

LILIANA ANDRADE CHEBLI

**AZATIOPRINA NO TRATAMENTO DE PACIENTES COM COLITE
ULCERATIVA CÓRTICO-DEPENDENTE: RESULTADOS E FATORES
PREDITIVOS DE RESPOSTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde: área em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli

**Juiz de Fora
2009**

Chebli, Liliana Andrade
Azatioprina no tratamento de pacientes com colite ulcerativa
córtico-dependente: resultados e fatores preditivos de resposta /
Liliana Andrade Chebli. -- 2009.
55 f. : il.

Dissertação(Mestrado em Saúde)-Universidade Federal de
Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

1. Colite ulcerativa. 2. Azatioprina. I. Título.

CDU 616.348

LILIANA ANDRADE CHEBLI

**AZATIOPRINA NO TRATAMENTO DE PACIENTES COM COLITE
ULCERATIVA CÓRTICO-DEPENDENTE: RESULTADOS E FATORES
PREDITIVOS DE RESPOSTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde: área em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde.

Aprovada em:

Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli – orientador - UFJF

Prof. Dr. Luiz Carlos Bertges -SUPREMA

Prof. Dr. Fábio Heleno de Lima Pace - UFJF

Juiz de Fora
2009

Ao meu esposo Júlio e meus filhos Vinícius e Luíza,

Sem vocês, nada teria acontecido.

Agradecimentos

A Deus, que me deu a vida, força e saúde para poder caminhar e evoluir.

Aos meus queridos pais Francisco e Nair, que estarão sempre em meu coração, por toda a educação e carinho que sempre me deram, por estarem sempre ao meu lado nos bons e maus momentos, por acreditarem em mim. Sem eles, essa história não teria início... E a você mãe, que embora tenha partido cedo, continua presente em todos os momentos da minha vida.

Ao meu esposo e mestre Júlio, meu grande amor e companheiro, pela paciência, constante incentivo e apoio. Pelo caráter, profissionalismo, vasto conhecimento científico, dedicação e constante exemplo em minha vida. Com você, conheci o verdadeiro amor.

Aos meus filhos, Vinícius e Luíza, principais razões do meu viver... 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.

Aos amigos e colegas de trabalho, que sabem, com certeza, a verdadeira importância de cada um em minha história; em especial ao Leonardo Duque e Felipe Pimentel pelos dias infindáveis de real trabalho.

Aos meus amigos espirituais, que me ajudaram a vencer os obstáculos e a ver o verdadeiro sentido da vida.

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

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

RESUMO

Colite ulcerativa é uma condição inflamatória imuno-mediada da mucosa colônica, caracterizada por curso intermitente e recorrente. Corticosteróides permanecem como uma das terapias mais efetivas para induzir remissão em pacientes com colite ulcerativa moderada a severa. Todavia, corticosteróides não são usados como terapia de manutenção, principalmente porque os efeitos colaterais indesejáveis superam seus possíveis benefícios. Além disso, em um ano, menos da metade dos pacientes com colite ulcerativa que requerem corticosteróides terão resposta sustentada, aproximadamente um terço dos pacientes necessitarão de colectomia e um quarto não tolerarão a retirada do mesmo sem que apresentem recidiva da doença. Assim, dependência de corticóides em paciente com colite ulcerativa é problema clínico fundamental e manutenção da remissão sem esteróides é uma importante meta terapêutica no presente. Em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente, usualmente é colocado a escolha entre colectomia ou escalonamento do tratamento clínico, o qual tradicionalmente envolve a prescrição de droga imunossupressora. A terapia com tiopurinas tem tido amplo uso neste cenário na prática clínica. Entretanto, estudos avaliando a eficácia da azatioprina (AZA) na colite ulcerativa córtico-dependente são escassos. Os objetivos deste estudo foram avaliar em pacientes com colite ulcerativa dependente de esteróides, a eficácia da AZA na manutenção da remissão clínica sem esteróides, bem como os possíveis fatores associados à resposta sustentada a esta droga. Neste estudo de coorte observacional, pacientes adultos com colite ulcerativa dependente de esteróides foram recrutados para tratamento com AZA durante o período de 12 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. Avaliações secundárias incluíram o número anual de recorrências clínicas, dose mediana de esteróides utilizadas durante o ano e segurança do tratamento. O total de 42 pacientes foi incluído. Na análise intenção de tratar, a proporção de pacientes permanecendo em remissão sustentada sem esteróides no final de 12 meses foi de 0,55. Observou-se significativa redução na taxa de recorrências clínicas, assim como no requerimento de esteróides durante 12 meses de tratamento com AZA quando comparado com o ano anterior ao uso desta droga. ($P=0,000$ para ambas as comparações). Apenas a duração da doença < 36 meses antes do início da AZA foi associada à remissão clínica sem esteróides ($P=0,02$, OR 3,12 95% IC 1,89-7,64). AZA foi bem tolerada e o seu perfil risco-benefício favorável. AZA mostrou eficácia sustentada para a manutenção da remissão clínica sem esteróides, bem como efeito poupador de esteróides durante 12 meses de terapia em pacientes com colite ulcerativa dependente de esteróides. Os pacientes com colite ulcerativa de início mais precoce são aqueles que mais provavelmente alcançarão remissão sustentada sem esteróides durante o uso de AZA.

Palavras-chave: Colite Ulcerativa. Doença Inflamatória Intestinal. Azatioprina. Corticosteróides.

