

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

Liliana Andrade Chebli

**Eficácia e Segurança da Azatioprina no Tratamento de Longo Prazo de  
Pacientes com Colite Ulcerativa Córtico-Dependente**

Juiz de Fora

2011

LILIANA ANDRADE CHEBLI

**Eficácia e Segurança da Azatioprina no Tratamento de Longo Prazo de  
Pacientes com Colite Ulcerativa Córtico-Dependente**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Doutorado em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Saúde, área de concentração em Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli

Juiz de Fora

2011

Chebli, Liliana Andrade.

Eficácia e segurança da azatioprina no tratamento de longo prazo de pacientes com colite ulcerativa cortico-dependente / Liliana Andrade Chebli. – 2011.

59 fls.

Tese (Doutorado em Saúde)—Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

. Intestino – Doenças. 2. Colite Ulcerativa. 3. Azatioprina. I.Título.

CDU 616.34

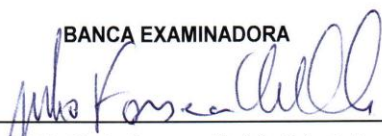
LILIANA ANDRADE CHEBLI

**Eficácia e Segurança da Azatioprina no Tratamento de Longo Prazo de Pacientes com Colite Ulcerativa Córtico-Dependente**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Doutorado em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Saúde, área de concentração em Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Saúde.

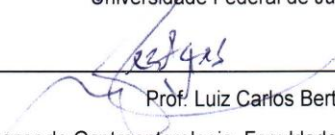
Aprovado em 17 de outubro de 2011.

**BANCA EXAMINADORA**




---

Prof. Júlio Maria Fonseca Chebli - Orientador  
Departamento de Clínica Médica  
Universidade Federal de Juiz de Fora



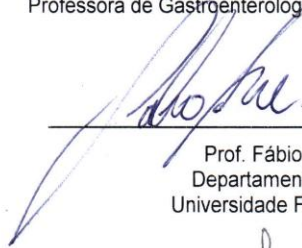
---

Prof. Luiz Carlos Bertges  
Professor de Gastroenterologia, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora (SUPREMA)



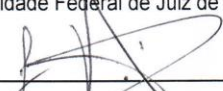
---

Prof.ª Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro  
Professora de Gastroenterologia, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora (SUPREMA)



---

Prof. Fábio Heleno de Lima Pace  
Departamento de Clínica Médica  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

Prof. Lincoln E. V. V. de Castro Ferreira  
Departamento de Clínica Médica  
Universidade Federal de Juiz de Fora

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”*

Chico Xavier

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por permitir e traçar esse caminho para mim.

Ao meu grande incentivador Júlio, pelo apoio, estímulo constante, dedicação e paciência. Saiba que você é o meu espelho para crescer profissionalmente e como ser humano, seja pelo caráter, profissionalismo e competência. Amo você!!

Aos meus queridos pais Francisco e Nair, grandes incentivadores dos meus sonhos.

Aos meus filhos, Vinícius e Luíza, que mudaram por completo e deram sentido maior à minha vida.

Aos meus irmãos, Daniela e Luciano, pelo apoio incondicional. Aos meus sogros, Fued e Lourdes, e aos meus cunhados, pelo carinho e incentivo.

Ao Prof. Pedro Gaburri, pelo apoio na elaboração deste trabalho e pela amizade sincera.

Ao Prof. Alexandre Zanini, da Faculdade de Economia e Administração da UFJF, pelas análises estatísticas.

À Prof<sup>a</sup> Darcília, pela paciência e dedicação, sempre pronta a nos ajudar.

Aos amigos e colegas de trabalho, Tarsila, Érika, Renata, Carla, Karine, Leo, Felipe, André, Dolores e todos que me ajudaram e torceram verdadeiramente por mim.

À Direção da Faculdade de Medicina da UFJF e ao Centro de Estudos, por terem autorizado a realização deste trabalho.

E principalmente aos pacientes e seus familiares, sem a colaboração dos quais não seria possível a realização desta pesquisa.

## RESUMO

Colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal idiopática da mucosa colônica caracterizada clinicamente por episódios intermitentes de exacerbações alternados com períodos de remissão. Os corticosteroides permanecem como uma das drogas mais efetivas no tratamento das exacerbações moderadas a graves da colite ulcerativa. Entretanto, eles não são adequados para terapia de manutenção devido à falta de eficácia na prevenção de recorrências. Além disso, seu uso associa-se frequentemente com vários efeitos adversos e, aproximadamente, 25% dos pacientes que respondem aos corticosteroides serão incapazes de tolerar sua retirada sem que apresentem recorrências sintomáticas. Conseqüentemente, “dependência de esteróides” em pacientes com colite ulcerativa é um problema de grande relevância na prática e manutenção da remissão sem esteróides é meta importante a ser alcançada. Diversas modalidades terapêuticas podem ser empregadas em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente (CUCD). Tradicionalmente, a escolha é entre a cirurgia ou o escalonamento do tratamento clínico, que geralmente envolve o uso de imunossupressores. O tratamento com azatioprina (AZA) tem tido amplo uso neste cenário. Entretanto, estudos no longo prazo avaliando a eficácia da AZA na CUCD são inexistentes. Os objetivos deste estudo foram avaliar em pacientes com CUCD, a eficácia da AZA no longo prazo para manutenção da remissão clínica sem esteróides, bem como a segurança desta droga neste contexto. Neste estudo de coorte prospectivo observacional, pacientes adultos com CUCD foram recrutados para tratamento com AZA durante o período de 36 meses. AZA foi ajustada para a dose alvo de 2-3 mg/Kg/dia. A redução da dose de esteróides durante o estudo seguiu um esquema previamente padronizado. A avaliação primária de eficácia foi a taxa anual de pacientes que alcançaram resposta sustentada a AZA sem esteróides. Resposta sustentada foi definida como a retirada completa dos corticosteroides e manutenção da remissão clínica sem a necessidade de se reintroduzir esteróides durante pelo menos seis meses adicionais. As principais avaliações de eficácia secundária foram: dose cumulativa anual de esteróides, número anual de recorrências da colite após introdução da AZA e efeitos adversos. Em base intenção de tratar, a proporção de pacientes permanecendo em remissão sem esteróides em 12, 24, e 36 meses foi 0.55, 0.52, e 0.45, respectivamente. Significante diminuição na taxa de recidivas clínicas assim como no requerimento para esteróides foram observados durante três anos de tratamento com AZA comparado com o ano prévio ( $P=0.000$  para ambos). Pacientes com e sem resposta sustentada foram similares de acordo com demografia, extensão da doença, dose de AZA, uso de esteróides e 5-ASA. Apenas a duração menor da doença (<36 meses) associou-se à remissão sem esteróides ( $P=0.02$ , OR 3.12 95% IC 1.89-7.64). AZA foi bem tolerada e o perfil risco-benefício favorável. Neste estudo, AZA mostrou eficácia sustentada para manutenção da remissão clínica sem esteróides e para poupar esteróides durante três anos de terapia em pacientes com CUCD. Pacientes com colite ulcerativa de início mais recente são aqueles que mais provavelmente alcançarão remissão sustentada sem esteróides no final de 12 meses enquanto em uso de AZA. Isto parece se manter por até 36 meses.

**Palavras-chave:** Colite Ulcerativa. Doença Inflamatória Intestinal. Azatioprina. corticosteroides.

## ABSTRACT

Ulcerative colitis (UC) is a lifelong, immune-mediated inflammatory condition of the colonic mucosa, which is characterized by a relapsing and remitting course. Corticosteroids remain one of the most effective therapies for inducing remission in patients with moderate-to-severe UC. Nonetheless, corticosteroids are not used in maintenance therapy, mainly because undesirable side effects outweigh the possible benefits. Furthermore, approximately 25% of the patients is unable to support its withdrawal without relapsing, suggesting that the need to start steroid therapy in UC is associated with a dismal long-term prognosis. Thus, corticosteroid dependence in patients with UC is a pivotal clinical problem and maintenance of steroid-free remission is an important current evolving treatment goal. Patients with steroid dependent UC are usually given a choice between colectomy or stepped-up medical treatment, which traditionally involves prescription of an immunosuppressive drug. Azathioprine (AZA) therapy has found widespread use for this setting in clinical practice. However, studies assessing the efficacy of azathioprine in steroid-dependent ulcerative colitis (SD-UC) are scarce. The purpose of this trial was to explore the efficacy and safety of AZA in maintaining long-term steroid-free remission in SD-UC patients and the factors associated to sustained response. In this observational cohort study 42 subjects with SD-UC were recruited for AZA therapy during a 3-year period. AZA was adjusted for a target dose of 2-3 mg/Kg/day. Steroid therapy was tapered off following a standardized regimen. The primary endpoint was the annual rate of steroid-free response to AZA. Secondary endpoints included clinical recurrence, yearly steroid dose, and safety of treatment. On an intention-to-treat basis, the proportion of patients remaining in steroid-free remission at 12, 24, and 36 months was 0.55, 0.52, and 0.45, respectively. A significant decrease in the flare-ups rate and in requirement for steroids were observed during 3 years on AZA compared with the previous year ( $P=0.000$  for both). Patients with and without sustained response were comparable according to demographics, extent of disease, dose of AZA, steroids and 5-ASA use. Only disease duration <36 months was associated to off-steroids remission ( $P=0.02$ , OR 3.12 95% CI 1.89-7.64). The AZA benefit-risk profile was favorable. In this open-label observational trial AZA showed sustained efficacy for maintenance of clinical remission off steroids and steroid sparing through 3 years of therapy in SD-UC. Patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-free remission at the end of 12 months while on AZA. This appears to sustain until 36 months.

**Key Words:** Ulcerative colitis. inflammatory bowel disease. Corticosteroids. azathioprine.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Cumulative probability of maintaining sustained remission off steroids in ulcerative colitis during the 3-year treatment with azathioprine (intention-to-treat (ITT) and per protocol (PP) analyses)..... 49
- Figura 2 - Median cumulative annual corticosteroid dose before and during azathioprine (AZA) treatment.  $P = 0.000$  for all 12 months before AZA therapy vs. 12, 24, and 36 months while on AZA comparisons (per protocol analysis)..... 50
- Figura 3 - Number of flare-up before and during azathioprine (AZA) treatment.  $P = 0.000$  for all 12 months prior AZA therapy vs. 12, 24, and 36 months on AZA comparisons (per protocol analysis)..... 51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Demographic, disease-related data, and baseline leukocyte count in patients with steroid-dependent ulcerative colitis according response to azathioprine at end months.....	52
----------	---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT	- Study of Efficacy and Safety in Moderate to Severe Ulcerative Colitis
AZA	- Azatioprina
CBC	- Complete Blood Count
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CUCD	- Colite Ulcerativa córtico-dependente
FAPEMIG	- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
IBD	- Inflammatory Bowel Disease
ITT	- intention-to-treat
MYSD	- Median Yearly Steroid Dose
PP	- Per Protocol
SD-UC	- Steroid-dependent Ulcerative Colitis
SPSS	- Statistical Package for the Social Sciences
UC	- Ulcerative colitis
WBC	- White Blood Cell

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1 Considerações Gerais .....	13
1.2 Corticosteroides na Colite Ulcerativa .....	14
1.3 Dependência de corticosteroides durante o tratamento da Colite Ulcerativa.....	15
1.4 Tratamento da Colite Ulcerativa dependente de Corticosterides... ..	16
1.5 Justificativa .....	20
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
<b>3 MATERIAL E METODOS .....</b>	<b>23</b>
3.1 População de Pacientes .....	23
3.2 Desenho do estudo e acompanhamento Clínico – Laboratorial .....	24
3.3 Medidas de evolução .....	27
3.3.1 Medida de evolução primária .....	27
3.3.2 Medida de evolução secundária .....	27
3.4 Análise Estatística .....	28
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>
<b>APÊNDICE A- Artigo Submetido e Publicado da Tese de Doutorado.....</b>	<b>36</b>
<b>APÊNDICE B- Formulário de Registro de Dados do Estudo.....</b>	<b>57</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Considerações Gerais

Colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal (DII) idiopática da mucosa colônica caracterizada clinicamente por episódios intermitentes de exacerbações agudas alternados com períodos de remissão (Schwartz & Cohen, 2008). Embora sua patogênese ainda não seja totalmente esclarecida, a hipótese atual é a de que defeitos no sistema imune inato permitam que bactérias invadam a mucosa intestinal, resultando numa exacerbação da resposta imune adaptativa, a qual conduziria a importante dano intestinal (Rutgeerts, Vermeire & Van Assche, 2009).

