidade [Neto MP et al (2008)]. Por outro lado, a 6-MP também pode ser metabolizada em 6-metilmercaptopurina (6-MMP), responsável por fenómenos de hepatotoxicidade. As enzimas responsáveis por catalisarem estas reacções são: a hipoxantina fosforibosil transferase (HPRT) e a tiopurina metiltransferase (TPMT), respectivamente [Lennard L (1992)].

A TPMT é produzida a nível do intestino, fígado, eritrócitos e leucócitos, não tendo ainda sido identificado um substrato endógeno para esta enzima [Teml A et al (2007)].



Verificou-se que uma mesma dose de AZA leva a grandes variações nos níveis de 6-TG intra-eritrocitários devido à diferente actividade da enzima TPMT. Indivíduos com défice de TPMT apresentam níveis mais elevados de 6-TG, ocorrendo mielossupressão [Neto MP et al (2008)].

Esta grande variação no fenótipo da TPMT deve-se à existência de um polimorfismo genético de carácter autossómico dominante, havendo 23 variantes genéticas descritas [Teml A et al (2007)].

A distribuição da actividade da enzima na população caucasiana segue uma distribuição trimodal, havendo 90% da população que apresenta alta actividade da enzima, 10% que, sendo heterozigóticos, apresenta actividade enzimática intermédia e 1 em 300 indivíduos apresenta dois alelos que ocasionam um défice de actividade da TPMT [Lennard, L. (1992)]. O estudo do fenótipo de TPMT é feito com base na actividade desta em eritrócitos, medida por método HPLC (High Performance Liquid Chromatographic) não-radioquímico [Kröplin T et al (1998)]. De modo a prever quais os doentes que mais provavelmente desenvolvem reacção adversa ao fármaco, pode fazer-se um doseamento sistemático da enzima TPMT antes do início do tratamento. Pacientes com actividade de TPMT indetectável não devem ser tratados com tiopurinas devido ao elevado risco de citotoxicidade. Aqueles com baixa actividade da enzima devem receber uma dose reduzida. Os doentes com alta actividade de TPMT podem submeter-se inicialmente a uma dose elevada de AZA, tendo em atenção o risco de hepatotoxicidade por acumulação de metabolitos inactivos (6-MMP) [Sanderson J (2004)]. O estudo do genótipo é também uma opção, recorrendo à extracção de DNA de leucócitos periféricos e procurando a presença dos alelos mais frequentes por PCR: TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C e \*3D [Yates CR (1997)]. O alelo mais frequente em caucasianos saudáveis associado a uma baixa actividade da enzima é o TPMT\*3A, que inclui a mutação no exão 7 (G460A) e a mutação no exão 10 (A719G) [Reuther et al (2003)].

O estudo retrospectivo apresentado pretende verificar a correlação entre a toma de AZA na DII e o desenvolvimento de neutropenia e discutir a vantagem ou não do doseamento da actividade da enzima TPMT ou genotipagem na população com DII.

### **Material e Métodos:**

Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo e analítico. Foram incluídos no estudo crianças e adolescentes com o diagnóstico de DII do Hospital Pediátrico de Coimbra, medicados com azatioprina. Estudou-se a influência do sexo, dose e tempo de tratamento e medicação concomitante, no número de casos de neutropenia encontrados. Foram analisados os hemogramas seriados de todos os doentes, concluindo-se sobre a existência ou não de leucopenia e neutropenia. Para análise deste estudo, foram considerados leucopenia valores inferiores a  $4 \times 10^9/L$  e neutropenia valores inferiores a  $2 \times 10^9/L$ . Para tratamento dos dados foi utilizado o programa Excel para o Windows 2003.

### **Resultados:**

O estudo incluiu 31 doentes, sendo 15 do sexo masculino e 16 do sexo feminino. Dos doentes do sexo masculino, 10 foram diagnosticados com doença de Crohn, 4 com colite ulcerosa e 1 com colite indeterminada. Dos doentes do sexo feminino, 11 foram diagnosticadas com doença de Crohn e 5 com colite ulcerosa.

Todos foram medicados com AZA, sendo a média da dose de AZA administrada no total da amostra de 1,85 mg/kg/dia.

Dos 31 doentes, 8 desenvolveram leucopenia (25,8%) sendo que 7 apresentavam neutropenia (22,6%) – tabela I.