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, at one 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. 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. Thiopurine therapy has found widespread use for this setting in clinical practice. However, studies assessing the efficacy of azathioprine (AZA) in steroid-dependent ulcerative colitis (UC) are scarce. The purpose of this trial was to explore the efficacy of AZA in maintaining steroid-free remission in steroid-dependent UC patients as well as the factors associated to sustained response. In this observational cohort study adult subjects with steroid-dependent UC were recruited for AZA therapy during a 12 months 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 rate of patients with sustained steroid-free response to AZA at the end of 12 months. Secondary endpoints included clinical recurrence, yearly steroid dose, and safety of treatment. A total of 42 patients were included. On an intention-to-treat basis, the proportion of patients remaining in sustained steroid-free remission at 12 months was 0.55. A significant decrease in the flare-ups rate as well as in requirement for steroids were observed during 12 months while on AZA compared with the previous year ($P=0.000$). Only disease duration of <36 months before the initiation of AZA 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. AZA showed sustained efficacy for maintenance of clinical remission off steroids and steroid sparing through 12 months of therapy in patients with steroid dependent UC. Patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-free remission while on AZA.

Keywords: Ulcerative Colitis. Inflammatory Bowel Disease. Azathioprine. Corticosteroids.

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 1.1.1 | Considerações gerais..... | 9 |
| 1.1.2 | Corticosteróides na colite ulcerativa..... | 10 |
| 1.1.3 | Dependência de corticosteróides durante o tratamento da colite ulcerativa..... | 11 |
| 1.1.4 | Tratamento da colite ulcerativa dependente de corticosteróides..... | 12 |
| 1.1.5 | Justificativa..... | 17 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 19 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 20 |
| 3.1 | População de pacientes..... | 20 |
| 3.2 | Desenho do Estudo e Acompanhamento Clínico-Laboratorial..... | 21 |
| 3.3 | Análise estatística..... | 25 |
| 4 | CONCLUSÃO..... | 26 |
| 5 | REFERÊNCIAS..... | 27 |
| 6 | APÊNDICE..... | 32 |
| 7 | ARTIGO ORIGINAL DO ESTUDO | 35 |

1. INTRODUÇÃO:

1.1.1. Considerações gerais:

Colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal (DII) idiopática caracterizada por inflamação difusa da mucosa colônica associada a distúrbios do sistema imune da mucosa intestinal (Monteleone et al., 2002). Esta afecção apresenta evolução clínica crônica, frequentemente intermitente e recorrente (Podolsky, 2002). Embora sua patogênese ainda não seja totalmente conhecida, a premissa atual é que defeitos no sistema imune inato permitem 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). Também não está esclarecido porque na colite ulcerativa a inflamação encontra-se confinada à camada mucosa do cólon e se dissemina difusamente. Do ponto de vista epidemiológico, observamos a maior prevalência em adultos jovens e menos frequentemente na 5ª década de vida, embora possa ser diagnosticada em qualquer faixa etária (Loftus Jr, 2004). Durante recorrências da doença, intervenções farmacológicas ou cirúrgicas são frequentemente necessárias para reestabelecer a remissão. Idealmente, estratégias a serem empregadas devem objetivar induzir rápida resposta e manter os pacientes em remissão prolongada, ao mesmo tempo em que se minimiza a dependência de esteróides e a toxicidade relacionada à terapia (Panaccione et al., 2008). Estas metas certamente se traduzirão na redução de complicações, de hospitalizações e da necessidade de cirurgias ocasionadas pela doença, bem como poderão prevenir a mortalidade relacionada à colite e promover a melhora na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Muitos pacientes com colite ulcerativa podem não receber terapia efetiva e sua doença permanece ativa, levando a inflamação descontrolada e, potencialmente, ao desenvolvimento de complicações decorrentes da doença subjacente ou do uso contínuo de esteróides. As duas principais metas do tratamento da colite ulcerativa são a indução e manutenção da remissão. As decisões terapêuticas geralmente, baseiam-se na gravidade e extensão da doença

(Kornbluth & Sachar, 2004). Nas últimas décadas, o surgimento de terapias mais seguras e efetivas, além de avanços nos procedimentos cirúrgicos, tem melhorado o curso clínico da doença e a qualidade de vida dos pacientes. Apesar destes recentes progressos, uma proporção considerável de pacientes continua a sofrer de formas particularmente refratárias da doença, o que frequentemente leva à necessidade de terapias repetidas com potencial de toxicidade significativa e, mesmo, à colectomia, a qual é potencialmente curativa, mas comumente inaceitável na concepção do paciente (Porro et al., 2007).

1.1.2 Corticosteróides na colite ulcerativa:

Os corticosteróides sistêmicos têm sido usados há mais de meio século 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 glicocorticóides são rapidamente ativos e altamente efetivos, o que os torna, ainda hoje, a droga de escolha para o tratamento inicial da colite ulcerativa com atividade moderada a grave (Kornbluth et al., 2004). Aproximadamente 50%-80% dos pacientes para os quais corticóides são prescritos, experimentarão resolução ou melhora dos sintomas dentro de um mês (Faubion et al., 2001). Os esteróides são comumente prescritos com o objetivo de rapidamente melhorar os sintomas clínicos associados com a colite e que tanto afetam o bem-estar dos pacientes. Espera-se que uma vez tendo controlado os sintomas, os pacientes sejam rapidamente retirados do uso de esteróides e seja introduzida alguma outra terapia com melhor perfil de efeitos adversos visando à manutenção da remissão clínica. Entretanto, os corticosteróides não são adequados para terapia de manutenção devido a sua falta de eficácia na prevenção de recorrências (Leonard-Jones, 1992; Kornbluth & Sachar, 2004) e porque seu uso prolongado algumas vezes associa-se com a ocorrência de efeitos adversos potencialmente incapacitantes, irreversíveis e graves (Katz, 2004). Entre os efeitos colaterais dos esteróides citam-se acne,

ganho de peso, insônia, osteoporose, cataratas, e infecções, dentre outros. Os esteróides com ação tópica têm menos efeitos colaterais do que os corticóides sistêmicos, mas também são inefetivos para manutenção da remissão. Compondo o problema, um substancial percentual de pacientes torna-se dependente de esteróides e outros refratários aos mesmos (Munkholm et al., 1994; Faubion et al., 2001).