Do ponto de vista epidemiológico, as taxas de incidência e prevalência da doença variam de 3 a 15:100.000 e 50 a 80:100.000, respectivamente (Shivananda et al., 1996). A afecção pode ser diagnosticada em qualquer faixa etária, embora haja predominância em adultos jovens, entre os 15 e 30 anos, e um segundo pico de incidência na 5ª década de vida (Loftus Jr, 2004). Não existe predominância da ocorrência da doença relacionada ao gênero. Entretanto, a incidência da colite ulcerativa parece ser maior em judeus e na raça branca e menor em populações hispânicas e na raça negra (Calkins et al., 1984).

O tratamento clínico da colite ulcerativa no longo prazo é direcionado para induzir e manter a remissão da doença, prevenir ou reduzir as complicações relacionadas à afecção e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (Silverberg et al., 2005; Rutgeerts, Vermeire & Van Assche, 2009). Durante as exacerbações da doença, tratamento medicamentoso ou intervenções cirúrgicas são comumente necessários para induzir sua remissão. É desejável que as estratégias terapêuticas a serem utilizadas neste contexto clínico induzam a pronta resposta e mantenham os pacientes em remissão prolongada, ao mesmo tempo em que se minimiza a dependência de esteróides e a toxicidade relacionada ao tratamento utilizado (Panaccione et al., 2008). Estas estratégias poderão contribuir para a redução das complicações, de hospitalizações e da necessidade de colectomia ocasionadas pela doença, bem como poderão prevenir a mortalidade relacionada à colite e promover a melhora na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Infelizmente, uma

significativa parcela dos pacientes com colite ulcerativa não recebem terapia adequada e sua doença permanece ativa, levando a inflamação contínua e, possivelmente, ao surgimento de complicações, potencialmente graves, decorrentes da doença subjacente ou do uso contínuo de esteróides. Geralmente, a abordagem terapêutica baseia-se na gravidade e extensão da colite (Kornbluth & Sachar, 2004). Tem-se testemunhado o surgimento de terapias mais seguras e efetivas nos últimos anos, além de importantes avanços nas técnicas cirúrgicas, as quais tem tido um impacto para a melhoria do curso evolutivo da doença e na qualidade de vida dos pacientes. Não obstante estes importantes avanços, uma proporção substancial de pacientes continua a apresentar formas particularmente graves e/ou refratárias da doença, o que frequentemente conduz à necessidade de terapias repetidas com potencial para toxicidade significativa e, mesmo, à colectomia, a qual é virtualmente curativa, mas frequentemente inaceitável na concepção do paciente (Porro et al., 2007).

## 1.2 Corticosteroides na Colite Ulcerativa

Os corticosteroides sistêmicos têm sido utilizados há mais de 50 anos para tratar pacientes com DII em atividade. Em 1955, Truelove e Witts demonstraram que a cortisona oral efetivamente induzia remissão em pacientes com colite ulcerativa em atividade (Truelove & Witts, 1955). Os corticosteroides permanecem como uma das drogas mais efetivas empregadas no tratamento das exacerbações moderadas a graves da colite ulcerativa (Esteve & Gisbert, 2008). Eles permitem rápido controle da atividade da doença e alívio dos sintomas na maioria dos pacientes com colite ulcerativa (Kornbluth et al., 2004). Cerca de 50% a 80% dos pacientes para os quais corticóides são prescritos obterão resolução ou melhora evidente dos sintomas dentro de um mês (Faubion et al., 2001). Os esteróides são habitualmente prescritos com a finalidade de rapidamente se obter a melhora dos sintomas clínicos relacionados com a colite ulcerativa, os quais afetam de maneira significativa o bem-estar dos pacientes. Neste contexto, uma vez tendo-se controlado os sintomas, almeja-se que os pacientes sejam rapidamente retirados do uso de esteróides e que seja prescrita alguma outra terapia que tenha um perfil de segurança favorável e que permita a manutenção da remissão clínica. É bem conhecido que os corticosteroides não são apropriados para tratamento de manutenção, em parte,

devido a sua falta de eficácia na prevenção de recorrências (Leonnard-Jones, 1992; Kornbluth & Sachar, 2004). Além disso, seu uso associa-se frequentemente com uma ampla gama de efeitos adversos bem conhecidos, ocasionando substancial risco durante o tratamento no longo prazo (Katz, 2004, Irving et al., 2007). Os esteróides com ação tópica, embora apresentem menos efeitos adversos do que os glicocorticóides sistêmicos, também são relativamente ineficazes para manutenção da remissão. Compondo o problema, uma substancial taxa de pacientes torna-se dependente ou refratário a esta classe de drogas (Munkholm et al., 1994; Faubion et al., 2001).

É importante destacar que embora os corticosteroides possam controlar os sintomas da colite ulcerativa no curto prazo, estas drogas, geralmente, não permitem obter a cura da mucosa intestinal (Modigliani et al., 1990). Sabe-se que a cura das lesões na mucosa é importante indicador do controle da inflamação e sinal que o intestino está recuperando a normalidade (Panaccione et al, 2008). Num experimento avaliando o efeito dos glicocorticóides sobre a cura da mucosa colônica, foi observado que a correlação entre atividade clínica da doença e gravidade (grau de lesão) endoscópica foi ruim. Neste estudo, cerca de 90% dos pacientes tiveram resposta clínica, ainda que a melhora endoscópica tenha sido notada em apenas 29% dos pacientes (Modigliani et al., 1990). Este achado sugere fortemente que a melhora sintomática isolada pode não ser suficiente para modificar o curso clínico da doença (Kane et al., 2009).

### 1.3 Dependência de corticosteroides durante o tratamento da Colite Ulcerativa

Nos pacientes com colite ulcerativa que necessitam do tratamento com esteróides, as evoluções clínicas de imediato são geralmente adequadas, enquanto o cenário evolutivo dentro de um ano é sombrio (Panaccioni et al., 2008). Aproximadamente 25% dos pacientes que inicialmente respondem aos corticosteroides serão incapazes de tolerar sua retirada sem que apresentem recorrências sintomáticas (Faubion et al., 2001; Carter et al., 2004). Assim, num estudo de base populacional envolvendo indivíduos com colite ulcerativa foi observado que em um ano após o tratamento inicial com corticosteroides, a resposta prolongada à droga foi vista em apenas metade dos casos, enquanto dependência de esteróides desenvolveu em 22% e cirurgia foi necessária em quase

um terço dos pacientes (Faubion et al., 2001). Em colite ulcerativa pediátrica, os resultados são algo superiores, mas ainda longe de serem ótimos. Num estudo populacional muito semelhante, envolvendo crianças portadoras de colite ulcerativa, a resposta sustentada aos esteróides em um ano foi observada em 43%, enquanto a evolução com dependência de esteróides ocorreu em 14% dos casos (Tung et al., 2006).

Embora não haja nenhuma definição padrão, em uso na prática clínica, para “dependência” de esteróides, tal termo, habitualmente, se refere aos pacientes que apresentam resposta clínica inicial aos corticosteroides, mas nos quais os sintomas da colite recorrem rapidamente após a redução da dose do esteróide ou logo seguindo a retirada do mesmo, requerendo reintrodução desta droga para manter o controle sintomático (D’Haens et al., 2007). Conseqüentemente, “dependência de esteróides” em pacientes com colite ulcerativa é um problema clínico de grande relevância na prática médica e manutenção da remissão sem esteróides é uma meta importante a ser alcançada para estes pacientes (Porro et al., 2007, Panaccione et al., 2008).

#### 1.4 Tratamento da Colite Ulcerativa dependente de corticosteroides

O armamentário terapêutico empregado em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente (CUCD) é bastante amplo, e visa alcançar a retirada total ou substancial redução da dose dos corticosteroides, ao mesmo tempo em que se mantém a remissão da doença. Tradicionalmente, a escolha da abordagem terapêutica é entre a cirurgia ou o escalonamento do tratamento clínico, o qual geralmente envolve a introdução de drogas imunossupressoras (Carter et al., 2004; Schwartz & Cohen, 2008).

No que se refere ao tratamento clínico de pacientes com CUCD, os imunossupressores podem induzir e manter a remissão da doença, ao mesmo tempo em que se reduz a dose dos corticóides ou mesmo se suspenda completamente o seu uso (Sands, 2006; Su & Lichtenstein, 2004). Os análogos das tiopurinas - 6-mercaptopurina e azatioprina (AZA) - têm sido utilizados no tratamento das doenças inflamatórias intestinais por mais de três décadas. O papel destes medicamentos para manter a remissão sem esteróides em pacientes cortico-dependentes com doença de Crohn é inquestionavelmente apoiado por evidências



advindas de estudos clínicos controlados randomizados. Por outro lado, esta afirmação não pode ser dita tão firmemente para o uso destes imunossupressores na colite ulcerativa, onde existem menos estudos de qualidade, caracterizados pelo tamanho da amostra limitado, resultados muitas vezes díspares, e parâmetros de evolução muito variáveis (Ghosh et al., 2006). Assim, a prática clínica é frequentemente embasada por evidências de qualidade duvidosa oriundas de séries de casos.

Embora hajam dados limitados demonstrando que AZA é droga poupadora de esteróides em pacientes com colite ulcerativa (Ghosh et al., 2006), as normas baseadas em evidências publicadas pela Associação Americana de Gastroenterologia e pela Sociedade Européia para o estudo das doenças inflamatórias intestinais sugerem que pacientes com CUCD devam ser tratados com análogos das tiopurinas, visando reduzir ou descontinuar o uso de esteróides (Kornbluth & Sachar, 2004; Carter et al., 2004; Lichtenstein et al., 2006). O mecanismo de ação destas drogas na DII permanece discutível, mas certamente a inibição da síntese de novo das purinas pela incorporação de metabólitos da 6-tioguanina no DNA celular desempenha importante papel (Brogan et al., 1985).

Diversos estudos não controlados demonstraram que a AZA ou a 6-mercaptopurina podem ser eficazes na terapia de pacientes com colite ulcerativa (Steinhart et al., 1990; Paoluzi et al., 2002). Por outro lado, outros experimentos controlados produziram resultados controversos ou negativos (Hawthorne et al., 1992; Mantzaris et al., 2004). Deve ser ressaltado também que poucos estudos incluíram pacientes estritamente definidos como dependente de esteróides (Porro et al., 2007). Muitos estudos fazem referência à doença refratária a esteróides, cuja evolução clínica é, em geral, bem distinta daquela dos pacientes córtico-dependentes. É muito provável que as discrepâncias observadas entre os resultados nos estudos citados sejam relacionadas a diferenças no desenho do experimento, nos critérios de inclusão da população estudada, na definição estrita de dependência de esteróides, na dose do imunossupressor e na duração do tratamento, nas definições de resposta terapêutica e no uso de outros tratamentos simultâneos (Sood et al., 2000; Ghosh et al., 2006).

No mais extenso estudo retrospectivo que relata a experiência clínica de três décadas com AZA, realizado em Oxford, as taxas de remissão global foram de 58% em 346 pacientes com colite ulcerativa de comportamento clínico diverso (Fraser,

Orchard & Jewell, 2002). Num estudo retrospectivo, observou-se evidente redução do consumo de esteróides, bem como da taxa de recidivas clínicas nos três anos após início da terapia com AZA, comparado com os dois anos anteriores a este tratamento (Ardizzone et al., 1997). Em uma revisão sistemática que incluiu apenas estudos controlados randomizados com um mínimo de seis meses de seguimento, verificou-se razoável eficácia da AZA no tratamento da colite ulcerativa (Leung et al., 2007). Uma meta-análise que incluiu quatro estudos demonstrou que pacientes que continuam a receber AZA ou 6-mercaptopurina são menos prováveis de apresentar recorrências, quando comparado com aqueles em placebo (OR:0,41) (Timmer, McDonald & Macdonald, 2007). Na mais recente meta-análise realizada (Gisbert et al., 2009), avaliando seis estudos sobre a eficácia da terapia com tiopurinas na colite ulcerativa, verificou-se que a eficácia média para manutenção da remissão foi de 60% versus 37% em controles (OR = 2.56; IC 95% = 1.51-4.34).