Em relação aos pacientes que desenvolveram neutropenia, 4 tinham doença de Crohn, 2 colite ulcerosa e 1 colite indeterminada, sendo 5 do sexo feminino e 2 do sexo masculino – tabela I.

A idade média aquando do diagnóstico de neutropenia foi de  $11,8 \pm 2,5$  anos, a mediana de 12 e a amplitude interquartil de 1,5, tendo o doente mais novo 7 anos e o mais velho 15 anos.

A dose de AZA administrada nestes doentes foi, em média,  $1,89 \pm 0,43$  mg/kg/dia, a mediana foi de 1,8 mg/kg/dia e a amplitude interquartil de 0,53 mg/kg/dia, sendo a máxima de 2,69 mg/kg/dia e a mínima de 1,5 mg/kg/dia – tabela I.

O tempo médio de tratamento até surgir neutropenia foi de 10,6 meses sendo o desvio padrão de 7,7 meses. A mediana foi de 7 meses, a amplitude interquartil de 5,5 meses e a amplitude total de 22 meses, sendo o tempo mais curto de 5 meses e o mais longo de 27 meses – tabela I.

A média de leucócitos foi de  $3,47 \times 10^9/L \pm 0,62 \times 10^9/L$ , a mediana  $3,7 \times 10^9/L$  e amplitude interquartil de  $0,88 \times 10^9/L$ . Os 7 doentes fizeram uma neutropenia leve, sendo que a média do número de neutrófilos foi de  $1,77 \times 10^9/L \pm 0,23 \times 10^9/L$ , a mediana de  $1,8 \times 10^9/L$  e amplitude interquartil de  $0,25 \times 10^9/L$ . O valor mais baixo atingido foi de  $1,3 \times 10^9/L$  – tabela I.

Paciente	Sexo	Diagnóstico	Dose AZA (mg/kg/dia)	Duração do tratamento até neutropenia (meses)	Nº mínimo de Neutrófilos ( $\times 10^9/L$ )
1	Feminino	D. Crohn	1,8	5	1,8
2	Masculino	D. Crohn	1,6	27	1,3
3	Masculino	Colite indeterminada	2,69	6	1,9
4	Feminino	D. Crohn	1,5	7	1,8
5	Feminino	Colite ulcerosa	1,5	12	2
6	Feminino	Colite ulcerosa	2	6	1,92
7	Feminino	D. Crohn	2,17	11	1,7
Média $\pm$ dp			1,89 $\pm$ 0,43	10,6 $\pm$ 7,7	1,77 $\pm$ 0,23
Mediana			1,8	7	1,8
Amplitude interquartil			0,53	5,5	0,25

Tabela I – Caracterização dos pacientes que desenvolveram neutropenia.

Todos os doentes incluídos no estudo fizeram medicação concomitante com 5-ASA, havendo um paciente que também foi medicado com metronidazol.

A decisão médica consistiu na redução da dose em 4 doentes; no paciente que atingiu valores mais baixos de neutrófilos ( $1,3 \times 10^9/L$ ) optou-se por suspender o fármaco. Num outro doente alterou-se o esquema terapêutico para a mesma dose mas tomada em dias alternados. Houve um doente que fez uma neutropenia ligeira de  $1,92 \times 10^9/L$  e que manteve a dose de AZA. Verificou-se que o valor de neutrófilos subiu em todos.

Apesar do valor reduzido da amostra, procedeu-se à análise de correlação linear entre o número de neutrófilos e a duração do tratamento até surgir neutropenia, verificando-se que o coeficiente de correlação é de -0,83 – Fig.1.