É importante assinalar que embora a prescrição de corticosteróides para pacientes portadores de doenças inflamatórias intestinais possa controlar os sintomas no curto prazo, esta terapia não confiavelmente resulta em cura da mucosa intestinal (Modigliani et al., 1990). Cura das lesões na mucosa é indicador chave do controle da inflamação e sinal que o intestino está retornando ao normal (Panaccione et al, 2008). Por exemplo, num estudo examinando o efeito dos glicocorticóides sobre a cura da mucosa colônica, foi demonstrado 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 vista em apenas 29% dos pacientes (Modigliani et al., 1990). Este achado indica que a obtenção isolada de melhora sintomática pode não ser suficiente para alterar o curso clínico da doença (Kane et al., 2009).

1.1.3. Dependência de corticosteróides durante o tratamento da colite ulcerativa:

Em pacientes com colite ulcerativa requerendo tratamento com corticosteróides, as evoluções imediatas são geralmente favoráveis, mas a perspectiva dentro dos próximos 12 meses é desapontadora (Panaccioni et al., 2008). Em um estudo populacional em pacientes com colite ulcerativa foi observado que em um ano após o tratamento inicial com corticosteróides, a resposta prolongada à droga foi vista em apenas 50% dos casos, enquanto dependência de esteróides desenvolveu-se em 22% e a cirurgia foi necessária em 29% dos pacientes (Faubion et al.,2001). Em crianças com colite ulcerativa, os

resultados são algo melhor, mas ainda longe de serem ótimos. Num estudo populacional similar, envolvendo pacientes pediátricos com colite ulcerativa, resposta prolongada aos corticosteróides em um ano foi observada em 43%, enquanto desenvolvimento de dependência de esteróides ocorreu em 14% dos casos (Tung et al., 2006).

Embora não exista nenhuma definição padrão em uso na prática clínica para “dependência de esteróides”, o termo usualmente se aplica aos pacientes que inicialmente respondem aos corticosteróides, mas nos quais os sintomas de colite recorrem com a redução da dose da droga ou logo após a retirada desta, requerendo reintrodução da terapia com esteróides para manter o controle sintomático (D’Haens et al., 2007). Faubion e colaboradores (2001) demonstraram que apenas cerca de 50% de todos os pacientes com colite ulcerativa tratados com corticosteróides estão bem e sem esta medicação ao final de um ano. Portanto, “dependência de esteróides” em pacientes com colite ulcerativa é um problema comum na prática clínica e, conseqüentemente, o efeito poupador de esteróides é uma importante meta terapêutica a ser buscada neste cenário (Porro et al., 2007).

1.1.4. Tratamento da colite ulcerativa dependente de corticosteróides:

Diversas modalidades terapêuticas podem ser empregadas em pacientes com colite ulcerativa dependente de esteróides, visando à retirada completa ou substancial redução da dose dos corticosteróides, ao mesmo tempo em que se mantém a remissão da doença. A escolha da abordagem terapêutica é tipicamente entre a cirurgia ou a otimização da terapia clínica, a qual tradicionalmente envolve a introdução de um dos imunomoduladores.

Do ponto de vista da abordagem clínica, os imunomoduladores podem induzir e manter a remissão da doença, permitindo a redução da dose ou, mesmo, a retirada completa dos corticosteróides, em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente (Sands, 2006; Su & Lichtenstein, 2004). Os análogos da purina - 6-mercaptopurina e azatioprina (AZA) têm sido usados para tratar as

doenças inflamatórias intestinais por mais de 30 anos. O uso destas drogas para manter a remissão em pacientes dependentes de esteróides com doença de Crohn, é inequivocamente apoiado por evidências oriundas de estudos clínicos controlados randomizados. O mesmo, entretanto, não pode ser dito para o uso destes imunomoduladores na colite ulcerativa, onde os estudos são escassos, pequenos em tamanho, e conflitantes nos seus resultados, sendo a prática clínica apoiada por evidências de baixa qualidade advindas de séries de casos. Adicionalmente, os parâmetros de evolução utilizados nos diversos experimentos variam consideravelmente, e numerosos e diversos instrumentos foram usados para avaliar a atividade clínica da doença (Ghosh et al., 2006). Não obstante estes fatos expostos, estes fármacos são considerados as drogas iniciais de escolha para o tratamento de pacientes com colite ulcerativa que se tornam dependentes de esteróides, como tem sido apontado pela maioria das normas clínicas publicadas pelas sociedades Norte-Americanas e Européias, para o estudo das doenças inflamatórias intestinais (Kornbluth & Sachar, 2004; Carter et al., 2004; Lichtenstein et al., 2006). Qualquer um destes agentes pode ser utilizado, sendo a escolha baseada, geralmente, na experiência prévia do clínico. O mecanismo de ação destas drogas na DII permanece controverso, mas pode ser relacionado com a inibição da síntese de novo das purinas pela incorporação de metabólitos da 6-tioguanina no DNA celular (Brogan et al., 1985).

Vários estudos abertos demonstraram que AZA ou mercaptopurina podem ser efetivas no tratamento de pacientes com colite ulcerativa (Steinhart et al., 1990; Paoluzi et al., 2002). Não obstante, outros trabalhos controlados produziram resultados controversos ou negativos (Hawthorne et al., 1992; Mantzaris et al., 2004). Adicionalmente, poucos estudos recrutaram pacientes estritamente definidos como dependente de esteróides (Porro et al., 2007). Muitos trabalhos fazem referência à doença refratária a esteróides, cujo comportamento clínico-evolutivo é, em geral, bem distinto daquele dos pacientes córtico-dependentes. Discrepâncias nos resultados entre os estudos relatados são provavelmente relacionadas a diferenças no desenho do experimento, nos

critérios de inclusão da população estudada, na definição de dependência de esteróides, na dose diária do imunossupressor e na duração da terapia, nas definições de resposta terapêutica e no uso de outros tratamentos concomitantes (Sood et al., 2000; Ghosh et al., 2006).