As doses de AZA mais efetivas parecem estar entre 2 a 3 mg/Kg/dia, embora não hajam comparações diretas entre níveis de doses diferentes. Similarmente, não existem estudos comparando o uso de doses progressivas e escalonadas (ajustadas ao peso corporal) com a prescrição da dose ideal total desde o início da terapia (Siew & Kamm, 2009). O recente experimento de Ardizzone e colaboradores (2006) é, atualmente, a melhor publicação de qualidade a respeito da eficácia da AZA na CUCD, sendo considerado o estudo “padrão ouro” neste contexto clínico. Neste estudo randomizado, controlado, prospectivo, e investigador-cego, 72 pacientes incluídos apresentavam doença em atividade clínica e endoscópica, a despeito do uso de pelo menos 10 mg/dia de prednisolona, além de terem apresentado falha clínica a pelo menos duas tentativas de redução da dose de esteróides dentro de seis meses precedentes. Os autores observaram que 53% dos pacientes dependentes de esteróides e tratados com AZA (2 mg/Kg/dia) alcançaram remissão clínica e suspenderam o uso de esteróides em seis meses. Este resultado foi estatisticamente superior ao grupo placebo (5-ASA - 3,2 g/dia), no qual apenas 21% dos pacientes obtiveram remissão e descontinuaram o uso de esteróides no mesmo período de tempo (OR 4,78; IC: 95%, 1,57-14,5). É importante destacar que esta taxa de sucesso com AZA é superior às taxas históricas de remissão obtidas com tratamento com biológicos na colite ulcerativa (Porro & Cassinotti, 2007).

Considerando-se que o uso prolongado de imunossupressores é recomendado para reduzir o risco de recidivas da doença, questões relativas com o

tratamento no longo prazo, especialmente surgimento de infecções e neoplasias, são particularmente importantes (Velayos & Mahadevan, 2007). É bem conhecido o temor de que o uso de AZA ou 6-mercaptopurina possa aumentar o risco do desenvolvimento de linfomas. Estima-se que haja um acréscimo de quatro vezes no risco de linfoma em pacientes com DII que estejam sendo tratados com análogos das tiopurinas (Kandiel et al., 2005). Não obstante este aumento de risco relatado, é consenso atual que o benefício global da terapia imunomoduladora supera seu possível risco, particularmente em populações mais jovens (Lewis, Schwartz & Lichtenstein, 2000).

No cenário clínico em que ocorre falha terapêutica no tratamento com tiopurinas ou intolerância às mesmas, poucas são as opções eficazes de tratamento medicamentoso disponíveis. Dados atuais de suporte para a eficácia do metotrexato em induzir ou manter a remissão na colite ulcerativa não são convincentes (Fraser et al., 2002). Embora alguns estudos não controlados tenham sugerido benefício no tratamento com esta droga, no único estudo duplo-cego, placebo-controlado, realizado até o presente (Oren et al., 1996) não houve significativa resposta terapêutica a este imunossupressor. Estudos controlados randomizados adicionais com o metotrexato serão necessários antes que indiscutíveis conclusões possam ser estabelecidas.

O infliximab é um anticorpo monoclonal quimérico direcionado contra o fator de necrose tumoral-alfa - uma citocina inflamatória - tendo sido aprovado nos EUA, para o tratamento da colite ulcerativa no ano de 2005 (Velayos & Mahadevan, 2007). Em pacientes com colite ulcerativa grave refratária a corticosteroides, uma única infusão de infliximab na dose de 5 mg/Kg reduziu a necessidade de colectomia dentro de três meses, de 29%, comparado a 67% com placebo ( $P=0,017$ ) (Jarnerot et al., 2005). O estudo ACT (Study of Efficacy and Safety in Moderate to Severe Ulcerative Colitis) revelou que o esquema de indução de 5 mg/Kg de infliximab nas semanas 0, 2, e 6, seguido por dose de manutenção em intervalos de 8 semanas é efetivo no tratamento de colite ulcerativa moderada/grave, permitindo melhora da doença, indução de remissão, cura da mucosa, e diminuição do requerimento de esteróides durante 54 semanas (Rutgeerts et al., 2005). Armuzzi e colaboradores (2004), avaliando especificamente 20 pacientes com CUCD, randomizou os mesmos para tratamento com infliximab ou metilprednisolona. Os autores observaram eficácia similar de ambos os tratamentos,

para a indução e manutenção da remissão clínica, indicando que existe potencial utilidade de infusões esquematizadas de infliximab para manutenção de remissão no curto prazo em pacientes córtico-dependentes. O tratamento prolongado com biológicos é recomendado para reduzir o risco de recorrências da doença, minimizar o desenvolvimento de anticorpos direcionados contra estas drogas e as possíveis reações à infusão, bem como atenuar a perda da eficácia da própria medicação (Velayos & Mahadevan, 2007). Estudos controlados no futuro poderão estabelecer o real lugar do tratamento com biológicos para a manutenção da remissão sem esteróides, particularmente no longo prazo.

A proctocolectomia total com ileostomia definitiva ou, preferencialmente, com bolsa ileo-anal é virtualmente resolutive no tratamento da colite ulcerativa e historicamente foi considerado o tratamento definitivo desta afecção (Velayos & Mahadevan, 2007). Não obstante este fato, este procedimento cirúrgico pode ser associado com várias complicações orgânicas e psicológicas. Sabe-se que a colectomia com bolsa ileo-anal aumenta o risco de infertilidade em aproximadamente três vezes em mulheres com colite ulcerativa, quando comparado com aquelas tratadas clinicamente (Waljee et al., 2006). Este prejuízo na capacidade reprodutiva pode, pelo menos em parte, ser decorrente da formação de aderências e cicatrizações na pelve (Cohen et al., 2005). Surtos de “pouchite” (inflamação da bolsa ileo-anal) podem ocorrer em quase metade dos pacientes e incontinência em até um terço (Delaney et al., 2003). Saliente-se que este procedimento cirúrgico exige boa habilidade técnica e apresenta risco imediato de 5% a 18% de deiscência da anastomose ou de septicemia pélvica (Cohen et al., 2005).

### 1.5 Justificativa

Em um estudo prévio inédito (Chebli et al., 2010), nós demonstramos a segurança e a boa eficácia do tratamento com AZA no curto prazo (12 meses) em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente.

Considerando a escassa disponibilidade de experimentos com esta droga envolvendo pacientes com CUCD, aliado ao fato dos estudos atualmente publicados serem limitados pelo pequeno tamanho da população avaliada e pelo período

relativamente curto de acompanhamento (entre 6 e 18 meses) (Porro et al., 2007).

E tendo em vista nossa considerável experiência clínica adquirida em um centro terciário especializado nas doenças inflamatórias intestinais, nós nos propusemos a realizar este estudo em questão, o qual é a continuidade do estudo prévio acima descrito desenvolvido por nosso grupo, com a particularidade do período mais extenso de seguimento (36 meses) incluído.

Portanto, o corrente estudo prospectivo longitudinal aberto foi desenvolvido visando avaliar, em pacientes com CUCD, a eficácia e segurança da AZA em manter a remissão clínica e em poupar esteróides no longo prazo.

## **2 OBJETIVOS**

Avaliar a possível eficácia e segurança, no longo prazo do tratamento com AZA para manutenção da remissão sustentada sem esteroides na CUCD

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 População de Pacientes

Pacientes adultos com CUCD, diagnosticados e acompanhados regularmente no Centro de doenças Inflamatórias Intestinais do Hospital Universitário, da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), foram prospectivamente incluídos para terapia com AZA no período de dezembro/2004 a junho/2006 (última inclusão). O diagnóstico de colite ulcerativa baseou-se em critérios rotineiros clínicos, radiológicos, endoscópicos e histopatológicos (Stange et al., 2008).

Dependência de esteroides foi definida quando o paciente apresentou resposta clínica inicial, parcial ou completa, ao tratamento com prednisona (40-60 mg/dia) dentro do período de um mês, associada a quaisquer das seguintes ocorrências: a) recorrência dos sintomas dentro de três meses após a retirada da droga; b) necessidade do uso contínuo de esteroides ( $\geq 10$  mg prednisona/dia) durante três meses após início para manter o controle dos sintomas; ou c) recorrência dos sintomas nos últimos seis meses durante pelo menos duas tentativas de redução da dose. (Faubion et al., 2001; D'Haens et al., 2007).

Os critérios de inclusão foram: idade  $> 18$  anos e  $< 65$  anos; colite ulcerativa em remissão clínica por pelo menos oito semanas antes da inclusão; córtico-dependência; e aqueles em uso de uma dose estável de prednisona (exceto durante as tentativas de retirada desta droga) por um período mínimo de quatro semanas antes da triagem inicial. O recrutamento de pacientes foi restrito àqueles pacientes com tendência para apresentar recorrências, isto é, com pelo menos uma recorrência clínica nos 12 meses anteriores à inclusão (D'Haens et al., 2007). Os pacientes incluídos no estudo poderiam estar recebendo tratamento concomitante com aminossalicilatos oral, se a mesma dose fosse mantida por no mínimo quatro semanas antes da entrada no estudo. O eventual uso de aminossalicilatos ou corticosteroides tópicos era suspenso no mínimo duas semanas antes da inclusão. Não era permitido o uso de antiinflamatórios não-esteroides ou outros imunossupressores durante o experimento. Tratamento sintomático com antiácidos,

antidiarreicos e antiespasmódicos era aceito. Os pacientes eram excluídos quando quaisquer das seguintes condições estivessem presentes na visita inicial: contra-indicação conhecida ao uso de AZA; doença sistêmica grave; infecção sistêmica; gravidez ou desejo de engravidar nos próximos 3 anos; período de lactação; história atual ou pregressa de qualquer tipo de malignidade (exceto cutânea) ou de displasia colônica; colite ulcerativa refratária a esteroides ou colite grave requerendo terapia com corticosteroide parenteral, hospitalização ou cirurgia iminente. As mulheres em idade fértil eram orientadas a utilizar métodos de contracepção efetivos. Em adição eram excluídos os pacientes que tivessem recebido tratamento prévio com biológicos, talidomida, tacrolimus, micofenolato de mofetil, ciclosporina, metotrexato ou qualquer droga em investigação. O tratamento com AZA foi fornecido ao paciente sem qualquer ônus, através de parceria com a Secretaria Municipal de Saúde-Juiz de Fora, Minas Gerais.

### 3.2 Desenho do estudo e acompanhamento Clínico-Laboratorial

O desenho do estudo caracterizou-se por um ensaio clínico prospectivo aberto. O estudo foi conduzido durante três anos, incluindo um período anterior de duas semanas para “screening” dos pacientes antes do início da terapia. O protocolo do estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFJF e um termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os pacientes incluídos no estudo. Na visita inicial, todos os pacientes foram avaliados quanto aos critérios de elegibilidade, e foram registrados: dados demográficos (idade, sexo e peso corporal), história clínica (tabagismo, duração e extensão da colite, número de recorrências da doença nos últimos 12 meses) e medicações de uso habitual (incluindo dose diária média de esteroides nos últimos 12 meses e duração prévia do tratamento com esta droga). Foram também obtidas amostras de sangue para avaliação hematológica e bioquímica. A classificação anatômica da colite foi determinada pela extensão macroscópica da doença (Silverberg et al., 2005) observada durante a realização de uma colonoscopia realizada até 12 meses antes da inclusão no estudo. A atividade da doença foi avaliada na admissão e a cada dois meses a seguir, durante todo o período do estudo, de acordo com critérios



obtidos através da avaliação clínica (Kornbluth & Sachar, 2004). Remissão clínica foi considerada quando houvesse um número inferior a três evacuações/dia, isentas de pus e/ou sangue, além da ausência de sintomas sistêmicos. Recorrência de sintomas foi definida pelo aparecimento de novos sintomas, ou seja, aumento da frequência de evacuações acima de duas vezes do normal para o paciente e reaparecimento de sangramento retal.