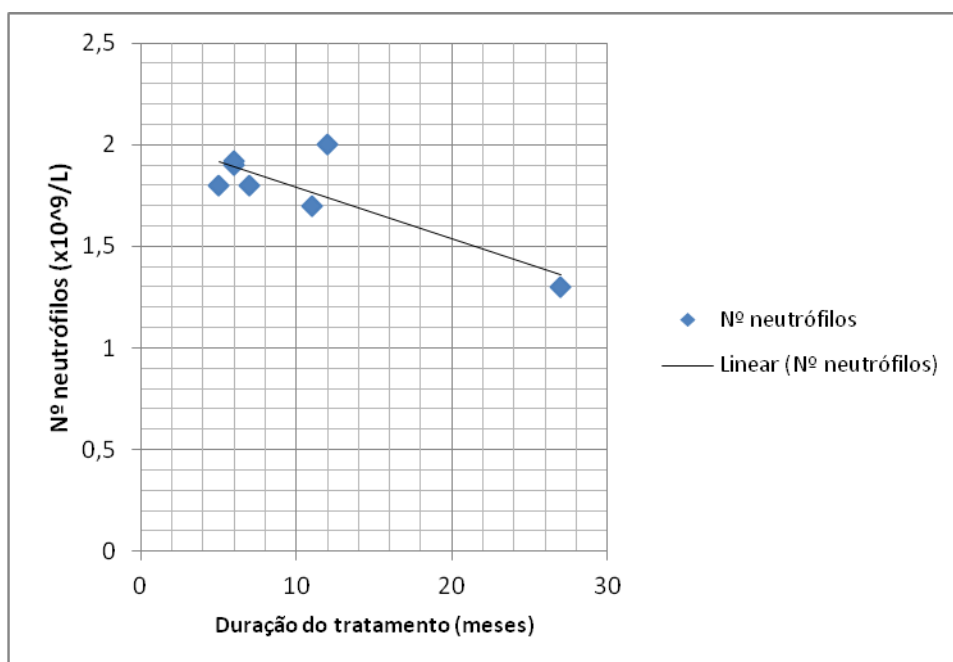


Fig 1 - Correlação entre o número de neutrófilos e a duração do tratamento.

Quanto à correlação entre a dose de AZA e número de neutrófilos obteve-se um valor de 0,22.

### **Discussão:**

Apesar das limitações relacionadas com o tamanho da amostra, podemos concluir que a neutropenia foi frequente nesta. A prevalência de leucopenia foi de 25,8% e de neutropenia foi de 22,6% (valor mínimo de  $1,3 \times 10^9/L$ ).

Tal como descrito na literatura, foi obtida maior prevalência de neutropenia em doentes do sexo feminino [Colli et al (2008); Connell et al (1993)].

Diversos estudos mostram diferentes prevalências de leucopenia, sendo poucos os que se debruçam sobre neutropenia em particular. Além disso, é variável a definição de leucopenia/neutropenia entre estudos.

Na série estudada por “Barabino et al (2002)”, 12 das 123 crianças com DII a tomar AZA desenvolveram leucopenia (valores inferiores a  $4 \times 10^9/L$ ) ou seja, aproximadamente, 10% da amostra.

Em “Colli et al (2008)”, detectou-se uma das prevalências mais elevadas de casos de leucopenia em estudos com o mesmo limiar (leucócitos abaixo  $4 \times 10^9/L$ ), inclusive mais elevada que a obtida na nossa série. Dos 106 doentes estudados com doença de Crohn, 34,0% apresentaram leucopenia e 2,8% neutropenia (valores inferiores a  $1 \times 10^9/L$ ). No nosso estudo, não houve nenhum caso que atingisse uma neutropenia desta gravidade.

No estudo feito por “Connell et al (1993)”, 3,8% (28 dos 739 pacientes com DII tratados com AZA) desenvolveram leucopenia, com valores inferiores a  $3 \times 10^9/L$ .

Já em “Persley KM et al, 2001”, 25% dos 173 doentes desenvolveram neutropenia, considerada para com valores inferiores a  $2,5 \times 10^9/L$ . Este estudo reporta um número superior de casos de neutropenia em relação ao nosso e à maioria dos estudos existentes, contudo, consideram o limiar para neutropenia um valor superior ao habitual.

Em relação ao descrito na literatura, obtivemos uma prevalência muito elevada de neutropenia e uma pequena diferença entre os casos de leucopenia e neutropenia. Tal poder-se-à dever às diferentes definições de leucopenia e neutropenia existentes, ou seja, o aumento do limiar considerado para diagnóstico de leucopenia/neutropenia aumenta largamente o número de casos obtidos.

A média de tempo entre o início da toma de AZA e o aparecimento da neutropenia foi de 10,6 meses com um desvio padrão de 7,7. A mediana foi de 7 meses, a amplitude interquartil de 5,5 e a amplitude total de 22 meses, sendo o tempo mais curto de 5 meses e o mais longo de 27 meses. Este último tempo de duração destaca-se substancialmente dos restantes, sendo o principal responsável pelo enviesamento da amostra para a direita, pelo

facto do desvio padrão ser grande e da média ser maior do que a mediana. De qualquer modo, mesmo que não considerassemos este valor, o tempo de duração do tratamento variava entre 5 meses e 12 meses. Consideramos, assim, que o intervalo até ocorrer neutropenia foi variável entre doentes, pelo que não podemos garantir que nenhum dos outros doentes, sobretudo os que iniciaram a terapêutica há menos tempo (um doente iniciou a toma do fármaco em Julho de 2011), não irá desenvolver a alteração hematológica.