No mais amplo estudo retrospectivo envolvendo experiência clínica de 30 anos 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). Análise de série retrospectiva também confirmou haver diminuição do requerimento de esteróides, bem como da taxa de recorrência clínica nos três anos após início do tratamento com AZA comparado com os dois anos anteriores a esta terapia (Ardizzone et al., 1997). Resultados computados a partir de uma revisão sistemática que incluiu apenas estudos controlados randomizados com um mínimo de seis meses de acompanhamento, demonstraram modesta eficácia da AZA para o tratamento da colite ulcerativa (Leung et al., 2007). Avaliação de quatro estudos por meta-análise confirmou que pacientes que continuaram com AZA ou 6-mercaptopurina são menos prováveis de experimentar recorrência se comparado àqueles com placebo (OR:0,41) (Timmer, McDonald & Macdonald, 2007). As doses de AZA mais efetivas parecem ser entre 2 a 3 mg/Kg/dia, embora não haja comparações diretas entre níveis de doses diferentes. Da mesma forma, não existem estudos comparando a utilização de doses progressivamente escalonadas (baseadas no peso corporal) com a prescrição da dose de manutenção ideal desde o início do tratamento (Siew & Kamm, 2009). Um recente estudo realizado por Ardizzone e colegas (2006) fornece a melhor evidência atual da eficácia da AZA na colite ulcerativa dependente de esteróides, sendo, então, considerado como o estudo “padrão ouro” neste cenário clínico. Os 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 falhado a pelo menos duas tentativas de redução da dose de esteróides dentro dos seis meses precedentes. Neste experimento randomizado, controlado, prospectivo, e investigador-cego, 53% dos pacientes

dependentes de esteróides randomizados para terapia com AZA (2 mg/Kg/dia) alcançaram remissão e descontinuaram esteróides em seis meses após a inclusão no estudo. Este resultado foi estatisticamente superior ao grupo placebo (5-ASA - 3,2 g/dia), no qual apenas 21% dos pacientes obtiveram remissão e descontinuaram os esteróides no mesmo período de tempo (OR 4,78; IC: 95%, 1,57-14,5). É interessante assinalar que esta porcentagem de sucesso com AZA é maior que as taxas históricas de remissão obtidas com tratamento com infliximab ou outros biológicos na colite ulcerativa (Porro & Cassinotti, 2007).

Em vista do fato que o uso prolongado de imunomoduladores é advogado para reduzir o risco de recorrência da doença, questões associadas com o tratamento a longo prazo, especialmente surgimento de infecções e neoplasias, são particularmente relevantes (Velayos & Mahadevan, 2007). É notória, por exemplo, a preocupação de que a utilização de AZA ou 6-mercaptopurina possa aumentar o risco do desenvolvimento de linfoma. Estimou-se recentemente que há um aumento de quatro vezes no risco de linfoma em pacientes com doença inflamatória intestinal que estejam sendo tratados com uma destas drogas (Kandiel et al., 2005). A despeito deste aumento de risco relatado, é consenso atual que o benefício global da terapia imunomoduladora supera seu possível risco (Lewis, Schwartz & Lichtenstein, 2000). Os análogos da purina, conseqüentemente, são drogas aceitas para o tratamento das doenças inflamatórias intestinais.

Quando há falha terapêutica no tratamento de pacientes córtico-dependentes com tiopurinas ou ocorre intolerância a elas, poucas são as opções farmacológicas atuais disponíveis, que sejam eficazes. A evidência de suporte para a eficácia do metotrexato em induzir ou manter a remissão na colite ulcerativa permanece não convincente (Fraser et al., 2002). Alguns estudos não controlados sugeriram benefício do tratamento com esta droga, mas no único estudo duplo-cego, placebo-controlado, realizado até o momento (Oren et al., 1996), não houve significativo ganho terapêutico com este agente. Mais estudos controlados randomizados são necessários antes que firmes conclusões possam

ser estabelecidas, tendo-se o cuidado de se ter um bom desenho do estudo, além da preocupação com doses e via de administração adequadas.

O infliximab é um anticorpo monoclonal IgG1, quimérico, direcionado contra o fator de necrose tumoral-alfa - uma citocina inflamatória - que foi aprovado, nos EUA, para o tratamento da colite ulcerativa desde o ano de 2005 (Velayos & Mahadevan, 2007). Em pacientes com colite ulcerativa aguda grave refratária a altas doses de corticosteróides, uma única infusão de infliximab na dose de 5 mg/Kg reduziu a necessidade de colectomia, dentro de três meses, de 67% com placebo para 29% (P=0,017) (Jarnerot et al., 2005). O estudo ACT (colite ulcerativa ativa) revelou que o regime de indução de 5 mg/Kg de infliximab nas semanas 0, 2, e 6, seguido por uma dose de manutenção em intervalos de 8 semanas é efetivo no tratamento da colite ulcerativa moderada/grave, permitindo melhora da doença, indução de remissão, cura da mucosa, e diminuição da necessidade de esteróides durante 54 semanas (Rutgeerts et al., 2005). Num estudo italiano (Armuzzi et al., 2004), avaliando especificamente 20 pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente, onde os mesmos foram randomizados para infliximab ou metilprednisolona, verificou-se eficácia similar de ambos os tratamentos, para a indução e manutenção da remissão clínica, sugerindo que existe potencial utilidade de infusões repetidas de infliximab para manutenção de remissão no curto-prazo em pacientes córtico-dependentes. Análogo aos imunomoduladores, o tratamento prolongado com infliximab é recomendado para reduzir o risco de recorrências da doença, minimizar o desenvolvimento de anticorpos direcionados contra esta droga e as possíveis reações à infusão, bem como para atenuar a redução da eficácia da própria medicação (Velayos & Mahadevan, 2007). Estudos controlados futuros neste grupo específico de pacientes poderão determinar o real papel do tratamento com terapias biológicas na manutenção da remissão sem esteróides, particularmente no longo prazo.