Os pacientes foram instruídos a utilizar diários para a anotação do uso de AZA (incluindo número de comprimidos ingeridos diariamente), prednisona e outras medicações concomitantes, presença de sintomas e possível ocorrência de efeitos adversos. Os seguintes efeitos adversos foram especialmente investigados: pancreatite, intolerância digestiva (náuseas/vômitos e dor abdominal), infecções, mielossupressão, hepatotoxicidade e ocorrência de neoplasias. Tais informações foram registradas em cada retorno à consulta durante o acompanhamento ambulatorial. Os pacientes foram acompanhados mensalmente durante os primeiros 12 meses e, posteriormente, em intervalos de dois meses ou menos, de acordo com o julgamento clínico e a necessidade do paciente. Todos os pacientes se submeteram a rotinas laboratoriais visando supervisionar a ocorrência de possível mielo e hepatotoxicidade durante o tratamento. Dessa forma, na inclusão, foi realizado hemograma completo, dosagem sérica das aminotransferases e da amilase. A monitorização subsequente incluiu hemograma a cada duas semanas durante oito semanas, e depois a cada um ou dois meses durante o período da terapia. Dosagem de aminotransferases foi realizada a cada três meses, indefinidamente, e amilase sérica apenas durante os primeiros três meses da terapia com AZA. Além disso, todos os pacientes foram alertados a retornarem prontamente em caso de dor faríngea ou qualquer outro sinal de infecção. Leucopenia foi definida pela contagem de leucócitos abaixo de 3.000 células/mm<sup>3</sup> e leucopenia grave quando os mesmos estivessem abaixo de 2.000 células/mm<sup>3</sup>; trombocitopenia foi considerada quando a contagem de plaquetas fosse inferior a 100.000 células/mm<sup>3</sup>.

A dose inicial de AZA foi de 50mg/dia com aumento gradual dependendo da resposta clínica e dos ajustes necessários para prevenir leucopenia ou trombocitopenia. Tais ajustes ocorreram durante o tratamento, objetivando a dose ideal de AZA entre 2,0 e 3,0 mg/kg/dia. A AZA foi suspensa ou sua dose reduzida

em caso de febre, doenças concomitantes ou toxicidade relacionada à droga. Após duas semanas de terapia com AZA, quando a leucometria total permanecesse acima de 10.000 células/mm<sup>3</sup> a dose era aumentada em 25mg, no intervalo de duas semanas, com monitorização da contagem leucocitária até que esta alcançasse níveis abaixo de 10.000 células/mm<sup>3</sup> ou até que a dose ideal baseada no peso corporal fosse obtida. Nesse momento, iniciava-se gradualmente a redução do uso de esteróides (habitualmente, entre 12 e 16 semanas após o início da AZA). Tentativas sistemáticas foram realizadas para suspender o uso de corticosteroides pelos pacientes que permanecessem em remissão clínica, de acordo com uma programação pré-definida. Pacientes recebendo dose de prednisona acima de 40mg/dia foram orientados a reduzir a dose em 5mg por semana; aqueles com doses entre 40 e 20mg/dia reduziam em 2,5mg a cada semana e os pacientes usando uma dose abaixo de 20 mg/dia foram instruídos a diminuir a dose em 2,5 mg a cada duas a três semanas. No caso de recidiva dos sintomas no curso da redução dos esteróides, a dose de prednisona era aumentada para 0,5-1,0 mg/kg/dia e, posteriormente, nova tentativa de redução era realizada seguindo o mesmo esquema inicial ou um pouco mais lento. Os pacientes que necessitaram reintrodução da prednisona depois da suspensão seguiram o mesmo protocolo de manejo. Com a suspensão da prednisona, a AZA foi mantida na mesma dose indefinidamente. Os pacientes que demonstraram falha terapêutica à dose máxima de AZA (2,0-3,0 mg/kg/dia) e aqueles intolerantes à droga foram retirados do estudo e encaminhados para tratamento alternativo.

Os pacientes tiveram a resposta avaliada (incluindo dose de corticosteroides) em intervalos anuais depois de iniciada o tratamento com AZA. Cada paciente teve sua resposta a AZA avaliada por até 36 meses (ou até sua retirada do estudo por algum motivo). A última avaliação foi no máximo até o segundo semestre de 2009

Durante o acompanhamento ambulatorial, os pacientes eram retirados do estudo quando quaisquer dos seguintes eventos ocorressem: não adesão ao tratamento, desenvolvimento de infecção grave, elevação persistente das aminotransferases acima de três vezes o limite superior da normalidade, leucopenia grave e persistente, nítido agravamento da colite requerendo terapia de resgate, efeitos adversos inaceitáveis, possibilidade de cirurgia iminente ou desejo do paciente. Os pacientes que descontinuaram o uso da AZA devido a

eventos adversos ou a falha terapêutica foram conduzidos do mesmo modo que aqueles que continuaram a receber esta terapia.

### 3.3 Medidas de Evolução

#### 3.3.1 Medida de evolução primária

A medida da eficácia primária foi o percentual de pacientes com CUCD com resposta sustentada à terapia com AZA no final de 12, 24 e 36 meses do tratamento. Resposta sustentada foi definida como a retirada completa dos corticosteroides e manutenção da remissão clínica sem a necessidade de se reintroduzir esteróides durante pelo menos seis meses adicionais. A análise de eficácia primária baseou-se nos pacientes que completaram cada avaliação anual no estudo (per protocolo), mas também em todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose da AZA (intenção de tratar).

#### 3.3.2 Medidas de evolução secundária

As principais avaliações de eficácia secundária foram: necessidade de esteróides expressa como dose cumulativa anual de esteróides e número anual de recorrências da colite após introdução da AZA (para cada paciente individual) comparando-se com a dose cumulativa anual de esteróides e número de recorrências prévias no ano precedente ao início da AZA. Também foram avaliados todos os efeitos adversos (clínicos e laboratoriais).

Os seguintes eventos eram considerados como violação do protocolo: não retorno em pelo menos duas das visitas programadas durante o acompanhamento ambulatorial, adesão irregular ao tratamento (ingestão mensal de menos de 80% dos comprimidos de AZA em pelo menos duas ocasiões) e uso de medicações concomitantes não permitidas pelo protocolo. Em tais circunstâncias, os pacientes eram excluídos do estudo.

### 3.4 Análise Estatística

Visando calcular o tamanho da amostra necessária para o estudo corrente, considerou-se como 20% a probabilidade de remissão clínica sem esteroides obtida com o tratamento com “placebo” (ou mesalazina) em pacientes com CUCD (Ardizzone et al., 2006). Objetivando demonstrar o aumento na taxa de remissão clínica livre de esteróides de 20% para pelo menos 40%, com 80% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ) naqueles pacientes usando AZA, um número mínimo de 42 pacientes teve que ser avaliado.

A análise estatística foi realizada com a utilização do programa SPSS 14.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). As variáveis quantitativas foram expressas como mediana e variações ou como média  $\pm$  DP quando normalmente distribuídas. Estatística descritiva de todas variáveis relevantes para os grupos foram calculadas. Comparações entre os grupos com e sem resposta sustentada a AZA ao final de 12 meses, assim como a possível relação entre a resposta sustentada a AZA com os dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram analisadas utilizando-se o teste t de Student ou o teste do qui-quadrado. Anualmente, o número de recorrências clínicas e a dose cumulativa de esteróides foram comparados com o número de recorrências e dose cumulativa de esteróides no ano anterior ao início do tratamento com AZA utilizando-se o teste t de Student ou o teste do qui-quadrado. A avaliação da eficácia terapêutica da AZA foi realizada baseada em análise intenção de tratar (foram incluídos todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de AZA e que se submeteram a avaliação inicial) e análise “per protocol” (todos os pacientes que completaram cada ano do estudo). Para comparação, o nível de significância estatística foi estabelecido em  $P < 0,05$ .

## 4 CONCLUSÃO

1 - Neste estudo observacional aberto, a AZA mostrou eficácia em manter remissão clínica sustentada sem esteróides durante três anos de tratamento em pacientes com CUCD.

2 - A maioria dos pacientes tratados com AZA que estava em remissão clínica sem esteróides no final do primeiro ano manteve remissão por dois anos adicionais.

3 - Durante a terapia de manutenção no longo prazo com dose estável da AZA, os dados deste estudo suportam o perfil risco-benefício favorável desta droga neste cenário clínico.

4 - Os dados obtidos de sub-análise da duração da doença sugerem que durante o tratamento com AZA, os pacientes com colite ulcerativa com diagnóstico mais recente foram aqueles com maior probabilidade de manter remissão sustentada sem corticosteroide no final de 12 meses.

## REFERÊNCIAS

- Adler, D.J.; Korelitz, B.I. The therapeutic efficacy of 6-mercaptopurine in refractory ulcerative colitis. **Am J Gastroenterol.** v. 85, p. 717–22. 1990.
- Ardizzone, S.; Maconi, G.; Russo, A., et al. Randomised controlled trial of azathioprine and 5-aminosalicylic acid for treatment of steroid dependent ulcerative colitis. **Gut.** v. 55, p. 47–53. 2006.
- Ardizzone, S.; Molteni, P.; Imbesi, V., et al. Azathioprine in steroid-resistant and steroid-dependent ulcerative colitis. **J Clin Gastroenterol.** v. 25, p. 127–30. 1997.
- Armuzzi, A.; De Pascalis, B.; Lupascu, A., et al. Infliximab in the treatment of steroid-dependent ulcerative colitis. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**v. 8, p. 231-3. 2004.
- Brogan, M.; Hiserodt, J.; Oliver, M., et al. The effect of 6-mercaptopurine on natural killer-cell activities in Crohn's disease. **J Clin Immunol.** v. 5, p. 204-11. 1985.
- Calkins, B.M.; Lilienfeld, A.M.; Garland, C.F., et al. Trends in incidence rates of ulcerative colitis and Crohn's disease. **Dig Dis Sci.** v. 29, p. 913-20. 1984.
- Caprilli, R.; Carratu, R.; Babbini, M. A double-blind comparison of the effectiveness of azathioprine and sulphasalazine in idiopathic proctocolitis. **Dig Dis.** v. 20, p.115-20. 1975.
- Carter, M.J.; Lobo, A.J.; Travis, S.P.L., et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. **Gut.** v. 53, p. 1–16. 2004.
- Chebli, L.A.; Felga, G.G.; Chaves, L.D., et al. Early onset steroid-dependent ulcerative colitis is a predictor of Azathioprine response: a longitudinal 12-month follow-up study. **Med Sci Monit.** v. 16, p. P11-6. 2010.
- Cohen, J.L.; Strong, S.A.; Hyman, N.H., et al. Standards Practice Task Force American Society of Colon and Rectal Surgeons. Practice parameters for the surgical treatment of ulcerative colitis. **Dis Colon Rectum.**v. 48, p.1997-2009. 2005.
- Delaney, C.P.; Fazio, V.W.; Remzi, F.H., et al. Prospective, age-related analysis of surgical results, functional outcome, and quality of life after ileal pouch-anal anastomosis. **Ann Surg.** v. 238, p. 221-8. 2003.
- D'Haens, G.; Sandborn, W.J.; Feagan, B.G., et al. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. **Gastroenterology.** v. 132, p. 763-786. 2007.
- Esteve, M.; Gisbert, J.P. Severe ulcerative colitis: at what point should we define resistance to steroids? **World J Gastroenterol.** vol.14, p. 554-7. 2008.

Faubion, W.A.; Loftus, E.V.; Harmsen, W.S., et al. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. **Gastroenterology**. v. 121, p. 255-260. 2001.

Fraser, A.G.; Morton, D.; McGovern, D., et al. The efficacy of methotrexate for maintaining remission in inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther.** v. 16, p. 693-7. 2002.

Fraser, A.G.; Orchard, T.R.; Jewell, D.P. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. **Gut**. v. 50, p. 485–9. 2002.

George, J.; Present, D.H.; Pou, R., et al. The long term outcome of ulcerative colitis treated with 6-mercaptopurine. **Am J Gastroenterol**. v. 91, p. 1711–4. 1996.

Ghosh, S.; Chaudhary, R.; Carpani, M., et al. Is thiopurine therapy in ulcerative colitis as effective as in Crohn's disease? **Gut**. v. 55, p. 6–8. 2006.

Gisbert, J.P.; Linares, P.M.; McNicholl, A.G., et al. Meta-analysis: the efficacy of azathioprine and mercaptopurine in ulcerative colitis. **Aliment Pharmacol Ther.** vol. 30, p. 126-37. 2009.

Hawthorne, A.B.; Logan, R.F.A.; Hawkey, C.J., et al. Randomised controlled trial of azathioprine withdrawal in ulcerative colitis. **Brit Med J**. v. 305, p. 20–2. 1992.