Além disso, o estudo de “Connell et al (1993)” demonstrou que os efeitos adversos derivados da AZA podem surgir pouco tempo depois do início da toma do fármaco ou muitos meses após. Estes autores referem um intervalo de 2 semanas a 11 anos (média de 9 meses).

Embora o tamanho da amostra fosse reduzido, verificou-se uma tendência para correlação negativa entre a duração do tratamento e o número de neutrófilos (coeficiente de correlação de -0,83), ou seja, quanto maior foi o tempo de tratamento, menor o número de neutrófilos atingido.

A média da dose de AZA administrada no total da amostra foi de 1,85 mg/kg/dia, enquanto a média da dose nos doentes que desenvolveram neutropenia foi ligeiramente superior, 1,89 mg/kg/dia.

Apesar de ser conhecido que a neutropenia é um efeito adverso dose-dependente, a correlação entre a dose de AZA e número de neutrófilos, na amostra estudada, foi de 0,24, o que denota uma associação positiva, mas fraca, entre as duas variáveis.

Este estudo mostra uma significativa percentagem de doentes que desenvolveram neutropenia, num intervalo de tempo imprevisível, após o início da toma da AZA o que

mostra a necessidade da continuidade na monitorização laboratorial e clínica. Para contrariar estas incertezas, poder-se-ia realizar o estudo genético da TPMT para antecipar ou mesmo evitar casos de neutropenia. O estudo feito em “Reuther LO (2003)” pretende chamar a atenção para a importância do estudo genético da TPMT na população dinamarquesa, dado existirem casos de heterozigotia e homozigotia responsáveis por quadros de mielossupressão.

Outro estudo mostra que 6 de 67 doentes com doença reumática a tomar AZA eram heterozigóticos para o alelo mutante da TPMT, tendo todos (à excepção de um doente que não aderiu à terapêutica) desenvolvido leucopenia [MacDermott et al (2010)].

Numa revisão bibliográfica com o objectivo de relacionar a existência de polimorfismos da TPMT com os efeitos adversos derivados do uso de tiopurinas na DII, “Dong, X et al (2010)” seleccionaram 4 estudos com a mesma definição de leucopenia, chegando à conclusão que todos mostram uma elevada frequência de mutações genéticas da TPMT em doentes com leucopenia, comparando com aqueles sem leucopenia.

O estudo da actividade da TPMT é outra forma de seleccionar os doentes com maior risco de desenvolver leucopenia. “Schwab et al (2002)” avaliaram 93 doentes com DII sob AZA, sendo que 5 desenvolvem mielossupressão. Destes, 1 paciente apresentava deficiência de TPMT e outros 2, fenótipo de actividade intermédia de TPMT. Conhecendo a actividade da enzima, poder-se-ia fazer um ajuste da dose. “MacDermott RP et al (2010)” sugerem que doentes com baixa actividade da enzima (inferior a 5 U/mL) devem ser tratados com 1 mg/kg/dia de AZA. Doentes com actividade enzimática entre 5 e 12 U/mL podem ser sujeitos a uma dose de 1,5 mg/kg/dia de AZA. Se a actividade enzimática for superior a 12 U/mL, podem dar-se doses mais altas de AZA (2,0 mg/kg/dia). Doentes com actividade da enzima superior a 20 U/mL fariam doses de 2,5 mg/kg/dia de AZA.



Os estudos supracitados mostram claramente benefícios para os doentes na realização de um estudo genético ou fenotípico da enzima TPMT. A *Food and Drug Administration* nos EUA recomenda igualmente a realização do estudo do genótipo da TPMT.

Contudo, outros estudos mostram que as vantagens da realização do estudo da enzima TPMT não superam os custos económicos.

O estudo de “Colombel JF et al (2000)” mostra que outros factores além da existência de mutações são responsáveis pelos fenómenos de mielossupressão, pois dos 41 pacientes com doença de Crohn que desenvolveram mielossupressão, só 27% apresentava mutações responsáveis pela baixa actividade da enzima. Assim, pode concluir-se que o estudo genético da TPMT isoladamente não basta para prever a probabilidade de efeitos adversos relacionados com a mielossupressão.