A proctocolectomia total é “100%” efetiva para o tratamento da colite ulcerativa e, historicamente, foi considerado o tratamento definitivo desta

condição (Velayos & Mahadevan, 2007). Embora a proctocolectomia total com ileostomia definitiva ou, preferencialmente, com anastomose “pouch” íleo-anal possa, virtualmente, curar os pacientes com colite ulcerativa, este procedimento pode ser associado com diversas complicações físicas e emocionais. Uma recente meta-análise, por exemplo, demonstrou que a colectomia com anastomose “pouch” íleo-anal aumentou o risco de infertilidade em cerca de três vezes em mulheres com colite ulcerativa, quando comparado com aquelas tratadas clinicamente (Waljee et al., 2006). Este declínio na habilidade reprodutiva pode ser devido à formação de adesões e cicatrização na pelve (Cohen et al., 2005). Episódios de “pouchite” também podem ocorrer em 45% dos pacientes e incontinência em até 35% destes (Delaney et al., 2003). Além disso, esta cirurgia que exige boa habilidade técnica apresenta risco imediato de 5%-18% de deiscência da anastomose, ou de abscesso pélvico (Cohen et al., 2005).

1.2- Justificativa:

Em duas publicações prévias inéditas de nosso grupo, Chebli et al. (2007) e Pinto et al. (2009), demonstraram a segurança e a boa eficácia do tratamento com AZA em pacientes com doença de Crohn córtico-dependente.

Considerando a escassa disponibilidade de experimentos com esta droga envolvendo pacientes com colite ulcerativa dependente de esteróides e os resultados ainda controversos na literatura, aliado ao fato dos estudos atualmente publicados serem limitados pelo pequeno tamanho da população avaliada (Porro et al., 2007);

Considerando também que fatores demográficos e relacionados à própria colite, e que diferenças fisiológicas e farmacodinâmicas, geneticamente determinadas, as quais podem existir entre populações Brasileiras, Norte-Americanas ou Européias, podem limitar a generalização dos resultados

observados, uma vez que os dados foram obtidos principalmente de estudos originados dos EUA e Europa;

Em adição, tendo em vista nossa considerável experiência clínica adquirida em um centro terciário especializado nas doenças inflamatórias intestinais, nós nos propusemos a realizar o estudo em questão.

Este estudo prospectivo longitudinal aberto foi realizado com o objetivo de avaliar a eficácia e segurança da AZA em manter a remissão clínica sem esteróides em pacientes com colite ulcerativa estritamente definida como córtico-dependente, bem como os possíveis fatores associados à resposta clínica sustentada.

2. OBJETIVOS:

Primários:

- a) avaliar a possível eficácia do tratamento com AZA para a manutenção da remissão clínica e retirada de esteróides na colite ulcerativa córtico-dependente.
- b) investigar os possíveis fatores clínicos que possam influenciar ou predizer a resposta terapêutica a AZA.

Secundários:

- a) avaliar a possível redução na taxa de recorrências clínicas durante a terapia com AZA.
- b) estabelecer o tempo, até a completa retirada dos esteróides, nos pacientes alcançando esta meta.
- c) avaliar o possível efeito poupador de esteróides da AZA.
- d) avaliar a incidência e evolução dos efeitos adversos da AZA neste cenário clínico.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1. População de Pacientes

Pacientes adultos com colite ulcerativa córtico-dependente, 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/2005.

O diagnóstico de colite ulcerativa foi baseado em critérios rotineiros clínicos, radiológicos, endoscópicos e histopatológicos (Stange et al., 2008).

Dependência de esteróides foi definida quando o paciente apresentava melhora clínica inicial, parcial ou completa ao tratamento com prednisona (40-60 mg/dia) dentro do período de 30 dias, associada a quaisquer dos seguintes eventos: a) recorrência dos sintomas dentro de 3 meses após a retirada da droga; b) requerimento do uso contínuo de esteróides (≥ 10 mg prednisona/dia) durante 3 meses após seu início para manter o controle dos sintomas; ou c) recorrência dos sintomas nos últimos 6 meses durante 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. Também o recrutamento de pacientes foi restrito àqueles pacientes com certa tendência para recorrer, isto é, com pelo menos uma recorrência clínica no ano anterior à inclusão (D'Haens et al., 2007). Os pacientes incluídos no estudo poderiam estar recebendo tratamento concomitante com mesalazina ou sulfassalazina oral, se a mesma dose estivesse mantida por no mínimo quatro semanas antes da inclusão. O eventual uso de aminossalicilatos ou corticosteróides tópicos foi suspenso no mínimo duas semanas antes da entrada no estudo. Não foi permitido o uso de antiinflamatórios não-esteroidais ou outros imunossupressores durante o experimento. Tratamento sintomático com antiácidos, antidiarréicos ou antiespasmódicos foi aceito. Os pacientes foram excluídos quando quaisquer das seguintes condições estivessem presentes no “screening” inicial:

contra-indicação conhecida ao uso de AZA; hepatopatia pré-existente; insuficiência renal; doença pulmonar clinicamente significativa; infecção sistêmica; gravidez ou desejo de engravidar nos próximos 24 meses; período de lactação; história atual ou pregressa de qualquer tipo de malignidade (exceto cutânea) ou de displasia colônica; colite ulcerativa refratária a esteróides ou colite grave requerendo terapia com corticosteroíde parenteral, hospitalização ou cirurgia imediata. As mulheres em idade fértil foram orientadas a utilizar métodos contraceptivos efetivos. Além disso, foram excluídos os pacientes que receberam tratamento prévio com infliximab ou outra terapia anti-TNF, talidomida, tacrolimus, micofenolato de mofetil, ciclosporina, metotrexato, ou qualquer droga investigacional. O tratamento com AZA foi fornecido ao paciente sem qualquer ônus, através de parceria com a Secretaria Municipal de Saúde, via portaria específica do Ministério da Saúde - Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, Portaria SAS/MS, nº 858, 04 de Novembro de 2002 - o qual garante livre acesso ao fármaco pelos pacientes portadores de colite ulcerativa dependente de esteróides. Faz-se mister salientar que nosso Centro de Doenças Inflamatórias Intestinais é o único existente na região que lida com a doença, abrangendo uma área de encaminhamento que envolve, aproximadamente, 1.500.000 habitantes.