Irving, P.M.; Geary, R.B.; Sparrow, M.P., et al. Appropriate use of corticosteroids in Crohn's disease. **Aliment Pharmacol Ther.** vol. 26, p. 313-29. 2007.

Järnerot, G.; Hertervig, E.; Friis-Liby, I., et al. Infliximab as rescue therapy in severe to moderately severe ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled study. **Gastroenterology**. v.128, p. 1805-11. 2005.

Jewell, D.P.; Truelove, S.C. Azathioprine in ulcerative colitis: final report on controlled therapeutic trial. **Brit Med J**. v. 4, p. 627–30. 1974.

Kandiel, A.; Fraser, A.G.; Korelitz, B.I., et al. Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. **Gut**. v. 54, p. 1121-5. 2005.

Kane, S.; Lu, F.; Kornbluth, A., et al. Controversies in mucosal healing in ulcerative colitis. **Inflamm Bowel Dis**. v. 15, p. 796-800. 2009.

Katz, J.A. Treatment of inflammatory bowel disease with corticosteroids. **Gastroenterol Clin N Am**. v. 33, p. 171-189. 2004.

Kirk, A.P.; Lennard-Jones, J.E. Controlled trial of azathioprine in chronic ulcerative colitis. **Brit Med J**. v. 284, p. 1291–2. 1982.

Kornbluth, A.; Sachar, D. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. **Am J Gastroenterol.** v. 99, p. 1371–85. 2004.

Langholz, E.; Munkholm, P.; Nielsen, O.H., et al. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in Copenhagen county from 1962 to 1987. **Scand J Gastroenterol.** v. 26, p. 1247-1256. 1991.

Leonnard-Jones, J.E. Inflammatory bowel disease: medical therapy revisited. **Scand J Gastroenterol Suppl.** 192, p110-6. 1992.

Leung, Y.; Panaccione, R.; Hemmelgarn, B., et al. Exposing the weaknesses: a systematic review of azathioprine efficacy in ulcerative colitis. **Dig Dis Sci.** v. 53, p.1455-61. 2008.

Lewis, J.D.; Schwartz, J.S.; Lichtenstein, G.R. Azathioprine for maintenance of remission in Crohn's disease: benefits outweigh the risk of lymphoma. **Gastroenterology.** v. 118, p.1018-1024. 2000.

Lichtenstein, G.R.; Abreu, M.T.; Cohen, R., et al. AGA Institute medical position statement on corticosteroids, immunomodulators and infliximab in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology.** v. 130, p. 935–9. 2006.

Lobo, A.J.; Foster, P.N.; Burlen, D.A., et al. The role of azathioprine in the management of ulcerative colitis. **Dis Colon Rectum.** v. 33, p. 374–7. 1990.

Loftus, E.V. Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. **Gastroenterology.** v. 126, p. 1504-1517. 2004.

Mantzaris, G.J.; Sfakianakis, M.; Archavlis, E., et al. A prospective randomised observer-blind 2-year trial of azathioprine monotherapy vs. azathioprine and olsalazine for the maintenance of remission of steroid-dependent ulcerative colitis. **Am J Gastroenterol.** v. 99, p. 1122–8. 2004.

Matè-Jimenez, J.; Hermida, C.; Cantero-Perona, J., et al. 6-Mercaptopurine or methotrexate added to prednisone induces and maintains remission in steroid-dependent inflammatory bowel disease. **Eur J Gastroenterol Hepatol .** v. 12, p. 1227–33. 2000.

Modigliani, R.; Mary, J.Y.; Simon, J.F., et al. Clinical, biological, and endoscopic picture of attacks of Crohn's disease. Evolution on prednisolone. Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires Digestives. **Gastroenterology.**v.98, p. 811-8. 1990.

Munkholm, P.; Langholz, E.; Davidsen, M., et al. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. **Gut.** v. 35, p. 360-362. 1994.



Ng, S.C.; Kamm, M.A. Therapeutic strategies for the management of ulcerative colitis. **Inflamm Bowel Dis.** v. 15, p. 935 -950. 2009.

Panaccione, R.; Fedorak, R.N.; Aumais, G., et al. Review and clinical perspectives for the use of infliximab in ulcerative colitis. **Can J Gastroenterol.** vol. 22, p. 261-72. 2008.

Panaccione, R.; Rutgeerts, P.; Sandborn, W.J., et al. Treatment algorithms to maximize remission and minimize corticosteroid dependence in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther.** v. 28, p.674-688. 2008.

Paoluzi, O.A.; Pica, R.; Marcheggiano, A., 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.** v. 16, p. 1751–9. 2002.

Porro, G.B.; Cassinotti, A.; Ferrara, E., et al. The management of steroid dependency in ulcerative colitis. **Aliment Pharmacol Ther.** v. 26, p. 779-94. 2007.

Rosemberg, J.L.; Wall, A.J.; Levine, B., et al. A controlled trial of azathioprine in the management of chronic ulcerative colitis. **Gastroenterology.** v. 69, p. 96–9. 1975.

Rutgeerts, P.; Sandborn, W.J.; Feagan, B.G., et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. **N Engl J Med.** v. 353, p. 2462-76. 2005.

Rutgeerts, P.; Vermeire, S.; Van Assche, G. Biological therapies for inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology.** v. 136; p. 1182-97. 2009.

Sands, B.E. Immunosuppressive drugs in ulcerative colitis: twisting facts to suit theories? **Gut.** v. 55, p. 437–41. 2006.

Schwartz, M.; Cohen, R. Optimizing conventional therapy for inflammatory bowel disease. **Curr Gastroenterol Rep.** v. 10, p. 585–90. 2008.

Shivananda, S.; Leonard-Jones, J.; Logan, R., et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). **Gut.** vol. 39, p. 690-7. 1996.

Silverberg, M.S.; Satsangi, J.; Ahmad, T., et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. **Can J Gastroenterol.** v. 19 (Suppl A), p. 5-36. 2005.

Sood, A.; Midha, V.; Sood, N.; Kaushal, V. Role of azathioprine in severe ulcerative colitis: one year, placebo controlled, randomised trial. **Indian J Gastroenterol.** v. 19, p. 14-6. 2000.

Stange, E.F.; Travis, S.P.; Vermeire, S., et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: definitions and diagnosis. **J Crohn's Colitis.** v. 2, p. 1-23. 2008.

Steinhart, A.H.; Baker, J.P.; Brzezinski, A., et al. Azathioprine therapy in chronic ulcerative colitis. **J Clin Gastroenterol**. v. 12, p. 271-5. 1990.

Su, C.; Lichtenstein, G.R. Treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine and 6-mercaptopurine. **Gastroenterol Clin N Am**. v. 33, p. 209-34. 2004.

Timmer, A.; McDonald, J.W.; Macdonald, J.K. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. **Cochrane Database Syst Rev**. v. 24. 2007.

Truelove, S.C.; Witts, L.J. Cortisone in ulcerative colitis. Final report on a therapeutic trial **Brit Med J**. v. 2, p. 1041–8. 1955.

Tung, J.; Loftus, E.V. Jr.; Freese, D.K., et al. A population-based study of the frequency of corticosteroid resistance and dependence in pediatric patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. **Inflamm Bowel Dis**. v. 12, p. 1093-100. 2006.

Velayos, F.; Mahadevan, U. Management of steroid-dependent ulcerative colitis: immunomodulatory agents, biologics, or surgery? **Clin Gastroenterol Hepatol**. v. 5, p. 668-71. 2007.

Waljee, A.; Waljee, J.; Morris, A.M., et al. Threefold increased risk of infertility: a meta-analysis of infertility after ileal pouch anal anastomosis in ulcerative colitis **Gut**.v. 55, p. 1575-80. 2006

## APÊNDICE

## **APÊNDICE A – Artigo Submetido e Publicado da Tese de Doutorado**

Azathioprine maintains long-term steroid-free remission through 3 years in patients with steroid-dependent ulcerative colitis

### **AUTHORS**

Liliana Andrade Chebli, M.D.; Leonardo Duque de Miranda Chaves, M.D., Felipe Ferreira Pimentel, M.D., Dolores Martins Guerra, M.D., Renata Maria de Freitas Barros, M.D., Pedro Duarte Gaburri, M.D., Alexandre Zanini, Ph.D, Julio Maria Fonseca Chebli, M.D., Ph.D.

From Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Inflammatory Bowel Diseases Center, University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, University of Juiz de Fora School of Medicine, Minas Gerais, Brazil.

Dr. Julio Maria Fonseca Chebli is the recipient of a grant from CNPq, Brazil; this study was partly supported by a clinical research fund from the CNPq and FAPEMIG, Brazil.

### **Correspondence to:**

**Julio Maria Fonseca Chebli, M.D., Ph.D.**

**Rua Maria José Leal , 296**

**Juiz de Fora, MG, Brazil – CEP 36036-247**

**Tel / Fax: (32) 3216-7122**

**E-mail: chebli@globo.com**

## ABSTRACT

**Background:** Studies assessing the efficacy of azathioprine (AZA) in steroid-dependent ulcerative colitis (SD-UC) are scarce. The purpose of this trial was to explore the efficacy of AZA in maintaining steroid-free remission in SD-UC patients as well as the factors associated to sustained response.

**Methods:** In this observational cohort study 42 subjects with SD-UC were recruited for AZA therapy during a 3-year period. AZA was adjusted for a target dose of 2-3 mg/Kg/day. Steroid therapy was tapered off following a standardized regimen. The primary endpoint was the annual rate of sustained steroid-free response to AZA. Secondary endpoints included clinical recurrence, yearly steroid dose, and safety of treatment.

**Results:** On an intention-to-treat basis, the proportion of patients remaining in steroid-free remission at 12, 24, and 36 months was 0.55, 0.52, and 0.45, respectively. A significant decrease in the flare-ups rate as well as in requirement for steroids were observed during 3 years on AZA compared with the previous year ( $P=0.000$  for both). Patients with and without sustained response were comparable according to demographics, extent of disease, dose of AZA, steroids and 5-ASA use. Only shorter disease duration <36 months was associated to off-steroids remission ( $P=0.02$ , OR 3.12 95% CI 1.89-7.64). AZA was well tolerated and its benefit-risk profile favorable.

**Conclusions:** In this open-label observational trial AZA showed sustained efficacy for maintenance of clinical remission off steroids and steroid sparing through 3 years of therapy in SD-UC. Patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-free remission at the end of 12 months while on AZA.

**Key Words:** Ulcerative colitis; inflammatory bowel disease; corticosteroids; azathioprine;

## INTRODUCTION

Ulcerative colitis (UC) is a lifelong, immune-mediated inflammatory condition of the colonic mucosa, which is characterized by a relapsing and remitting course.<sup>1,2</sup> The primary goals of therapy in the treatment of UC are to induce remission of patient symptoms as rapidly as possible and maintain remission on a long-term basis. Reducing the episodes of relapses, it is possible to reduce the risk of long-term complications; and improves the patients' quality of life.<sup>3</sup>

Corticosteroids remain one of the most effective therapies for inducing remission in patients with moderate-to-severe UC.<sup>4</sup> Approximately 50%-80% of patients prescribed corticosteroids will experience a rapid relief of symptoms.<sup>5</sup> Nonetheless, corticosteroids are not used in maintenance therapy,<sup>6</sup> mainly because undesirable side effects outweigh the possible benefits.<sup>7</sup> Furthermore, at 1 year, less than half of UC patients who require steroids have a sustained response, nearly one-third of patients require colectomy, and approximately a quarter is unable to support its withdrawal without relapsing, suggesting that the need to start steroid therapy in UC is associated with a dismal long-term prognosis.<sup>5</sup> Thus, corticosteroid dependence in patients with UC is a pivotal clinical problem and maintenance of steroid-free remission is an important current evolving treatment goal.<sup>1</sup>