No estudo de “Naughton et al (1999)” foi realizada a identificação dos polimorfismos da TPMT em 120 doentes com lúpus eritematoso sistémico sob AZA, com o objectivo de prevenir a mielossupressão. Concluiu-se que dos 13 doentes que desenvolveram neutropenia apenas 1 apresentava alelos mutantes, sendo que 7 indivíduos heterozigóticos toleraram bem a AZA. Uma vez que a neutropenia poderia ser secundária ao lúpus, os autores optaram por fazer o mesmo estudo com 15 doentes com DII tendo chegado à mesma conclusão: portadores de polimorfismos para TPMT têm mais tendência para desenvolver neutropenia, mas muitos dos doentes que a desenvolvem não apresentam polimorfismos e indivíduos heterozigóticos podem não apresentar neutropenia.

Uma razão para o facto de indivíduos heterozigóticos não desenvolverem neutropenia pode passar pelo possível aumento da actividade da enzima TPMT durante o tratamento com tiopurinas [Shwabs et al (2002)].

Além disso, a actividade da enzima TPMT varia não só com a genética mas também com factores ambientais. Alguns factores já foram detectados, tais como a menor actividade em indivíduos do sexo feminino [Naughton et al (1999)]. No presente estudo, a neutropenia surgiu em 5 doentes do sexo feminino contra apenas 2 do sexo masculino. Além disso, alguns medicamentos inibem a TPMT, como a sulfasalazina e a mesalazina [Sayani FA (2005)]. No nosso estudo todos os doentes fizeram um destes dois fármacos.

“Sayani FA et al (2005) ” concluíram mais uma vez que não existe correlação significativa entre a actividade da TPMT e os efeitos adversos induzidos pela toma da AZA. Além disso, analisaram os custos dos cuidados de saúde em doentes com DII com a realização do estudo da actividade da TPMT e sem esta. No primeiro grupo, houve um gasto de 348,87 dólares por paciente e no segundo o gasto foi menor, 300,11 dólares por paciente, apesar da necessidade de controlo laboratorial apertado. Acontece que o facto de se conhecer a actividade da TPMT num dado indivíduo podendo ajustar a dose, não exclui a necessidade de controlo laboratorial regular. Além disso, ao longo do tratamento com AZA/6-MP, dever-se-à fazer a repetição da medição da actividade da TPMT, uma vez que esta sofre alterações [MacDermott RP et al (2010)]. Os custos económicos no nosso país seriam muito semelhantes aos reportados.

É importante relembrar que outras causas de mielossupressão poderão estar presentes neste grupo de doentes, tais como, infecção viral, deficiência de vitamina B12 ou co-medicação com mesalazina, sulfasalazina, ou outros medicamentos que inibem a TPMT.

Dos 7 doentes medicados com metronidazol apenas 1 desenvolveu neutropenia que reverteu com a redução da dose de AZA.

Os aminossalicilatos, que todos os doentes tomaram concomitantemente, podem inibir a actividade da TPMT de modo reversível, aumentando os níveis de 6-TG e favorecendo a ocorrência de neutropenia [MacDermott RP et al (2010)].

Concluindo, o estudo genético da TPMT permite alertar o médico para a existência de polimorfismos que levam a uma maior probabilidade de ocorrer desenvolvimento de neutropenia, levando à não administração de tiopurinas em doentes homozigóticos e à redução da dose em doentes heterozigóticos. Tal possibilidade seria clinicamente importante uma vez que a neutropenia pode levar a infecções graves.

Contudo, vários estudos demonstraram que o facto de se ser portador de polimorfismos e o desenvolvimento de neutropenia nem sempre estão relacionados e que o estudo genético da TPMT não é economicamente vantajoso. Mesmo perante a possibilidade da realização do estudo enzimático, é importante salientar a importância de manter a vigilância dos doentes, clínica e laboratorialmente. Assim, para a nossa série não seria vantajoso, em termos custo benefício, a realização do estudo da TPMT.

Os estudos descritos na literatura envolvem amostras com maior número de doentes, pelo que se deveria fazer este estudo com uma base de dados maior, recolhendo-se, por exemplo, informação de todas as unidades de gastroenterologia pediátrica do país.