3.2. Desenho do Estudo e Acompanhamento Clínico-Laboratorial

O desenho do estudo caracteriza-se por um ensaio clínico prospectivo aberto. O estudo foi conduzido durante 12 meses, 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 tiveram registrados seus dados demográficos (idade, sexo), 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 esteróides nos últimos 12 meses e duração prévia do tratamento com esta droga) (Apêndice, pág. 33). Foram também obtidas amostras de sangue para avaliação

hematológica e bioquímica. A classificação anatômica da colite foi determinada pela extensão macroscópica da doença (Stange et al., 2008) observada durante a realização de uma colonoscopia realizada até 12 meses antecedendo sua inclusão no estudo. A atividade da doença foi medida na admissão e a cada dois meses a seguir, durante todo o período do estudo, de acordo com critérios obtidos através da avaliação clínica (D'Haens et al., 2007). Remissão clínica foi considerada quando houvesse um número ≤ 3 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 durante cada retorno à consulta durante o acompanhamento ambulatorial. Os pacientes foram acompanhados mensalmente durante os primeiros 6 meses e, posteriormente, em intervalos de dois meses ou menos, de acordo com o julgamento clínico e a necessidade do paciente. Todos os pacientes submeteram-se 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 envolveu 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 efetuada 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/mm³ e leucopenia grave quando os

mesmos estivessem abaixo de 2.000 células/mm³; trombocitopenia foi considerada quando a contagem de plaquetas fosse inferior a 100.000 células/mm³.

A dose inicial de AZA era 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. Depois de duas semanas de terapia com AZA, se a leucometria total permanecesse acima de 10.000 células/mm³ a dose era aumentada em 25mg, no intervalo de duas semanas, com monitorização da contagem leucocitária até que esta atingisse níveis abaixo de 10.000 células/mm³ ou até que a dose ideal baseada no peso corporal fosse obtida. Iniciava-se, neste momento, a redução gradual do uso de esteróides (habitualmente, entre 12 a 16 semanas após o início da AZA). Tentativas sistemáticas foram realizadas para suspender o uso de corticosteróides 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 redução era realizada seguindo o mesmo esquema inicial de redução ou um pouco mais lento. Os pacientes que necessitassem reintrodução da prednisona depois da suspensão seguiam o mesmo protocolo de manejo. Uma vez que a prednisona tivesse sido descontinuada, a AZA era mantida na mesma dose indefinidamente. Pacientes que falharam à terapêutica com dose máxima de AZA (2,0–3,0 mg/kg/dia) e aqueles que foram intolerantes à droga foram retirados do estudo e encaminhados para tratamento alternativo.

Os pacientes tiveram sua resposta avaliada (incluindo dose de corticosteróides) durante as visitas ambulatoriais, depois de iniciada a terapia com AZA. A última avaliação foi realizada no máximo até o primeiro semestre do ano de 2006.

Durante o acompanhamento ambulatorial, os pacientes foram 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 descontinuassem a AZA devido a eventos adversos ou a falha terapêutica eram acompanhados do mesmo modo que aqueles que continuaram a receber esta terapia.

Medidas de Evolução

Medida de Evolução Primária

A medida da eficácia primária foi o percentual de pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente com resposta sustentada à terapia com AZA no final de 12 meses do tratamento. Resposta sustentada foi definida como a retirada completa dos corticosteróides 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 completavam a avaliação no fim de 12 meses (per protocolo), mas também em todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose da AZA (intenção de tratar).

Medidas de Evoluções Secundárias

As principais avaliações de eficácia secundária foram: a necessidade de esteróides expressa como mediana da dose anual de esteróides requerida e número no ano de recorrências da colite após introdução da AZA (para cada paciente individual) comparando-se com a dose mediana anual de esteróides e número de recorrências prévias no ano precedente ao início da AZA. Também foi avaliado o tempo necessário para a completa retirada dos esteróides naqueles pacientes que alcançaram esta meta, assim como todos os efeitos adversos.

Os seguintes eventos foram 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 também eram excluídos do estudo.

3.3. Análise estatística

Para calcular o tamanho da amostra, considerou-se como 20% a probabilidade de remissão clínica sem esteróides induzida por “placebo” (ou mesalazina) em pacientes com colite ulcerativa dependente de esteróides (Ardizzone et al., 2006). Para demonstrar um aumento na taxa de remissão clínica sem esteróides de 20% para 40%, com 80% de probabilidade (2-sided test; $\alpha = 0.05$), naqueles pacientes usando AZA, pelo menos 42 indivíduos tiveram que ser avaliados.

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 resposta sustentada e falha terapêutica a AZA ao final do ano, 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. O número de recorrências clínicas e a dose mediana de esteróides no ano foram comparados com o número de recorrências e dose mediana 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 o estudo). Para comparação, o nível de significância estatística foi estabelecido em $P < 0,05$.

4. CONCLUSÕES:

Concluindo, o tratamento durante 12 meses com azatioprina em pacientes com colite ulcerativa córtico-dependente mostrou:

- a) Eficácia sustentada para manutenção da remissão clínica e para poupar esteróides.
- b) Maior remissão sustentada sem esteróides naqueles com colite ulcerativa de início mais recente (<24 meses).
- c) Significativa redução anual na taxa de recorrências clínicas e na dose cumulativa de esteróides.
- d) Tempo médio até a retirada de esteróides de 6 meses.
- e) Perfil risco-benefício favorável.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

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 Cronh's disease.** J Clin Immunol. v. 5, p. 204-211, 1985.