Patients with steroid dependent UC are usually given a choice between colectomy or stepped-up medical treatment, which traditionally involves prescription of an immunosuppressive drug.<sup>8</sup> Thiopurine therapy has found widespread use for this setting in clinical practice.<sup>6,9</sup> Although the data supporting the use of AZA are more robust in steroid-dependent Crohn's disease<sup>10,11</sup> than in UC, there are limited data that AZA is steroid sparing in the latter.<sup>12,13</sup> Recently, the evidence-based guidelines published by American Gastroenterological Association<sup>14</sup> advised that patients with steroid-dependent UC should be treated with azathioprine (AZA) or 6-mercaptopurine to reduce or preferably eliminate steroids use. However, long-term clinical trials assessing the specific issue of corticosteroid-dependent UC are scanty, conflicting in results, or suffer from small sample sizes.<sup>10</sup> In addition, the marked heterogeneity of populations included, variables study designs, inadequate dosing of AZA and ambiguous endpoints preclude strong conclusions.<sup>11,13</sup>

The purpose of this study was to explore the efficacy in maintaining steroid free remission and the safety of AZA in steroid-dependent UC patients as well as the factors associated to sustained clinical response.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Recruitment of Patients**

Between December 2004 and June 2006, adult outpatients of the Inflammatory Bowel Disease (IBD) Center at the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, School of Medicine, Minas Gerais, Brazil, presenting a corticosteroid-dependent UC were recruited consecutively. The diagnosis of UC was established by a combination of typical clinical, endoscopic, and histological criteria.<sup>15</sup>

Patients were arbitrarily described as steroid-dependent<sup>5,15</sup> if they: 1) has been unable to successfully reduce steroids below the equivalent of prednisone 10 mg per day within 3 months of starting steroids, without experiencing a recurrence in colitis symptoms; 2) had a relapse within 3 months of stopping steroids, or 3) had symptoms only controlled by continued use of systemic steroids requiring a daily oral dose of 15-25 mg of prednisone for at least 6 months. Key inclusion criteria were: age  $\geq$  18 years; clinically inactive disease for at least 8 weeks prior to enrollment; steroid-dependency; and stable prednisone dosage (except during attempted tapering) for at least four weeks prior to screening. Also, the recruitment of patients was restricted to those with a certain tendency to relapse, e.g., with at least 1 clinical relapse in the year prior to inclusion.<sup>16</sup> Patients were also eligible if they had been receiving concomitant treatment with 5-ASA, as long as the -dosage had been stable for 4 weeks before entry into the trial. Exclusion criteria included: age below 18 years or above 65 years; presence of stomas, systemic infections; severe flare-ups requiring parenteral steroid therapy, hospitalization, or prompt surgery, and previous use of anti-TNF- $\alpha$  therapy, thalidomide, or other immunosuppressive drug. Patients were also considered ineligible if they had a current or previous history of neoplasm

or colonic dysplasia, serious infections in the previous 3 months or clinically significant co-morbidities. Pregnant or breast-feeding women were not allowed to participate and those with child-bearing potential were required to use an effective means of contraception.

The study protocol was defined in accordance with the declaration of Helsinki and was approved by the Human Use Investigation Committee of our institution. All patients signed a freely informed consent term before being admitted in the study.

### **Treatment Regimens**

Patients who satisfied inclusion criteria and who agreed to enter the trial had the AZA added to steroid therapy, at initial dosage of 50 mg daily for the first 15 days. Tailoring of AZA therapy occurred during treatment, aiming for a target dose of 2-3 mg/kg per day. Thus, after two weeks of AZA therapy, if the white blood cell (WBC) count remained above 10,000/mm<sup>3</sup> the dose was increased by 25 mg at two-week intervals with complete blood count (CBC) monitoring, until the WBC count was below 10,000/mm<sup>3</sup> or the target dose based in body weight was achieved. The dosage could be adjusted to prevent severe leucopenia or thrombocytopenia. In addition, AZA was withheld or the dose was reduced in the occurrence of fever, concurrent disease or adverse events. Generally, after 12-16 weeks, we slowly attempted to taper the corticosteroid, according to a predefined standardized schedule, until withdrawal if the patient's status had remained stable. Thus, individuals taking a prednisone dose above 20 mg/day were allowed to decrease their dose by 5 mg every week until a dose of 20 mg/day is achieved, after which tapering was adjusted by 2.5 mg/week. If a patient experienced a flare-up in the course of steroid tapering, the dose of prednisone was increased to 40 mg daily. After this dose increase, prednisone was again tapered at the same or slightly lower rate. Patients that also required early reintroduction of prednisone after its withdrawal followed the same schedule of management. Once prednisone was discontinued, AZA was maintained at the same dose



throughout the trial period

### **. Study Design and Follow-up**

The trial design was an open-label observational cohort study. Patients were enrolled to receive AZA for a 3-year follow-up period, including an entry screening visit two weeks prior to the initiation of therapy. On inclusion in the trial, eligibility criteria were assessed, demographics and disease-related characteristics and current medications registered and blood samples obtained for hematological assessment and clinical chemistry. The following relevant demographic and clinical data were recorded: gender; age, extent and duration of colitis, median daily dosage of steroids and flare-ups in the last 12 months before entry into the study, cigarette consumption, and treatment with 5-ASA. Colonoscopy performed within previous 12-months of inclusion was used to classify patients with UC according to macroscopic extent of disease.<sup>2</sup> Disease activity was evaluated according to the clinical assessment at baseline and at every two months throughout the study period. Clinical remission was defined by  $\leq 2$  or 3 stools/day, without the presence of blood and/or pus in the stools, with no systemic symptoms.<sup>17</sup> Increase in stool frequency  $\geq 1$  or 2 stools above normal for the patient and recurrence of rectal bleeding indicated clinical relapse.<sup>16</sup>

Patients were instructed on the use of diary cards to record number of bowel movements, the presence or absence of blood in the stools and abdominal pain, their AZA and prednisone intake, and possible occurrence of side effects preceding each clinical appointment. Patients visited the Outpatient Clinic at 1-month intervals for the first 6 months and then at 2 to 3-month periods, or also to withdrawal from the study for a marked exacerbation of symptoms requiring rescue therapy, AZA-related severe adverse events, non-adherence with treatment or study protocol, loss to follow-up, important intercurrent illness, or patient's request. Adherence with treatment was defined as the intake of at least 80% of the AZA pills in the 2-month interval between visits and was assessed by count of the returned pills. Every patient was submitted to the routine laboratory monitoring for potential toxicity during the treatment complete blood count (CBC), serum amylase, and liver function tests before the inclusion, and then every 2 weeks to 4 weeks, monthly during the first trimester and then every 2 to 3 months for the duration of therapy. Serum amylase determination was performed during the first three months or if important abdominal

pain developed over AZA therapy. Leucopenia was defined as a WBC count  $< 3.0 \times 10^9/L$ , severe leucopenia as a WBC count  $< 2.0 \times 10^9/L$ , and thrombocytopenia was considered as a platelet count  $< 100,000 \times 10^6/L$ .

## **Efficacy and Safety Assessments**

The primary endpoint was the rate of corticosteroid-dependent patients with sustained response to AZA therapy at the end of 12, 24, and 36 months after commencement of AZA. Sustained response was defined as maintenance of clinical remission in spite of complete corticosteroid withdrawal and a minimum of 6 months without the need to reintroduce steroids. The primary efficacy analysis was based on patients who completed each annual evaluation of the study (per protocol) (PP) but also on all patients who received at least one dose of the AZA (intention-to-treat) (ITT). Individuals withdrawn from the study for any reason were excluded from the PP analysis but were included in the ITT analysis. Secondary endpoints included median yearly steroid dose (MYSD, mg/year), calculated from non-cumulative median steroids dose at the end of 12, 24, and 36 months, number of annual clinical relapses, the time to complete steroid withdrawal, and safety of AZA use. Safety was evaluated in terms of incidence of side events and changes in routine laboratory tests

## **Statistical Analysis**

In calculating the sample size it was considered a probability of clinical remission without steroids of approximately 20% for patients with steroid dependent

UC under “placebo”(5-ASA).<sup>12</sup> To demonstrate an increase in remission rate off steroids from 20% to 40% in those individuals taking AZA with 80% probability (2-sided test;  $\alpha= 0.01$ ), at least 42 patients would have to be evaluated.

The statistical analysis was performed using SPSS 14.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Quantitative variables were expressed as median and range or as mean  $\pm$  SD when normally distributed. Probabilities of sustained response to AZA were evaluated by life table analysis. The possible relationships between sustained response with demographic, disease-related, and baseline laboratorial data were analyzed using the parametric Student’s t-tests and chi-squared tests. The requirement for corticosteroids, expressed as MYSD and the number of flare-ups in the 12 months prior initiation AZA treatment, were compared with those of the 3-year follow-up on AZA using the Student’s t-test. For comparison, the level of statistical significance was set at  $P < 0.05$  and all reported  $P$ -values are two-tailed.

## **RESULTS**

### **Study Population**

A total of 59 adult UC patients were screened for the study. Of these, 14 (23.7%) patients were not enrolled because they did not satisfy the inclusion criteria and three patients declined to participate (a loss of 5% of those originally eligible). The reasons for refusal were lack of interest (1); and two patients refused to participate after reading the informed consent. Thus 42 patients (71% of the eligible population; 18 males, 24 females, median age 44.2 years (range 18–62) were prospectively included. The median amount of medication dispensed per patient was 81% (71-97%) of the prescribed regimen. Four patients (9.5%) were withdrawn because of adverse events (2), non-adherence to treatment (1), and loss to follow-up (1).

### **Clinical Efficacy**

Overall, during 3-years follow-up sustained steroid free response rates range from 45% to 63% (ITT and PP analyses). In particular, on an ITT basis, the proportion of patients remaining in sustained steroid-free remission at 12, 24, and 36 months was 0.55, 0.52, and 0.45, respectively. On a PP basis, 0.60, 0.63, and 0.57

discontinued steroid therapy while maintained clinical remission at the end 12, 24, and 36 months, respectively. Figure 1 depicts the probability of remaining in sustained remission off steroids during treatment. In 23 patients with sustained response to AZA at first 12 months, median time until complete steroid withdrawal was 6 months (range 4–8 months). The requirement for corticosteroids (MYSD) during 3 years while on AZA was significantly reduced compared with the MYSD values of the previous year. Of note, on a PP basis the MYSD at 12 months before inclusion was 4360 mg/year compared with 1020, 740, and 820 mg/year at 12, 24, and 36 months, respectively, after initiation of AZA ( $P = 0.000$ , for all) (Fig. 2). In addition, a significant decrease in the flare-ups rate was recorded over the 36 months of AZA therapy, compared with the previous 12 months. Indeed, while the number of clinical flare-ups was 1.7 at 12 months before entry, the clinical relapse rates at 12, 24 and 36 months while on AZA were 0.3, 0.3, and 0.5 respectively ( $P=0.000$ , for all) (Fig. 3). Only one patient underwent colectomy during follow-up. Of the 15 patient's refractory to AZA (PP analysis) at first year, 11 needed to progress to salvage infliximab therapy and four individuals choose to remain in steroids.

The two groups - patients with and without sustained response - were comparable according to demographics, dose of AZA, steroids use, and baseline mean WBC count. Likewise, there was no statistically significant difference for the extent and duration of disease between these two groups (Table 1). However, sub-analysis of the latter demonstrated higher rates of sustained remission off steroids among patients with disease duration of <36 months before the initiation of AZA ( $P=0.02$ , OR 3.12 (95% CI 1.89-7.64)).

## **Safety**

Adverse effects were reported in 11 patients (26.2%), of which two (4.7% of the total group) had to discontinue AZA therapy. Reasons for patients withdrawing from treatment due to adverse events included acute pancreatitis (1), and hepatitis (1). Mild nausea or vomiting ( $n=5$ ) and leucopenia ( $n=4$ ) were the most frequent adverse effect. Only one patient presented severe leucopenia. AZA-induced myelotoxicity was managed successfully either with brief lowering of the dose ( $n = 4$ ) or temporary discontinuation ( $n = 1$ ) of medication. In all patients, the same dosages or a mildly lower dose were later tolerated without substantial depression in WBC

during follow-up. None of the patients experienced severe infections and no neoplasm was observed. No patient died due to the AZA-related toxicity.

## **DISCUSSION**

This prospective observational cohort study represents the most extensive investigation to date on the issue of AZA therapy in dependent-steroid UC with regard to length of clinical follow-up and the assessment of durability of AZA responsiveness. Among AZA-treated patients on a maintenance regimen, over 55% (ITT analysis) achieved sustained response without steroids at first 12 months. In addition, the initial benefit appeared to be maintained at long-term follow-up, with 45% of the patients sustaining steroid-free clinical remission at the end 3 years.