**Referências:**

- Barabino A, Torrente F, Ventura A, Cucchiara S, Castro M, Barbera C (2002) Azathioprine in paediatric inflammatory bowel disease: an italian multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 1125-1130
- Colli MV, Amaro TA, Pinto ALT, Gaburri PD, Chebli JMF (2008) Toxicidade da Azatioprina da Doença de Crohn: incidência, abordagem e evolução. *Ver Assoc Med Bras* 54 (5): 415-21
- Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, Marteau P, Gendre JP, Bonaz B, Soulé JC, Modigliani R, Trouze Y, Catala P, Libersa C, Broly F (2000) Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. *Gastroenterology* 118(6):1025-30
- Connell WR, Kamm MA, Ritchie JK, Lennard-Jones LE (1993) Bone marrow toxicity caused by azathioprine in inflammatory bowel disease: 27 years of experience. *Gut* 34:1081-1085
- Cunliffe RC, Scott BB (2001) Review article: monitoring for drug side-effects in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 647–662.
- Dong X, Zheng Q, Zhu M, Tong J, Ran Z (2010) Thiopurine S-methyltransferase polymorphisms and thiopurine toxicity in treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010 July 7; 16(25): 3187-3195

- Lennard L. (1992) The clinical pharmacology of 6-mercaptopurine. *Eur J Clin Pharmacol* (1992) 43:329-339
- Kröplin T, Weyer N, Gutsche S, Iven H (1998) Thiopurine S-methyltransferase activity in human erythrocytes: a new HPLC method using 6-thioguanine as substrate. *Eur J Clin Pharmacol*;54(3):265-71.
- MacDermott RP, Paul Rutgeerts, Grover S (2010) 6-mercaptopurine (6-MP) metabolite monitoring and TPMT testing in the treatment of inflammatory bowel disease with 6-MP or azathioprine. UpToDate, Inc
- Naughton MA, Battaglia E, O'Brien S, Walport MJ, Botto M (1999) Identification of thiopurine methyltransferase polymorphisms cannot predict myelosuppression in systemic lupus erithematosus patients taking azathioprine. *Rheumatology* 38:640-644
- Neto MP, Alves ANL, Fortini AS, Burattini MN, Sumita NM, Srougi M, Chocair PR (2008) Monitoração terapêutica da azatioprina: uma revisão. *J Bras Patol Med Lab* v.44 n.3:161-167
- Persley KM, Present DH (2001) Neutropenia is not required for clinical remission during azathioprine therapy in inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology e Hepatology* 12 No 9

- Reuther LO, Sonne J, Larsen N, Dahlerup JF, Thomsen OO, Schmielgelow K. (2003) Thiopurine methyltransferase genotype distribution in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 17: 65–68
- Romano C, Famiani A, Gallizzi R, Comito D, Ferrau' V, Rossi, P (2008) Indeterminate Colitis: A Distinctive Clinical Pattern of Inflammatory Bowel Disease in Children. *Pediatrics* Vol 122 No.6:e1278-e1281
- Sanderson J, Ansari A, Marinaki T, Duley J. Thiopurine methyltransferase: should it be measured before commencing thiopurine drug therapy? *Ann Clin Biochem* 2004; 41: 294-302
- Sayani FA, Prosser C, Bailey RJ, Jacobs P, Fedorak, RN (2005) Thiopurine methyltransferase enzyme activity determination before treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine: effect on cost and adverse events. *Can J Gastroenterol* 19(3):147-151
- Schwab M, Schaffeler E, Marx C, Fischer C, Lang T, Behrens C, Gregor M, Eichelbaum M, Zanger UM, Kaskas BA (2002) Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism. *Pharmacogenetics* 12 No 6
- Teml A, Schaeffeler E, Herrlinger KR, Klotz U, Schwab M (2007) Thiopurine Treatment in Inflammatory Bowel Disease: clinical pharmacology and implication of pharmacogenetically guided dosing. *Clin Pharmacokinet* 46 (3): 187-208

- Yates CR, Krynetski EY, Loennechen T, Fessing MY, Tai HL, Pui CH, Relling MV, Evans WE (1997) Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med*; 126(8):608-14

**Agradecimentos:**

Agradeço à minha orientadora Dra. Susana Almeida, pela competência científica, pelo acompanhamento do trabalho, pelas críticas e sugestões feitas durante toda a elaboração do artigo.

Aos meus pais, Francisco e Cândida, e à minha irmã Alexandra pela compreensão e apoio.

Aos meus amigos, Beatriz e Ivone pela amizade que sempre me dedicaram, ao João pelo estímulo e ajuda que me deu.

Ao meu tio, Filipe pelas recomendações e disponibilidade demonstrada.