Caprilli, R., Carratu, R., Babbini, M. **A double-blind comparison of the effectiveness of azathioprine and sulphasalazine in idiopatic 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 JM, Gaburri PD, Meirelles 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.; v. 22, p. 268-77, 2007.

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.

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.

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.

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., Leonard-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.* v. 192, p. 110-6, 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.

Monteleone, I., Vavassori, P., Biancone, L., et al. **Immunoregulation in the gut: success and failures in human diseases.** Gut. v. 50 (suppl 3): III60-III64, 2002.

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., 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. v. 16, p. 1751-9, 2002.

Pinto ALT, Chebli LA, Ribeiro MS, et al. **Azathioprine therapy in steroid-dependent patients with Crohn disease: Results of a 10-year longitudinal follow-up study.** Med Sci Monit.; v. 15, p. PI19-26, 2009.

Podolsky, D.K. **Inflammatory bowel disease.** N Engl J Med. v. 347, p. 417-29, 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.

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. 209-234, 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:

Protocolo de Pesquisa

Azatioprina no Tratamento de Pacientes com Colite Ulcerativa Córtico-Dependente: Resultados e Efeitos Adversos.

1- Nome: _____ 2- RG Hospitalar _____

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

6- Duração da colite: _____ (meses) 7- Extensão da colite: () Proctite
() 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 corticosteróides antes do início da AZA: _____

11- Dose média (últimos 12 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);

14- Retirada completa de corticosteróides: () Sim Época após o início da AZA: _____ (meses)
() Não

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: _____

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

() Sim Data (mês/ano): ___/___ Terapia de resgate utilizada () Infliximab () Cirurgia

() Não

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:

A SEGUIR, O ARTIGO ORIGINAL DO ESTUDO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO, CONFORME AS NORMAS EXIGIDAS PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA FACULDADE DE MEDICINA - UFJF, O QUAL CONTÉM OS RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.

Azathioprine maintains long-term steroid-free remission through 12 months in patients with steroid-dependent ulcerative colitis

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 and the factors associated to sustained response.

Methods: In this observational cohort study 42 subjects with SD-UC were recruited for AZA therapy during a 12 months 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 rate of steroid-free response to AZA at the end of 12 months. Secondary endpoints included clinical recurrence, yearly cumulative steroid dose, and safety of treatment.

Results: On an intention-to-treat basis, the proportion of patients remaining in steroid-free remission at the end of 12 months was 0.55. A significant decrease in the flare-ups rate and in requirement for steroids were observed during 12 months on AZA compared with the previous year ($P=0.000$). 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 <24 months was associated to off-steroids remission ($P=0.03$, OR 3.60 95% CI 1.95-9.74). The AZA benefit-risk profile was favorable.

Conclusions: AZA showed sustained efficacy for maintenance of clinical remission off steroids and steroid sparing through 12 months of therapy in SD-UC. Patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-free remission 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.^{1,2} 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.³

Corticosteroids remain one of the most effective therapies for inducing remission in patients with moderate-to-severe UC.⁴ Approximately 50%-80% of patients prescribed corticosteroids will experience a rapid relief of symptoms.⁵ Nonetheless, corticosteroids are not used in maintenance therapy,⁶ mainly because undesirable side effects outweigh the possible benefits.⁷ 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.⁵ 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.¹

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.⁸ Thiopurine therapy has found widespread use for this setting in clinical practice.^{6,9} Although the data supporting the use of AZA are more robust in steroid-dependent Crohn's disease^{10,11} than in UC, there are limited data that AZA is steroid sparing in the latter.^{12,13} Recently, the evidence-based guidelines published by American Gastroenterological Association¹⁴ 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.¹⁰ In addition, the marked heterogeneity of populations

included, variables study designs, inadequate dosing of AZA and ambiguous endpoints preclude strong conclusions.^{11,13}

The purpose of this study was to evaluate 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 2005, 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.¹⁵

Patients were arbitrarily described as steroid-dependent^{5,15} if they: i) 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; ii) had a relapse within 3 months of stopping steroids, or iii) 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.¹⁶ 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- α 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/mm³ 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/mm³ 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 12 months 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.² 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 ≤ 2 or 3 stools/day, without the presence of blood and/or pus in the stools, with no systemic symptoms.¹⁷ Increase in stool frequency ≥ 1 or 2 stools above normal for the patient and recurrence of rectal bleeding indicated clinical relapse.¹⁶

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 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 the 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 cumulative yearly steroid dose (MYSD, mg/year), number of clinical relapses at 12 months, 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).¹² 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 12 months 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

On an ITT basis, the proportion of patients remaining in sustained steroid-free remission at 12 months was 0.55. In particular, on a PP basis, 23/38 (60.5%) discontinued steroid therapy while maintained clinical remission at the end 12 months. 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 12 months 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 4,360 mg/year compared with 1,020 mg/year at 12 months after initiation of AZA ($P = 0.000$) (Fig. 1). In addition, a significant decrease in the flare-ups rate was recorded over the 12 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 months while on AZA was 0.3 ($P= 0.000$) (Fig. 2). None patient underwent colectomy during follow-up.

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 <24 months before the initiation of AZA ($P=0.03$, OR 3.60 95% CI 1.95-9.74).

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 an extensive investigation on the issue of AZA therapy in dependent-steroid UC. Among AZA-treated patients on a maintenance regimen, over 55% (ITT analysis) achieved sustained response without steroids at the end 12 months. 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).^{12,18-23} A best evidence for the efficacy of AZA in steroid-dependent UC was demonstrated by Ardizzone et al¹² 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 in both median cumulative annual dose of steroid and flare-ups rate was observed during subsequent 12 months of AZA treatment. 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, patients with newly diagnosed (<2 years) UC were more probable of achieving sustained steroid free remission. 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.²⁴ 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%.²⁵⁻²⁷

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 12 months follow-up period. Our study does not provide answers on whether patient should remain on AZA therapy beyond first year if remission has been achieved. Nonetheless, two previous studies^{28,29} provide some limited evidence on the appropriate approach to long-term AZA treatment. In a placebo controlled withdrawal trial, Hawthorne and colleagues²⁸ 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 collaborators²⁹ 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 adaptative immune systems, triggering a T-helper-2 type inflammatory process, persists and requires continuous down-regulation.³⁰ 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 12-months follow-up period, the proportion of patients who achieved sustained remission off steroids (i.e. 55%, ITT analysis) is substantially higher than the rate (19%) observed with “placebo” (i.e., oral 5-ASA) in a recent randomized controlled trial¹² 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.^{15,31} 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.^{1,32} Future research will establish the degree to which mucosal healing may improve long-term outcomes and reduce complications in UC individuals.^{33,34} Despite these reservations, for the clinician's point of view, the present study provides 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

In conclusion, AZA shows sustained efficacy in maintaining clinical remission off steroids through 12 months of therapy in patients with steroid-dependent UC. Under long-term maintenance therapy with stable dosing, the data from this study support the favorable benefit-risk profile of AZA in this setting. The data suggest that during AZA therapy the patients with earlier UC are those who most probably will have sustained steroid-free remission.

ACKNOWLEDGEMENT

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

FIGURE LEGENDS

FIGURE 1- Median cumulative annual corticosteroid dose before and during azathioprine (AZA) treatment. $P=0.000$ for 12 months before AZA therapy vs. 12 months while on AZA comparison (per protocol analysis).

FIGURE 2- Number of flare-up before and during azathioprine (AZA) treatment. $P=0.000$ for 12 months prior AZA therapy vs. 12 months on AZA comparisons (per protocol analysis).

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.

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) † | 44 ± 13 | 44 ± 10 | 0.97 |
| 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 ³) | 8,960 ± 2,922 | 9,895 ± 3,575 | 0.21 |

¶ - range

† - mean ± SD

* MCV –mean corpuscular volume

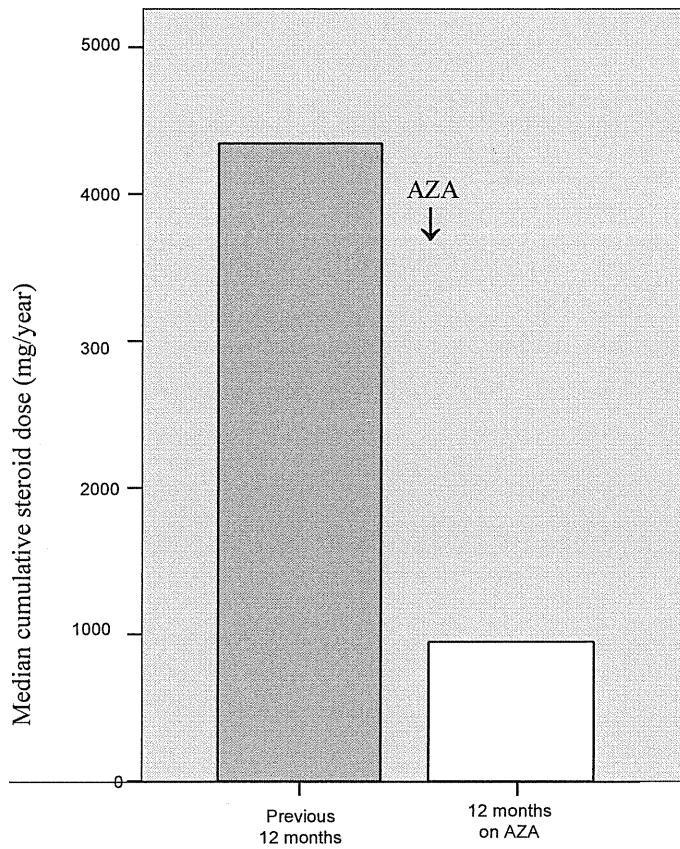


FIGURE 1- Median cumulative annual corticosteroid dose before and during azathioprine (AZA) treatment. $P=0.000$ for 12 months before AZA therapy vs. 12 months while on AZA comparisons (per protocol analysis).

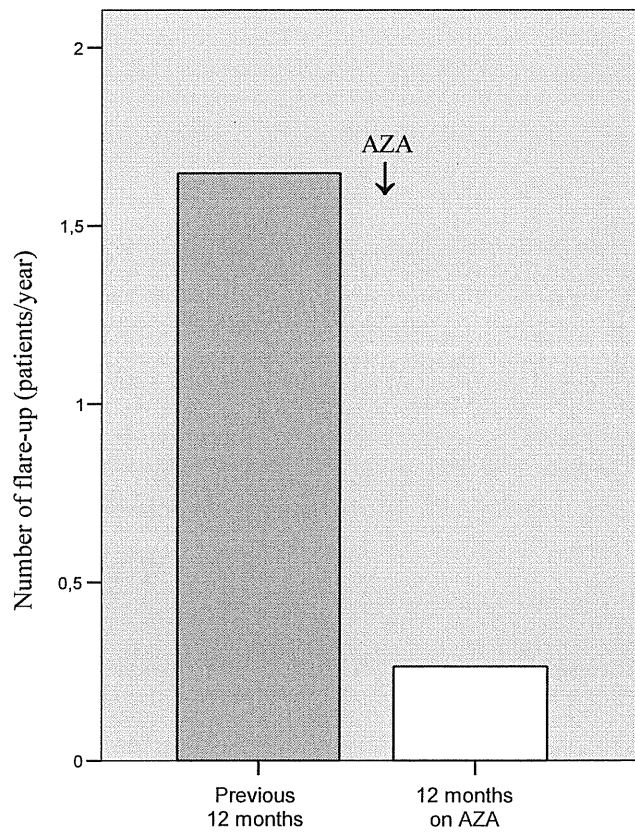


FIGURE 2- Number of flare-up before and during azathioprine (AZA) treatment. $P = 0.000$ for 12 months prior AZA therapy vs. 12 months on AZA comparisons (per protocol analysis).