Several previous reports have provided some evidence that AZA may be effective as a steroid-sparing therapy, but the most of them enrolled a population too heterogeneous (both steroid-dependent and refractory patients) to demonstrate conclusive results and/or had a short or medium-term clinical follow-up (i.e. 6 to 12 months).<sup>12,18-23</sup> A best evidence for the efficacy of AZA in steroid-dependent UC was demonstrated by Ardizzone et al<sup>12</sup> in a recent randomized, investigator-blind, controlled trial. Seventy-two patients with steroid-dependent UC were randomized to receive AZA (2 mg/Kg/day) or oral mesalamine (3.2 g/day) for a 6-month follow-up period. On an ITT basis, significantly more individuals in the AZA arm attained clinical remission and discontinued steroid therapy (53% vs. 19%;  $P = 0.006$ ). This finding is similar to the rate of remission without steroids of 55% found in our study at the end of a 1-year period on AZA.

It is interesting highlight that compared with 12 months before AZA therapy, a striking decrease (near 80%) in both median dose of steroid and flare-ups rate was observed during subsequent 3 years of AZA treatment. In addition, the majority of individuals who achieved sustained remission off steroids over the first year on AZA were still in steroid-free remission by the third year of AZA therapy (PP analysis). Taken together, these observations indicate that AZA have a persistent beneficial effect for steroid sparing and maintenance of clinical remission purposes in substantial proportion of UC patients who in the first instance respond to drug.

Of note, disease duration further sub-analysis showed that patients with newly diagnosed (<3 years) UC were more probable of achieve sustained steroid free

remission at the end of 12 months. This finding is thought provoking and suggests that the introduction of immunomodulatory agents early in this setting may be a preferred approach. Arguable, the initiation of AZA therapy early in the disease-course may lead to both more effective mucosal immunomodulation and enhance control of colonic ongoing inflammation, which reduce the need for steroids and, perhaps, improve the long-term outcomes. The concept of earlier use of thiopurine immunosuppressive agents improving outcomes was previously highlighted in children with Crohn's disease.<sup>24</sup> Nevertheless further studies are needed to determine if prompt therapy with thiopurine immunomodulators at UC onset may to be associated with better outcomes.

A high overall incidence (26.2%) of side effects to AZA was observed in our trial. Nonetheless, the majority of the patients experienced mild adverse events. Serious adverse effects requiring withdrawal from the study occurred in only two (4.7%) of the patients. In previous studies, thiopurines discontinuation rate due to adverse events varies from 5-26%.<sup>25-27</sup>

Although the question how long AZA should be continued and until how long there is a really benefit of this drug in UC individuals that attained remission is still controversial, it is worth mentioning that in present work continuation of AZA was beneficial at an extended 3-year follow-up period. Our study does not provide answers on whether patient should remain on AZA therapy beyond 3 years if remission has been achieved. Nonetheless, two previous studies<sup>28,29</sup> provide some limited evidence on the appropriate approach to long-term AZA treatment. In a placebo controlled withdrawal trial, Hawthorne and colleagues<sup>28</sup> demonstrated that AZA maintenance treatment in UC is beneficial for at least two years if patients have achieved remission while on AZA. In a 30 years review, Fraser and collaborates<sup>29</sup> found that the efficacy of AZA in UC is reasonably well sustained over five years. It must also be emphasized that, despite long-term immunosuppression in UC, the defective responses in both innate and adaptive immune systems, triggering a T-helper-2 type inflammatory process, persists and requires continuous down-regulation.<sup>30</sup> At present, the decision to continue AZA therapy indefinitely in UC patients needs to be individualized.

There are several methodological issues related to the current study that may require the results to be reproduced independently. The first major concern is that

the trial did not have a placebo-controlled arm; rather, we specifically focused on prospectively to observe the treatment efficacy of AZA in patients with strictly steroid dependent UC. Despite such criticism, the most important clinical relevance is the fact that over a 3-year follow-up period, the proportion of patients who achieved sustained remission off steroids (i.e. 45% to 55%, ITT analysis) is substantially higher than the rate (19%) observed with “placebo” (i.e., oral 5-ASA) in a recent randomized controlled trial<sup>12</sup> that also recruited steroid dependent UC patients on AZA for up to 6 months. Another of the drawbacks of our trial is the lack of assessment of the rate of endoscopic mucosal healing on AZA. Nonetheless, it should be acknowledged that remission defined by individual patients has an 86% sensitivity and 76% specificity for a regulatory-defined remission (i.e., absence of gross blood and absent mucosal friability), indicating that sigmoidoscopy to make sure mucosal healing is usually unnecessary in everyday clinical practice.<sup>15,31</sup> Moreover, although drug-induced clinical remission may not be associated with endoscopic or histological remission, the prognosis meaning of endoscopic re-assessment in quiescent colitis have yet to be clearly established.<sup>1,32</sup> Future research will establish the degree to which mucosal healing may improves long-term outcomes and reduces complications in UC individuals.<sup>33,34</sup> Despite these reservations, for the clinician’s point of view, the present study provide an important contribution for clinicians on optimal AZA-based approach to enable steroid free remission in steroid-dependent UC patients. To our knowledge this is the first time that AZA has been proved to have higher efficacy in sustain clinical remission off steroids among patients with a shorter duration of UC Moreover, this is the first study, which demonstrated the sustainability of steroid-free remission for up to 3 years in patients with steroid-dependent UC receiving AZA in a clinical trial setting.

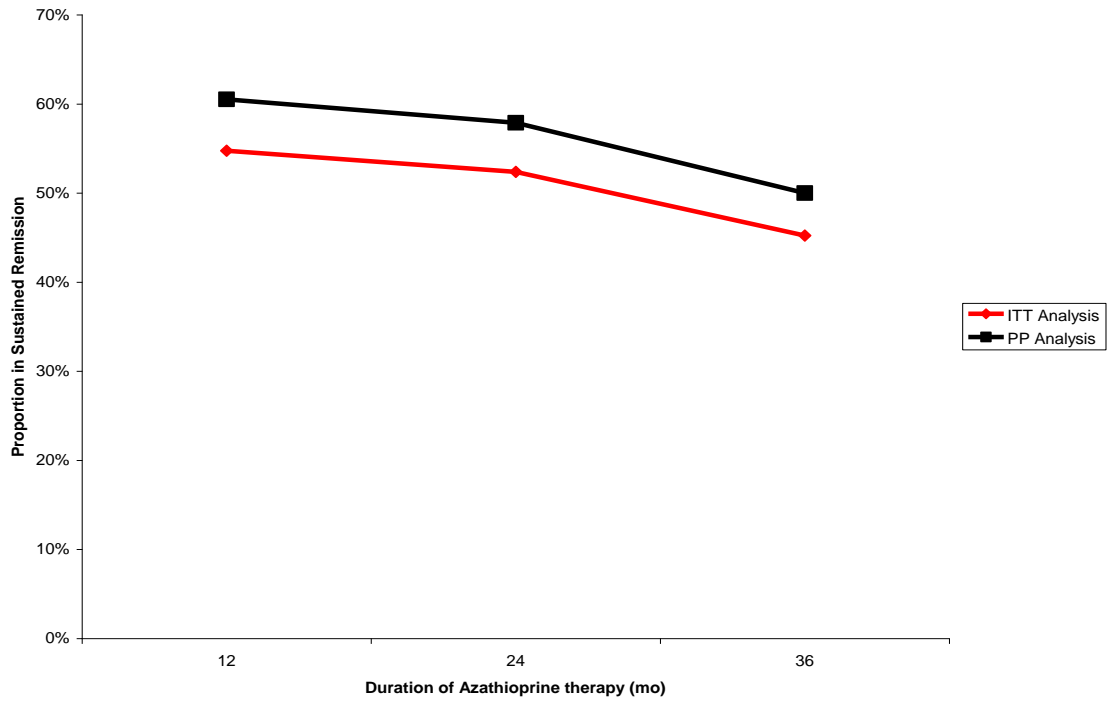
In conclusion, in this open-label observational trial AZA shows sustained efficacy in maintaining clinical remission off steroids through 3 years of therapy in patients with steroid dependent UC. The majority of AZA-treated patients who were in clinical remission without steroids at the end of first year maintained remission for additional 2 years. Under long-term maintenance therapy with stable dosing, the data from this study to support the favorable benefit-risk profile of AZA in this setting. The data obtained from disease duration sub-analysis suggests that during AZA therapy the patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-

free remission att heend 12months.

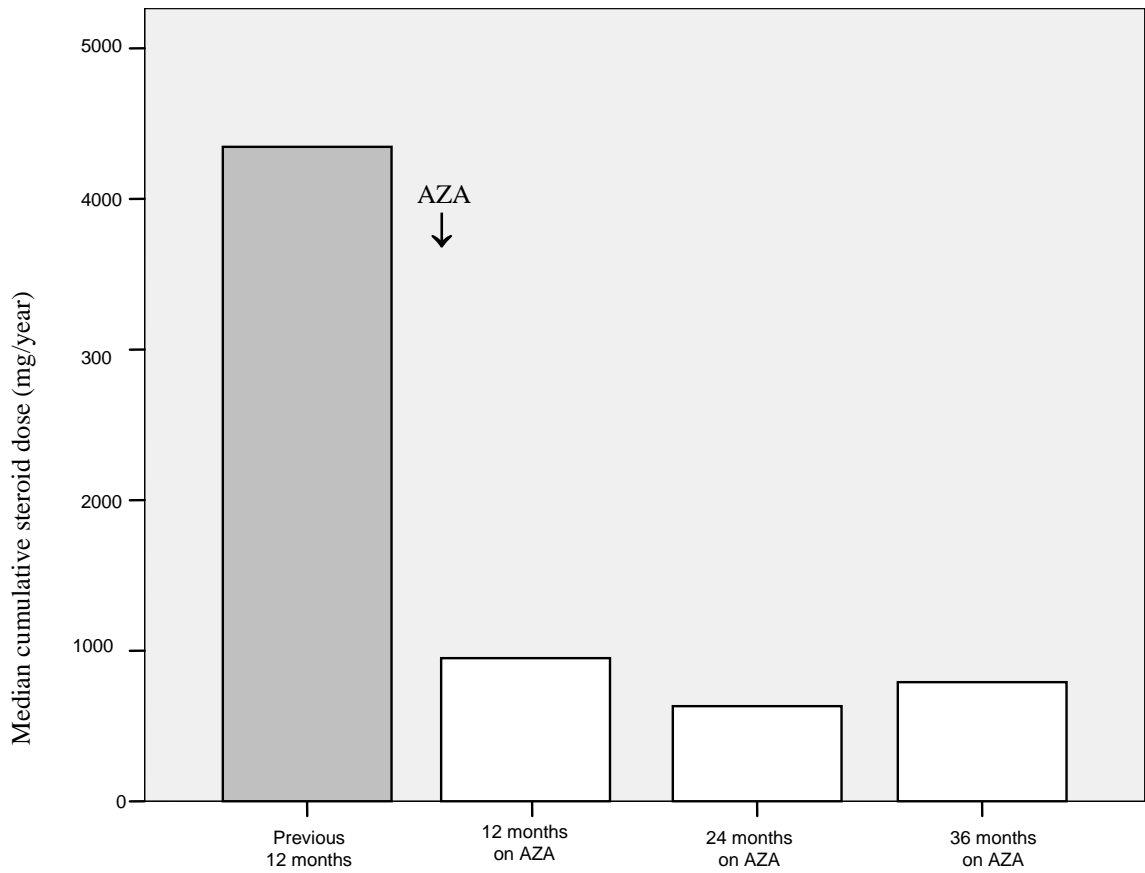
## **ACKNOWLEDGEMENT**

This study was partly supported by a clinical research fund from the CNPq and FAPEMIG,-Brazil.

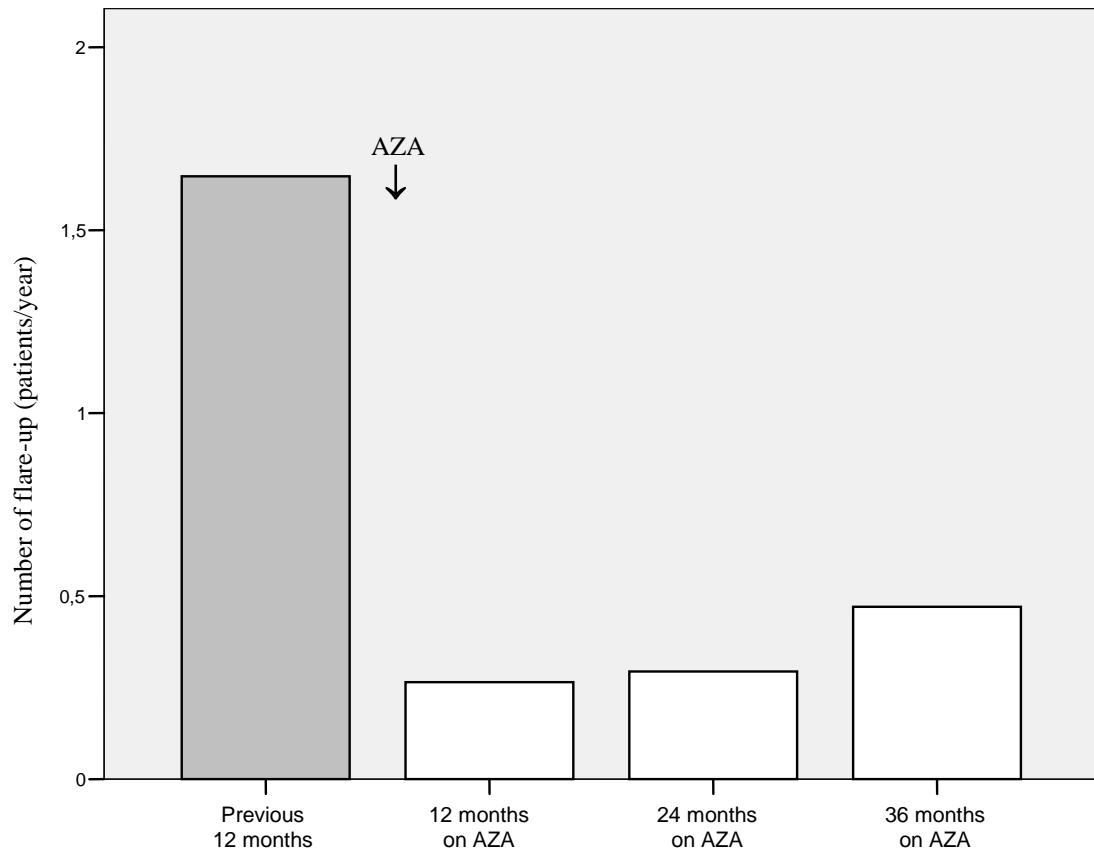




**FIGURE 1** – Cumulative probability of maintaining sustained remission off steroids in ulcerative colitis during the 3-year treatment with azathioprine (intention-to-treat (ITT) and per protocol (PP) analyses).



**FIGURE 2-** Median cumulative annual corticosteroid dose before and during azathioprine (AZA) treatment.  $P = 0.000$  for all 12 months before AZA therapy vs. 12, 24, and 36 months while on AZA comparisons (per protocol analysis).



**FIGURE 3-** Number of flare-up before and during azathioprine (AZA) treatment.  $P = 0.000$  for all 12 months prior AZA therapy vs. 12, 24, and 36 months on AZA comparisons (per protocol analysis).

Table 1 – Demographic, disease-related data, and baseline leukocyte count in patients with steroid-dependent ulcerative colitis according to response to azathioprine at the end 12 months.

Characteristics	Sustained response (+)	Sustained response (-)	<i>P</i> value
Gender (F/M) (n)	12/11	9/6	0.63
Age (yr) † 0.97	44 ± 13	44 ± 10	
Smokers (n)	0	1	0.10
Disease location (n)			0.95
Proctitis	1	1	
Left-sided	8	5	
Extensive	14	9	
Age at colitis diagnosis (Yr) †	38 ± 18	36 ± 19	0.80
Disease duration (mo) †	59.9 ± 54.5	69.5 ± 71.3	0.64
Previous median duration of steroid therapy (mo)	13 (5 – 19)¶	14.5 ( 6 – 20)	0.97
Initial median daily dose of prednisone (mg)	22 (15 – 50)¶	25 (15 – 45)	0.25
Concomitant therapy with 5-ASA (n)	18	12	0.29
Median dose of 5-ASA (mg/day)	2.8 (2.4 -3.2)	2.6 (2-3.6)	0.70
Median dose of AZA (mg/kg/day)	2 (1.5-3.1)¶	2.2 (1.8 -3.2)	0.13
Median MCV ¶ at the first 12 months*	103 (90-112)	101 (88-110)	0.78
Baseline leukocyte † count (mm <sup>3</sup> )	8,960 ± 2,922	9,895 ± 3,575	0.21

¶ - range

† - mean ± SD

\* MCV –mean corpuscular volume

## REFERENCES

1. Sandborn WJ. Current directions in IBD therapy: what goals are feasible with biological modifiers? *Gastroenterology*. 2008;135:1442-1447.
2. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19 (Suppl A):5-36.
3. Hanauer SB. Review article: evolving concepts in treatment and disease modification in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27 (Suppl 1):15-21.
4. Kozuch PL, Hanauer SB. Treatment of inflammatory bowel disease: a review of medical therapy. *World J Gastroenterol*. 2008;14:354-377.
5. Faubion WA, Loftus EV, Harmsen WS, et al. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology*. 2001; 121: 255–260.
6. Carter MJ, Lobo AJ, Travis SPL, et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*. 2004; 53 (Suppl V):S1–16.
7. Irving PM, Geary RB, Sparrow MP, et al. Appropriate use of corticosteroids in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007; 26:313-329.
8. Ginsburg PM, Dassopoulos T. Steroid dependent ulcerative colitis: Azathioprine use is finally “evidence-based”. *Inflamm Bowel Dis*. 2006; 12: 921-922.
9. Kornbluth A, Sachar D. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99:1371–1385.

10. Ghosh S, Chaudhary R, Carpani M, et al. Is thiopurine therapy in ulcerative colitis as effective as in Crohn's disease? *Gut*. 2006; 55:6–8.
11. Sands BE. Immunosuppressive drugs in ulcerative colitis: twisting facts to suit theories? *Gut*. 2006; 55:437–441.
12. Ardizzone S, Maconi G, Russo A, et al. Randomised controlled trial of azathioprine and 5-aminosalicylic acid for treatment of steroid dependent ulcerative colitis. *Gut*. 2006; 55:47–53.
13. Leung Y, Panaccione R, Hemmelgarn B, et al.. Exposing the weaknesses: a systematic review of azathioprine efficacy in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2008;53:1455-1461.
14. Lichtenstein GR, Abreu MT, Cohen R, et al. American Gastroenterological Association Institute technical review on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2006; 130:940–987.
15. Stange EF ,Travis SP, Vermeire S, et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: definitions and diagnosis. *J Crohn's Colitis*. 2008; 2:1–23.
16. D'Haens G, Sandborn WJ, Feagan BG, et al. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2007; 132:763–786.
17. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99:1371–1385.
18. Jewell DP, Truelove SC. Azathioprine in ulcerative colitis: final report on controlled therapeutic trial. *Br Med J*. 1974; 4:627–630.

19. Rosemberg JL, Wall AJ, Levine B, et al. A controlled trial of azathioprine in the management of chronic ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 1975; 69:96–99.
20. Kirk AP, Lennard-Jones JE. Controlled trial of azathioprine in chronic ulcerative colitis. *Br Med J*. 1982; 284:1291–1292.
- 21 Hawthorne AB, Logan RFA, Hawkey CJ, et al. Randomised controlled trial of azathioprine withdrawal in ulcerative colitis. *Br Med J*. 1992; 305:20–22.
- 22 Matè-Jimenez J, Hermida C, Cantero-Perona J, et al. 6-Mercaptopurine or methotrexate added to prednisone induces and maintains remission in steroid-dependent inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 12:1227–1233.
- 23 Sood A, Midha V, Sood N, Kaushal V. Role of azathioprine in severe ulcerative colitis: one year, placebo controlled, randomised trial. *Indian J Gastroenterol*. 2000; 19:14–16.
24. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, et al. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisolone in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2000; 119:895–902.
25. Chebli JM, Gaburri PD, De Souza AF, et al. Long-term results with azathioprine therapy in patients with corticosteroid-dependent Crohn's disease: open-label prospective study. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2007; 22:268-274.
26. Warman JI, Korelitz BI, Fleisher MR, et al. Cumulative experience with short- and long-term toxicity to 6-mercaptopurine in the treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *J. Clin. Gastroenterol*. 2003; 37:220-225.

27. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut*. 2002; 50:485-489.
28. Hawthorne AB, Logan RF, Hawkey CJ, et al. Randomised controlled trial of azathioprine withdrawal in ulcerative colitis. *Br Med J* 1992; 4: 20-22.
29. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut*. 2002; 50:485-489.
30. Shih DQ, Targan SR, McGovern D. Recent advances in IBD pathogenesis: genetics and immunobiology. *Curr Gastroenterol Rep*. 2008;10:568-575.
31. Higgins PDR, Schwartz M, Mapili J, et al. Patient-defined dichotomous end points for remission and clinical improvement in ulcerative colitis. *Gut*. 2005; 54:782-788.
32. Fefferman DS, Farrell RJ. Endoscopy in inflammatory bowel disease: indications, surveillance, and use in clinical practice. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; 3:11-24.
33. Panaccione R, Rutgeerts P, Sandborn WJ, et al. Treatment algorithms to maximize remission and minimize corticosteroid dependence in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 28:674-688.
34. Kane S, Lu F, Kornbluth A, et al. Controversies in mucosal healing in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009; 15:796-800



**APÊNDICE B – Formulário de Registro de Dados do Estudo**

## Protocolo de Pesquisa

**Eficácia e Segurança da Azatioprina no Tratamento no Longo Prazo de Pacientes com Colite Ulcerativa Córtico-Dependente**

1 - Nome: \_\_\_\_\_

2 - RG Hospitalar \_\_\_\_\_

3 - Idade: \_\_\_\_\_ 4- Sexo: \_\_\_\_\_ 5- Tabagismo atual: ( ) Sim ( ) Não

6 - Duração da colite: \_\_\_\_\_ (meses )

7 - Extensão da colite: ( ) Colite distal ( ) Colite esquerda ( ) Pancolite

8 - História familiar de doença inflamatória intestinal: Sim ( ) Não ( )

9- Drogas utilizadas no tratamento atual da colite:

\_\_\_\_\_

10 - Tempo (meses) de uso de corticosteroides antes do início da AZA: \_\_\_\_\_

11 - Dose média (últimos 6 meses) de prednisona na inclusão: \_\_\_\_\_(mg/dia)

12 - Data de início da AZA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Dose média de AZA durante a terapia:  
\_\_\_\_\_(mg/Kg/dia)

13 - Dose de prednisona durante o acompanhamento ambulatorial:

6° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

12° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

18° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

24° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

30° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

36° mês: \_\_\_\_\_(mg/dia);

14 - Retirada completa de corticosteroides: ( ) Sim ( ) Não

15 - Época após o início da AZA: \_\_ (meses)

15.1- Número de recorrências da colite nos 12 meses anteriores ao início da AZA:

\_\_\_\_\_

15.2 - “Breakthrough”(recorrência) de sintomas durante a terapia com AZA:

6° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

12° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

18° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

24° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

30° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

36° mês: ( ) Sim ( ) Não      Número de recorrências: \_\_\_\_\_

16 - Necessidade de terapia de resgate devido falha terapêutica a AZA:

( ) Sim Data (mês/ano): \_\_\_\_/\_\_\_\_ ( ) Não

Se sim : Terapia de resgate utilizada ( ) Infiximab ( ) Cirurgia

17 - Efeitos adversos a AZA durante o acompanhamento ambulatorial:

( ) Não ( ) Sim - Tipo de efeito adverso: \_\_\_\_\_

Época de ocorrência do efeito adverso após início da AZA: \_\_\_\_\_

Abordagem adotada: ( ) redução da dose da AZA

( ) retirada temporária da AZA

( ) retirada definitiva da AZA

Evolução do efeito adverso: ( ) resolução

( ) persistência

( ) óbito

18 - Exames complementares durante o acompanhamento ambulatorial:

**Datas:**

Leucometria:

Plaquetometria:

Contagem de Linfócitos:

Contagem Polimorfonucleares:

AST:

ALT:

Amilase: