Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2013 Thèse n°

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

(décret du 16 janvier 2004)

présentée et soutenue publiquement

le 5 septembre 2013 à Poitiers

par **Mademoiselle Makougang Ginette FOTSING**

Impact du dosage systématique des métabolites des thiopurines dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Composition du Jury

Président : Madame le Professeur Christine SILVAIN

Membres : Monsieur le Professeur Michel MORICHAU-BEAUCHANT

Madame le Professeur Marie-Christine PERAULT

Monsieur le Docteur Nicolas VENISSE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Philippe BEAU

Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2013 Thèse n°

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

(décret du 16 janvier 2004)

présentée et soutenue publiquement

le 5 septembre 2013 à Poitiers

par **Mademoiselle Makougang Ginette FOTSING**

Impact du dosage systématique des métabolites des thiopurines dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Composition du Jury

Président : Madame le Professeur Christine SILVAIN

Membres : Monsieur le Professeur Michel MORICHAU-BEAUCHANT

Madame le Professeur Marie-Christine PERAULT

Monsieur le Docteur Nicolas VENISSE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Philippe BEAU

UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le Doyen,

Année universitaire 2013 - 2014

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
2. ALLAL Joseph, thérapeutique
3. BATAILLE Benoît, neurochirurgie
4. BENSADOUN René-Jean, cancérologie - radiothérapie
5. BRIDOUX Frank, néphrologie
6. BURUCOA Christophe, bactériologie - virologie
7. CARRETIER Michel, chirurgie générale
8. CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
9. CHRISTIAENS Luc, cardiologie
10. CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
11. DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
12. DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
13. DEBIAIS Françoise, rhumatologie
14. DORE Bertrand, urologie **(surnombre)**
15. DROUOT Xavier, physiologie
16. DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
17. EUGENE Michel, physiologie **(surnombre)**
18. FAURE Jean-Pierre, anatomie
19. FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
20. GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
21. GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
22. GILBERT Brigitte, génétique
23. GOMBERT Jean-Marc, immunologie
24. GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
25. GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
26. GUILLET Gérard, dermatologie
27. GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
28. HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
29. HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
30. HERPIN Daniel, cardiologie
31. HOUETO Jean-Luc, neurologie
32. INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
33. IRANI Jacques, urologie
34. JABER Mohamed, cytologie et histologie
35. JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
36. KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
37. KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation **(de septembre à décembre)**
38. KITZIS Alain, biologie cellulaire
39. KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino- Laryngologie
40. KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
41. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
42. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
43. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
44. LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
45. MACCHI Laurent, hématologie
46. MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie **(surnombre)**
47. MARECHAUD Richard, médecine interne
48. MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
49. MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
50. MEURICE Jean-Claude, pneumologie
51. MIMOZ Olivier, anesthésiologie - réanimation
52. MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-ertérologie
53. NEAU Jean-Philippe, neurologie
54. ORIOT Denis, pédiatrie
55. PACCALIN Marc, gériatrie
56. PAQUEREAU Joël, physiologie
57. PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
58. PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
59. PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
60. POURRAT Olivier, médecine interne
61. PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
62. RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
63. RICHER Jean-Pierre, anatomie
64. ROBERT René, réanimation
65. ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
66. ROBLOT Pascal, médecine interne
67. RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
68. SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes
69. SILVAIN Christine, hépato-gastro- ertérologie
70. SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
71. TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
72. TOUCHARD Guy, néphrologie
73. TOURANI Jean-Marc, cancérologie
74. WAGER Michel, neurochirurgie

A Madame le Professeur Christine SILVAIN

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.

Vous m'avez accompagnée et fait bénéficier de la qualité de votre enseignement durant ces quatre années d'apprentissage à Poitiers, lors des visites comme lors de tous les staffs.

Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et mes remerciements les plus sincères.

A Monsieur Le Professeur Michel MORICHAUD-BEAUCHANT

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger cette thèse. Votre présence au sein du jury m'honore.

Veuillez recevoir le témoignage de ma respectueuse considération.

A Madame le Professeur Marie-Christine PERAULT-POCHAT

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à cette thèse, ainsi que de l'honneur que vous e faites en acceptant de la juger.

Soyez assurée de mon respect et de ma reconnaissance

A Monsieur le Docteur Nicolas VENISSE

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Vos conseils m'ont beaucoup aidé dans la rédaction de cette thèse.

Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur BEAU Philippe

Travailler à vos côtés fut riche en expériences marquantes. Vos conseils avisés, votre rigueur, votre sens clinique ainsi que votre disponibilité m'ont beaucoup marquée. Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ce travail. Malgré nos divergences, vous m'avez toujours laissé la possibilité d'exprimer mon opinion, à tort ou à raison.

Trouvez ici le témoignage de mon affection et de mon profond respect.

A mes parents : Vous êtes mes premiers modèles. Papa tu m'as inculqué l'amour de son métier, la ténacité et la persévérance qu'il faut avoir pour atteindre ses objectifs. Maman, tu m'as appris à peu près tout le reste, même si je suis loin d'être une personne aussi exemplaire que toi. Si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à votre soutien, votre amour et vos conseils

A mes frères, qui m'avez toujours épaulée et supportée depuis 27, 23 et 21 ans

A tous les membres de famille, à mes frères et sœurs de cœur qui ont chacun contribué à faire de moi ce que je suis aujourd'hui

Aux différents chefs qui ont jalonné mon parcours de formation : Thierry pour son flegme, sa dextérité et ses conseils ; Carine pour sa rigueur, son sens clinique et son humanité envers les patients et les internes ; Marc pour ses remarques d'encouragement même si elles ne sont pas évidentes de prime abord ; Eloi pour toutes les bases du métier ; Florian, Philippe et Paul-Arthur pour leur bonne humeur (oui, oui !) et leur disponibilité ; Delphine pour sa fameuse citation : « la thèse c'est comme les vacances, un jour ça finit quand même par arriver »

A toi ma Sophie pour ton amitié depuis toutes ces années

A mes amis d'avant et d'après Poitiers : Vennila, Moussa, Anne-clémence, Corentin, Lamia, Marie, Lauranne, Emilie et tous les autres

A mes co-internes actuels: Laura et nos séances « motivationnelles » en voiture, Sofia et toutes ces soirées de débrief', Benoît, Camille, Pauline, Clémence, Benjamin. Que perdure la cohésion ! Et aux anciennes Gaëlle et Pauline

A toute l'équipe de 6e étage : infirmières, aides-soignantes, secrétaires ; sans oublier l'équipe d'endoscopie

À tous ceux que j'ai oublié de citer,

Je vous dédie ce travail.

SOMMAIRE

GLOSSAIRE 7
INTRODUCTION 8
RAPPELS 10
1. Généralités sur les MICI 10
2. Les thiopurines dans la prise en charge des MICI 17
3. Toxicité des thiopurines 25
4. Métabolisme des thiopurines 26
5. Impact du taux de métabolites sur l'évolutivité des MICI 32
6. But de l'étude 33
MATERIELS ET METHODES 34
1.Matériels 34
2.Méthodes 37
RESULTATS 40
1. Caractéristiques de la population 40
2. Réponse clinique et biologique 43
3. Paramètres biologiques 47
4. Evènements indésirables 50
DISCUSSION 51
Principaux résultats 51
Méthodologie 53
Limites 55
Impact clinique 56
Conclusion 58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 59
ANNEXES 66
INDEX DES TABLEAUX 70
INDEX DES FIGURES 71
TABLE DES MATIERES 72

GLOSSAIRE

ALAT: alanine amino transférase

Anti-TNF alpha: Anti-tumor necrosis alpha

AZA: azathioprine

CAG: colite aiguë grave

CDAI: Crohn disease activity index

CDEIS: Crohn disease endoscopic index of severity

CRP : C-réactive protéine

ECCO : European Crohn's and Colitis Organisation

GETAID : groupe d'études Thérapeutiques des affections inflammatoires du tube digestif

HB: Harvey-Bradshaw

HGPRT: hypoxanthine guanine phosphoribosyltransférase

IMPDH : Inosine monophosphate déshydrogénase

JFHOD : Journées Francophones d'Hépato-gastroentérologie et Oncologie digestive

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

MC : Maladie de Crohn

RC : Rémission complète

RCH : Rectocolite Hémorragique

RP : Rémission partielle

TPMT : thiopurine méthyltransférase

VGM : volume globulaire moyen

XO : xantine oxydase

6-MP : 6-mercaptopurine

6-MMPR: 6-méthylmercaptopurine ribonucléotides

6-TG: 6-thioguanine

6-TGN: 6-thioguanosine nucléotides

INTRODUCTION

La prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) représente une part importante de l'activité des Hépato gastroentérologues. La Maladie de Crohn (MC) et la Rectocolite hémorragique (RCH) sont ses deux principales entités .Leur évolution se fait sur un mode de poussées entrecoupées par des périodes plus ou moins longues de rémission. Cette évolution est à l'origine de la survenue de complications qui peuvent être graves et mettre en jeu le pronostic vital et/ou fonctionnel intestinal. L'incidence des MICI a augmenté ces dernières années dans les pays développés(1). Malgré le nombre important de travaux de recherche, les traitements efficaces et recommandés dans ces deux pathologies restent limités. Les principales classes thérapeutiques utilisées pour l'induction et/ou le maintien de la rémission, ainsi que la prévention de la récidive sont : les corticoïdes, les aminosalicylés, les immunosuppresseurs et les anti-TNF alpha (anti-TNF alpha).

Les thiopurines ont prouvé leur efficacité(2) et sont recommandées dans la prise en charge thérapeutique aussi bien dans la MC que dans la RCH. Parmi celles-ci, l'azathioprine (AZA) est la molécule la plus utilisée (3). Les autres thiopurines sont la 6-mercaptopurine (6-MP) qui est essentiellement utilisée en cas d'intolérance à l'AZA, et la 6-thioguanine (6-TG) qui est surtout utilisée en hématologie. On estime qu'environ 2/3 des patients atteints de MC auront un traitement par thiopurines au cours de leur suivi.(4) Cependant, l'efficacité de ces molécules est très variable selon les études, allant de 20% (5) à70% pour les meilleurs résultats (6). Cette variabilité dans l'efficacité résulte du nombre non négligeable d'arrêts du traitement pour cause d'effets indésirables. La myélotoxicité (allant de la pancytopénie sévère à la lymphopénie modérée), l'hépatite cytolytique, la pancréatite et les troubles digestifs sont les plus fréquents (7) et peuvent conduire à l'arrêt du traitement dans 15 à 20% des cas (8).

Le métabolisme des thiopurines a été étudié depuis de nombreuses années. L'AZA et la 6-MP sont des prodrogues dont la transformation nécessite l'intervention de plusieurs enzymes dont la thiopurineméthyltransférase (TPMT), la xantine oxydase (XO) et la hypoxanthine phosphoribosyl transférase (HGPRT) (9), et aboutit à la formation de plusieurs métabolites actifs et inactifs. Les 6-thioguanosines (6-TGN) et les 6-méthylmercaptopurine

ribonucléotides (6-MMPR) sont parmi les principaux métabolites actifs de l'AZA et de la 6-MP. Depuis l'arrivée des biothérapies, les thiopurines semblent en perte de vitesse. Néanmoins, avec l'essai SONIC (5) démontrant la supériorité de l'association biothérapies et immunosuppresseurs, les différentes publications mettant en exergue l'intérêt d'une cicatrisation endoscopique dans le profil évolutif de la maladie, mais aussi à cause du faible nombre de molécules actuellement disponibles dans l'arsenal thérapeutique contre les MICI, l'heure est à la recherche de pistes permettant d'améliorer l'utilisation des médicaments disponibles.

L'idée de l'optimisation des traitements par thiopurines basée sur le dosage de ces métabolites a émergé dans la communauté scientifique il ya plusieurs années. Plusieurs études ont montré une corrélation entre le taux sérique de 6-TGN et la réponse ou la résistance aux thiopurines dans la MC (10) et dans la RCH(11). Il est admis qu'un taux de 6-TGN de 235 picomoles/$8x10^8$ érythrocytes est le seuil minimal d'efficacité de l'AZA (12). Des stratégies d'optimisation de l'administration des thiopurines en fonction du dosage des métabolites ont été proposées (13),mais une enquête récente souligne leur sous-utilisation par les gastroentérologues(14).

En dépit de ces résultats, l'intérêt de cette optimisation reste controversée (15). L'étude de la concentration des métabolites est actuellement souvent utilisée en situation d'échec du traitement ou d'incertitude sur son efficacité et/ou sur son observance. L'intérêt du dosage systématique en vue de l'optimisation précoce des thérapeutiques dans la stratégie de prise en charge des MICI reste indéterminé.

Notre travail porte sur l'étude rétrospective des données de patients ayant été traités par AZA et 6-MP et ayant eu un dosage précoce des métabolites des thiopurines. La question qui se pose est celle de l'impact du dosage précoce des dérivés métaboliques des thiopurines sur le taux de réponse et sur la prise en charge par le praticien.

RAPPELS

1. Généralités sur les MICI

1.1 Données épidémiologiques concernant les MICI

La MC a été décrite pour la première fois en 1932 par le chirurgien Burrhill Crohn à New York. Historiquement, les premières données épidémiologiques sur les MICI ont été publiées par les séries venant de Scandinavie, du Royaume-Uni et des Etats –Unis, durant les décennies allant de 1950 à 1980.

1.1.1 incidence et prévalence

La figure 1 ci-dessous illustre la répartition des MICI dans le monde. L'incidence de la MC en Europe varie de 2 à 9 pour 100.000 hab. et celle de la RCH de 4 à 16 pour 100 000 habitants.

La prévalence de la MC en Amérique du Nord varie de 44 à 201 cas pour 100 000 habitants, et celle de la RCH varie de 37.5 à 238 cas pour 100 000 habitants. (1)

En Europe, la prévalence de la RCH va de 8 à 214 cas pour 100 000 habitants et pour la MC de 21 à 294 cas pour 100000 habitants (16)

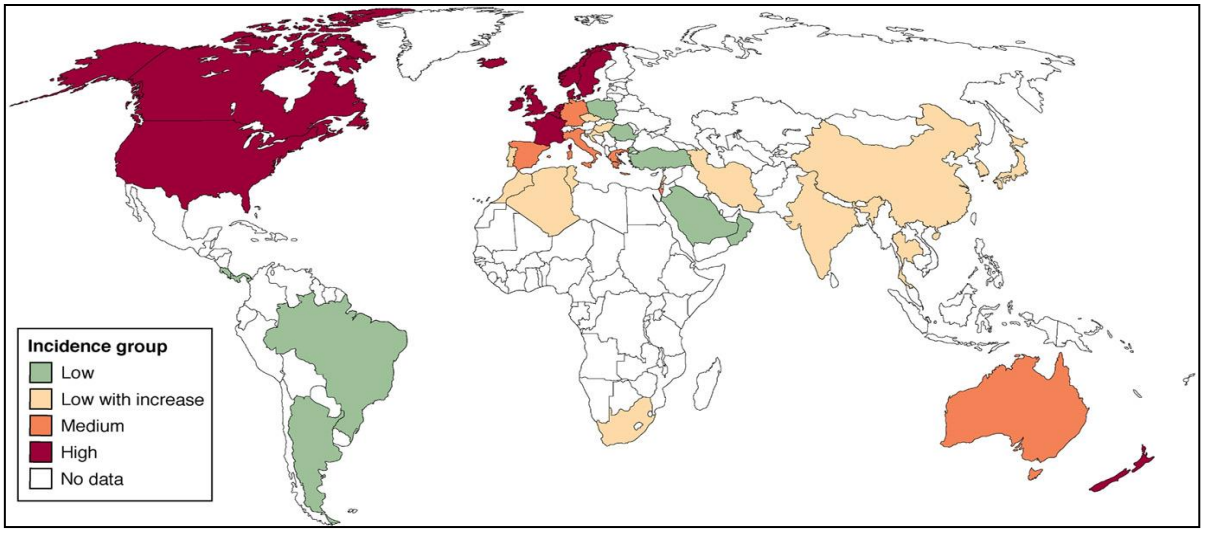

FIGURE 1: REPARTITION DES MICI DANS LE MONDE, BASE SUR LES DONNEES D'INCIDENCE ANNUELLE POUR 100 000 HABITANTS.

Rouge : incidence > 10 cas ; Orange : entre 5 et 10 cas ; Vert : < 4 cas ; Jaune : < 4 cas mais en augmentation. Blanc : absence de données. ***Tiré de Epidemiology of IDB, Cosnes J et al, Gastroenterology 2011***

La répartition géographique des MICI obéit indubitablement à un gradient Nord-Sud (cf. figure1). En Amérique du Nord, les taux d'incidence les plus élevés de MC sont rapportés au Canada et dans le Nord des Etats-Unis, particularité que l'on retrouve également en Europe. Une étude multicentrique européenne prospective publiée en 1996 a identifié les plus fortes incidences de RCH en Islande et les plus faibles dans le sud du Portugal(16). Depuis les années 1980, de plus en plus de données de prévalence arrivent des pays du Sud, notamment du Brésil, d'Afrique du Sud et dans les pays du Maghreb. Cependant, il existe encore de nombreuses lacunes quant aux MCI en Afrique Subsaharienne, lacunes pouvant être expliquées par les difficultés diagnostiques se posant dans ces pays où les MICI se retrouvent probablement noyées dans le « bruit de fond » des autres pathologies digestives, notamment infectieuses.

En France, les premières données épidémiologiques sur les MICI datent de 1988 sur une population regroupant les Région Nord Pas de Calais, Somme et Haute-Normandie (environ 6 000 000 d'habitants). L'enquête dans le Nord-ouest a été pérennisée grâce à la création du Registre EPIMAD qui continue à ce jour à enregistrer tous les cas incidents de cette région, donnant un recul d'enregistrement de plus de 20 ans. D'après ses données les plus récentes, de 1988 à 2008, l'incidence de la MC a significativement augmenté, passant de 5.3 à 7.6 cas pour 100 000 habitants, pendant que celle de la RCH stagnait à environ 404 cas /100 000 habitants. Le Nord de la France se caractérise par une incidence plus élevée de MC que de RCH, alors que c'est l'inverse dans la plupart des autres pays Européens(17).

1.1.2 Sex ratio et âge

A l'âge adulte, Il existe une prédominance féminine pour la MC, avec un ratio de 3 femmes pour 2 hommes atteints. Cela a conduit à l'émission d'hypothèses concernant des facteurs hormonaux qui ne se sont pour l'instant jamais vérifiées. Le ratio s'inverse pour la RCH avec une prédominance masculine de la maladie.

Les MICI sont des maladies du sujet jeune, bien que le diagnostic puisse être posé à tout âge. Le pic d'incidence de la MC se situe dans la 3e décennie de vie (20-30 ans) et le pic pour la RCH dans la 4e (30-40 ans). Les formes pédiatriques de ces maladies ne sont cependant pas si rares. En France, l'incidence annuelle est estimée à 5.2 cas et 0.8 cas pour 100 000 habitants, respectivement pour la MC et la RCH. L'incidence de ces formes

pédiatriques tend à augmenter ces dernières années, particulièrement celle de la MC (18) (19). Cela suggère une augmentation de la part des facteurs environnementaux impliqués dans la genèse et l'expression des MICI

1.2 Facteurs de risque des MICI

La physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin s'articule autour de trois facteurs : la susceptibilité génétique, l'influence environnementale et la dysrégulation de la réponse immunitaire conduisant à l'inflammation et aux lésions. Les études chez les jumeaux et l'existence de formes familiales de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ont souligné l'importance des facteurs de risque génétiques. En moyenne, 8 à 10% des sujets atteints de MC ont un ou plusieurs parents, tous liens de parenté confondus, atteints de MC.

Le risque relatif de développer une MICI chez un apparenté au 1er degré d'un patient porteur d'une MICI varie entre 10 et 40 pour la MC, et entre 15 et 20 pour la RCH. Le gène le plus fortement associé à la MC est le gène codant pour la protéine NOD2/CARD15. Il a été mis en évidence lors d'études de « screening » génomique dans des formes familiales de MC. Il code pour une protéine membranaire impliquée dans la reconnaissance des peptidoglycanes bactériens par les macrophages, et a donc un rôle important dans la tolérance du système immunitaire vis-à-vis du microbiote intestinal (20). Aucun gène de susceptibilité n'a été formellement mis en évidence dans ma RCH. (21).

L'augmentation d'incidence de la MC dans des pays industrialisés suggère l'implication de facteurs environnementaux. Parmi toutes les voies explorées, seuls deux facteurs semblent influer notablement l'histoire naturelle des MICI : le tabagisme et l'appendicectomie. Le tabac joue un rôle opposé dans les 2 MICI. Il aggrave le pronostic de la MC et améliore celui de la RCH. Chez les fumeurs, la maladie de Crohn est plus fréquente et plus sévère. L'arrêt de l'intoxication a un effet bénéfique dès la première année après le sevrage(22). Les mécanismes physiopathologiques par lesquels le tabac influe sur les MICI restent méconnus à ce jour. L'appendicectomie aurait quant à elle un effet protecteur vis-à-vis de la survenue d'une RCH, surtout si elle est réalisée avant l'âge de 20 ans et pour une véritable appendicite aigüe(23). Là encore, les mécanismes restent flous.

1.3 Diagnostic et Histoire naturelle des MICI

La présentation clinique des MICI est très variable. Le mode de révélation classique est souvent la diarrhée chronique accompagnée de douleurs abdominales, et quelquefois de fièvre. Certaines maladies peuvent revêtir une présentation plus torpide : asthénie inexpliquée, anémie microcytaire, syndrome inflammatoire chronique, perte de poids, cassure de la courbe de croissance chez l'enfant. Il convient lors du bilan initial d'éliminer des diagnostics différentiels que nous ne détaillerons pas ici, au premier rang desquels les causes infectieuses.

La pierre angulaire du diagnostic de MICI repose sur l'aspect lors de l'endoscopie basse et/ou haute. L'aspect classique de la RCH est une atteinte continue de la muqueuse colique, commençant dès la jonction ano-rectale, s'étendant plus ou moins loin vers l'amont et s'interrompant de façon assez brusque avec une limite zone pathologique/zone saine assez nette. L'existence d'un deuxième foyer inflammatoire caecal péri-appendiculaire est possible. Le rectum peut être relativement moins atteint que les segments d'amont, mais cela se voit plus souvent dans le cadre du suivi de la maladie que lors de l'atteinte inaugurale. La muqueuse est érythémateuse, fragile, saignant aisément au contact. Dans les formes les plus sévères, le colon présente des ulcérations de taille et de forme variable, pouvant être très profonds avec une mise à nu de la musculeuse voire des décollements de portions entières de muqueuse.

Il n'existe aucun signe ni aspect endoscopique pathognomonique d'une MC. Le diagnostic endoscopique repose souvent sur un faisceau d'arguments incluant l'aspect des lésions (ulcérations aphtoïdes ou en carte de géographie, qui peuvent aussi se voir lors de colites infectieuses ou ischémiques), leur topographie (une atteinte du tube digestif haut ou de l'intestin grêle, la présence d'intervalles de zones saines est en faveur du diagnostic de MC). Un examen proctologique est indispensable en cas de suspicion de MC, à la recherche de lésions caractéristiques (fissures postérieures indolores, ulcérations endo-anales, pseudo-marisques ulcérées).Les examens endoscopiques du grêle (vidéo-capsule, entéroscopie) n'ont pour l'instant qu'une indication limitée.

Dans les deux pathologies, il est recommandé de réaliser des biopsies étagées en zones saines et malades car l'analyse histologique peut fournir des éléments permettant d'une part d'écarter un diagnostic différentiel, d'autre part de trancher entre MC et RCH en cas de

doute. Certains éléments sont communs aux deux maladies : une inflammation muqueuse transmurale, des distorsions glandulaires, la présence d'un infiltrat lympho-plasmocytaire du chorion, qui éloigne la musculaire muqueuse du fond des cryptes, et la présence d'abcès cryptiques. Historiquement, le signe histologique pathognomonique de la MC est la présence de granulomes gigantocellulaires sans nécrose caséeuse, mais celui-ci n'est présent que dans 1/3 des cas environ. D'autres lésions peuvent évoquer le diagnostic comme la présence de fissures transmurales. En faveur d'une RCH, on retrouvera un aspect très villeux de la muqueuse, une distorsion des cryptes avec une nette diminution de leur densité. Cependant, lors de poussées très sévères ou à un stade très précoce, il est parfois difficile de trancher entre MC et RCH. Le plus souvent ce sera l'évolution à plus long terme qui permettra de ranger ces Colites Indéterminées en RCH, MC ou autre diagnostic. L'évolution à long terme d'une MICI est quasiment impossible à prévoir au moment du diagnostic. Les patients ayant des atteintes d'emblée modérées de MC ou des formes distales de RCH peuvent passer de longues années en rémission sans recours à aucun traitement médical ou chirurgical. L'évolutivité classique se fait sous forme de poussées successives, plus ou moins rapprochées dans le temps, séparées par des intervalles de rémission. D'autres patients encore peuvent développer des formes chroniquement actives sur de longues durées, sans intervalle de rémission.

Enfin, il n'est pas rarissime de constater chez certains patients, après un « orage inflammatoire » révélant la maladie, une évolution quiescente durant de nombreuses années. Une étude analysant seulement les 5 premières années suivant l'établissement d'un diagnostic de MC retient comme critères prédictifs de gravité l'âge < 40 ans, l'existence de lésions anopérinéales et la nécessité initiale d'un traitement corticoïde, indicateur rétrospectif de la gravité clinique de la première poussée. Noter que l'âge au moment du diagnostic est un élément pronostique important, les formes pédiatriques de MICI restant en moyenne plus longtemps actives que les formes de l'adulte et ces dernières ont surtout un retentissement plus significatif, notamment en raison de leur impact sur la croissance.

1.4 Evaluation de l'activité

1.4.1 Dans la Maladie de Crohn

De nombreux scores d'activité ont été développés au fil du temps afin d'obtenir une évaluation fiable et reproductible de l'activité de la MC. Nous ne développerons ici que le score de référence ainsi que celui utilisé dans ce travail. L'indice-référence d'évaluation de la MC est le Crohn Disease Activity Index (CDAI) ou Score de Best, développé dans les années 70 par un groupe de cliniciens spécialistes de la MC (24). Il s'agit d'une équation de régression comportant huit variables (le nombre quotidien de selles liquides, les douleurs abdominales, le bien-être général, la prise d'anti diarrhéiques, la présence d'une masse abdominale, les atteintes extradigestives, la variation de poids et l'hématocrite). Ce score, bien qu'étant le gold-standard, n'est quasiment pas utilisé en pratique courante en raison de la difficulté de son calcul et du caractère contraignant du recueil des paramètres (recueil par le patient sur les 7 jours précédant la consultation).

Le score de HARVEY et BRADSHAW (HB) est plus facilement utilisable en pratique clinique. Il est construit à partir de cinq items cotés de 1 à 4 pour les trois premiers: douleurs abdominales, bien-être général, masse abdominale ainsi que le nombre quotidien de selles liquides et la présence de signes extradigestifs (ANNEXE 1). La facilité de calcul le rend plus approprié à une utilisation en consultation. Il s'est de plus révélé étroitement corrélé au CDAI (R = 0,93) dans l'étude initiale de construction. Cependant, il est soumis à un risque non négligeable de fluctuations d'un jour à l'autre.(25)

L'inconvénient majeur de ces scores est qu'ils conviennent plutôt pour les MC inflammatoires, dont les symptômes prédominants sont les diarrhées et les douleurs. En cas de MC fistulisantes, d'atteinte post-opératoire (lors des récidives, et plus encore en situation préventive), ces scores s'avèrent faillibles et peu adaptés.

Concernant l'évaluation endoscopique, le score de référence est le CDEIS (Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity), développé en 1989 sous l'égide du GETAID (Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires du tube Digestif) Il a été construit à partir des données endoscopiques recueillies chez 75 patients, après présélection de neuf lésions élémentaires. Le score est calculé en fonction du pourcentage d'atteinte de chaque portion de muqueuse. Il s'est révélé être bien corrélé à l'appréciation générale qu'avait le praticien de la sévérité de l'atteinte endoscopique (R=0.83). (26)

En 1984, RUTGEERTS a développé un score prédictif du risque de rechute clinique après résection post-opératoire à partir d'une endoscopie faite 6 mois après une chirurgie complète (ANNEXE 2). Le score varie d'i0 (absence de toute lésion) à i4 (iléite diffuse, ulcérations larges, nodules et/ou sténose). Une atteinte est considérée comme significative dès que le score est supérieur à i1, car le pourcentage de rémission clinique à 3 ans en fonction du score à 6 mois était de 95% pour les i0 et i1, de 85% pour les i2 et de 5% pour les i4.(27) Cependant, cette classification ne prend pas en compte les lésions coliques observées en aval de la zone de résection.

1.4.2 Dans la Rectocolite Hémorragique

Dans la RCH, la nécessité de scores de gravité reproductibles est moins importante que dans la MC, notamment en raison de la moins grande variabilité des symptômes et d'un accès direct à la muqueuse rectale par rectoscopie. En pratique courante, les scores de gravité ne sont utilisés que lors des poussées sévères. En 1955, TRUELOVE et WITTS ont proposé une grille d'évaluation afin de classer les formes sévères de la RCH. Elle est surtout employée pour définir l'état de Colite Aiguë Grave (28) . Ses items sont toutefois assez peu spécifiques (nombres de selles/jour, température, tachycardie, taux d'hémoglobine, vitesse de sédimentation). Elle est très utile pour le diagnostic des formes sévères mais peu pour le suivi car discontinue, donc peu sensible à des évolutions modestes.

Actuellement, on lui préfère le score de LICHTIGER, développé en 1990 lors de l'étude ayant permis de démontrer l'efficacité de la ciclosporine dans les CAG. (29). C'est un score comportant 8 items cliniques (nombre de selles liquides, pourcentage de sang, incontinence, selles nocturnes, douleurs abdominales spontanées et provoquées, état général et prise d'anti diarrhéique) valant de 0 à 4 points. Il se cote de 0 à 21 et une poussée sévère est définie à partir d'un score de 10 points. Il est plus sensible pour évaluer une évolution quotidienne, importante à surveiller lors des poussées sévères. Il n'est que peu utilisé par ailleurs en dehors de ces situations (ANNEXE 3).

Hors situation de gravité, le score le plus utilisé est l'UC-DAI (Ulcerative Colitis Disease Activity Index), Il est l'équivalent pour la RCH du CDAI, peu utilisé en pratique courante, mais score de référence des essais thérapeutiques. Il s'agit d'un score mixte clinico-endoscopique à 4 items cotés de 0 à 3 chacun. Il a cependant ses faiblesses, notamment au niveau du sous-score endoscopique qui est peu discriminant, allant de « anomalies minimes » à « anomalies

sévères », laissées à l'appréciation de l'endoscopiste. On lui préfèrera un nouveau score endoscopique, l'UCEIS (Ulcerative Colitis Endoscopy Index of Severity) composé de trois items endoscopiques aisément reconnaissables et reproductibles (trame vasculaire, saignement, ulcération), eux-mêmes divisés en plusieurs degrés de sévérité. Il est fortement prédictif de la sévérité endoscopique globale, avec une bonne concordance inter observateurs (R= 0.78).(30)

2. Les thiopurines dans la prise en charge des MICI

2.1 Rappels historiques

La 6-mercaptopurine (6-MP) et sa prodrogue l'azathioprine(AZA), sont des molécules anciennes, probablement les plus anciens immunosuppresseurs utilisés en médecine moderne. Elles ont été synthétisées pour la première fois dans les années 50 par le Prix Nobel Gertrude Elion en collaboration avec George Hitchings(31).

Leurs indications thérapeutiques sont multiples. Les propriétés antinéoplasiques de la 6-MP ont été mises en évidence dès découverte, et celle-ci a donc été rapidement utilisée pour la prise en charge des leucémies aiguës de l'enfant. Ensuite ses propriétés immunosuppressives en ont fait l'une des premières molécules utilisées dans la prévention du rejet post transplantation rénale (32). Depuis les trente dernières années, leurs indications se sont progressivement élargies au domaine des maladies inflammatoires, de la Dermatologie à la Rhumatologie(33).

Les MICI évoluent par poussées, et celles-ci sont dans leur grande majorité sensibles à la corticothérapie. L'administration de corticoïdes (en continu ou par cures répétées et/ou rapprochées) au long cours expose à des effets secondaires non négligeables : retard de croissance chez l'enfant, troubles métaboliques, diabète, ostéoporose, acné… De plus, ceux-ci ont essentiellement un effet suspensif et ne modifient pas l'histoire naturelle des maladies qui peuvent se compliquer malgré ce traitement. De ce fait, la mise en place de traitements de fond devient impératif afin de diminuer le recours à la corticothérapie et d'essayer de diminuer le taux de complications. Les thiopurines sont utilisées dans ce but depuis les années 70 et l'essai contrôlé contre placebo de WILLOUGBHY démontrant l'efficacité de l'AZA dans le maintien de la rémission après poussée de MC (34).

Plusieurs autres études ont relevé l'efficacité de ces molécules dans l'induction et le maintien de la rémission clinique, la diminution du recours aux corticoïdes et la réduction des complications, aussi bien dans la MC que dans la RCH (35) comme nous le détaillerons ci-dessous.

2.2 Efficacité des thiopurines dans la MC

L'effet bénéfique de l'AZA ou de la 6-MP dans la MC a été montré par des essais contrôlés dans différentes situations :

a) dans les formes chroniques actives, pour diminuer les symptômes et permettre un sevrage en corticoïdes ;

b) dans les poussées plus banales pour faciliter le sevrage des corticoïdes ;

c) chez des malades en rémission, généralement obtenue avec l'azathioprine, pour éviter la rechute. La méta-analyse entreprise par Pearson (2) en 1995, qui a combiné les résultats de 5 études randomisées contre placebo, en double aveugle, allant de 1979 à 1995, a indéniablement conclu à une efficacité indéniable des thiopurines dans cette indication (Figure 2) . Le pourcentage de succès (défini par la rémission clinique et le sevrage en corticoïdes), était compris entre 42% et 96% après un an.

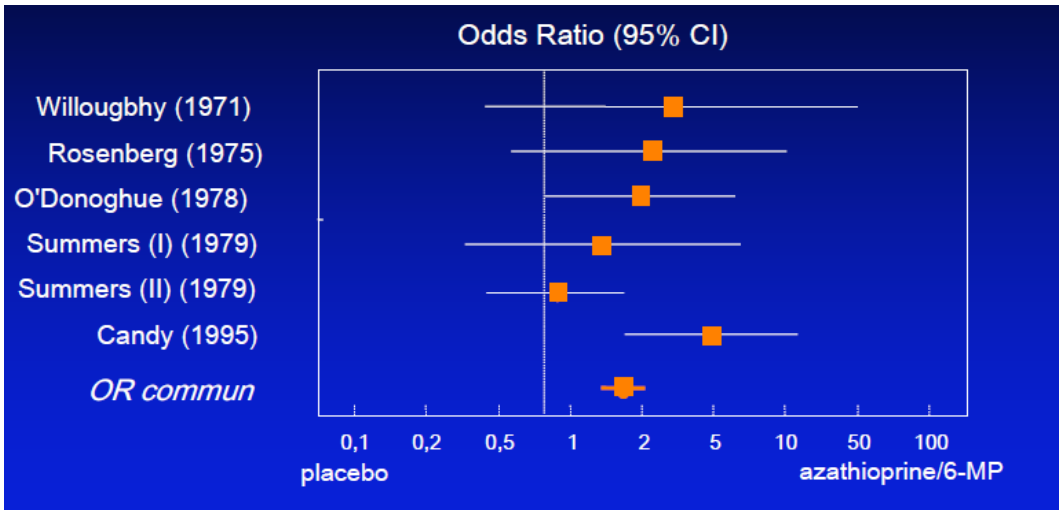

FIGURE 2 : RESUME DE LA 1ERE META ANALYSE SUR L'EFFICACITE DE L'AZA POUR LE MAINTIEN DE LA REMISSION DANS LA MC. ***D'APRES PEARSON ET AL, ANN INT MED, 1995***

Nous détaillons ci-dessous l'intérêt des thiopurines dans les différentes situations auxquelles sont confrontés les praticiens. Les figures çi-après sont tirées pour l'essentiel de

la Review COCHRANE sur l'efficacité de l'AZA et de la 6-MP dans la MC, actualisée en 20123(36).

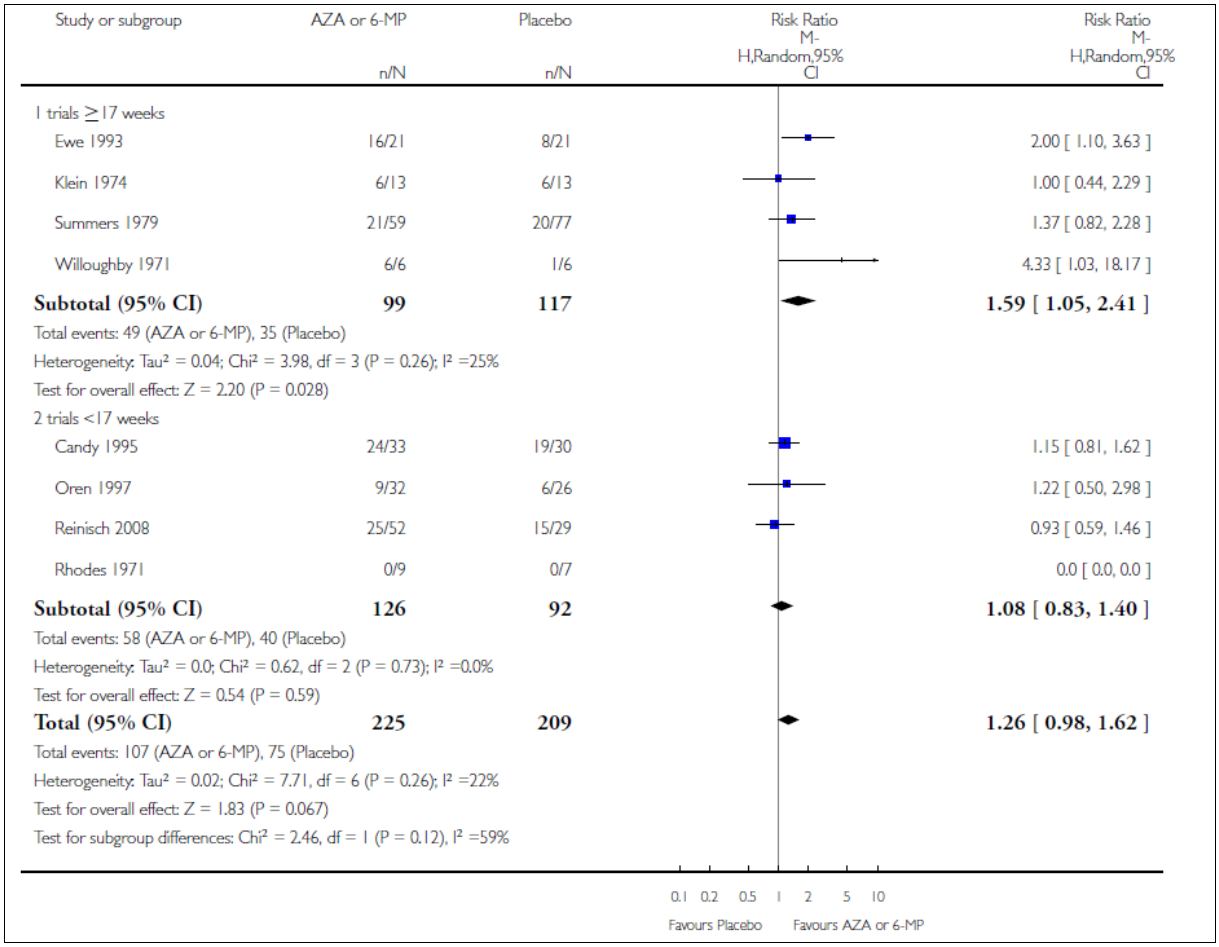

FIGURE 3 : COMPARAISON ENTRE AZA /6-MP CONTRE PLACEBO.

Critère de jugement : rémission ou amélioration clinique durant l'étude.

2.2.1 Première poussée

C'est l'une des indications les plus discutées des thiopurines actuellement. Il était classiquement admis qu'il n'était pas justifié d'utiliser un immunosuppresseur après une première poussée de MICI, dans la mesure où celle-ci répondait favorablement au traitement par corticoïdes. Cependant, Le concept de « lésions cumulatives » développé par Sandborn a conduit à l'essor d'une approche différente, à savoir proposer un traitement de fond dès la première poussée nécessitant l'usage d'une corticothérapie systémique.

Dans un essai contrôlé randomisé, des enfants atteints de MC recevaient dès leur première poussée de MC une corticothérapie classique pendant quelques semaines, associée soit à la 6-MP soit à un placebo. L'utilisation des corticoïdes était significativement plus basse dans le groupe 6-MP ($p<0.01$), et le taux de rechute à 1an était de 9% dans le groupe 6-MP contre

47% dans le groupe corticoïdes seuls (37). De même, dans le suivi de la cohorte de MC de Cardiff, l'utilisation précoce des immunosuppresseurs semblait diminuer le taux de chirurgie alors qu'une utilisation plus tardive de ceux-ci ne semblait pas avoir le même effet (38). Cependant, les détracteurs de ce courant arguent que cette stratégie exposerait à une immunosuppression prolongée des patients qui n'en n'auraient pas forcément besoin , même si la sécurité clinique de ces molécules est clairement établie.
Les résultats de l'étude RAPID, annoncés lors des JFHOD à Paris en 2013 semblent remettre en question cette tendance. Il s'agissait d'un essai randomisé multicentrique français comparant l'utilisation de l'AZA chez des patients naïfs de tout traitement et ayant des facteurs de risque d'évolution péjorative, soit d'emblée, soit en cas d'évolution secondaire défavorable. Sur les 142 patients analysés, le nombre de trimestres en rémission, le taux de chirurgie et le taux de recours aux anti-TNF alpha n'étaient pas significativement différent entre les deux groupes. De plus, environ 30% des patients du groupe contrôle n'avaient pas reçu d'AZA pendant la durée de suivi (2ans). Ces résultats ne semblent donc pas en faveur de l'utilisation précoce d'AZA, même chez des patients sélectionnés. On peut toutefois signaler que malgré une longue période d'inclusion et un nombre non négligeable de centres, le nombre de patients étudiés était assez faible par rapport à ce qui aurait été attendu.

2.2.2 Les formes chroniques actives modérées

Dans les recommandations émises par l'European Crohn and Colitis Organisation (ECCO)(3), cette appellation inclut :

- les maladies corticodépendantes, définies comme celles redevenant symptomatiques lors de la décroissance des corticoïdes, ou présentant une rechute symptomatique moins de trois mois après l'arrêt des corticoïdes
- les maladies avec plusieurs rechutes symptomatiques dans l'année pouvant nécessiter la reprise d'une corticothérapie
- les maladies corticorésistantes.

Il s'agit de l'indication phare des thiopurines dans les MICI. La plupart des études portant sur l'efficacité de l'AZA l'ont évalué dans ces situations. Elles ont toutefois été abondamment critiquées sur le plan méthodologique car pour leur grande majorité, il s'agissait de séries rétrospectives et d'essais contrôlés monocentriques pour la plupart. Le taux de succès

d'échelonnait de 41 à 96% selon les études. Dans la plupart de ces études, le pourcentage de succès n'incluait pas systématiquement les intolérances. Dans des études plus récentes, notamment celles comparatives aux anti-TNF, dans lesquels les critères de rémission étaient plus stricts (dont la cicatrisation muqueuse) les taux de succès du traitement par thiopurines étaient nettement plus bas, compris entre 20 et 30% à un an. (5). L'effet du traitement est retardé de quelques mois et il est souvent nécessaire de maintenir la corticothérapie durant cette phase (39).

2.2.3 La récidive post opératoire

Contrairement à la RCH, la résection intestinale dans la MC n'est pas un traitement curatif, et un nombre non négligeable de patients est exposé à une récidive post-opératoire, le facteur de risque le plus puissant de cette récidive semblant être le tabagisme actif (A Buisson ; APT 2012). Les thiopurines peuvent être utilisées en traitement de la récidive précoce, évaluée selon le score de Rutgeerts. Une étude multicentrique randomisée récente a comparé l'AZA à la mésalazine chez 78 MC ayant été opérées d'une résection iléo-colique et présentant une récidive endoscopique sans récidive clinique. La récidive clinique à un an était de 10.8% dans le groupe mésalazine contre 0% dans le groupe AZA (40).

Un autre essai thérapeutique datant de 2004 a comparé le Pentasa®, la 6-MP et un placebo en prévention de la récidive postopératoire dans la MC chez 131 patients ayant eu une résection iléocolique. Les taux de récidive clinique à 2 ans étaient de 70% dans le groupe Placebo contre respectivement 61% et 53% dans les groupes Pentasa® et 6-MP, les deux traitements étant significativement plus efficaces que le placebo (41). Les thiopurines sont donc efficace aussi bien en prévention qu'en traitement de la récidive post opératoire.

2.2.4 Les formes sévères et/ou compliquées

Dans cette indication, les thiopurines ont été supplantées depuis quelques années par l'avènement des biothérapies (Infliximab (IFX) et adalimumab (ADA)). Dans les études de phase III ayant conduit à l'obtention de l'Autorisation de Mise sur le Marché, l'IFX et l'ADA rapportaient des taux de succès supérieurs à ceux attendus sous AZA. Dans le libellé de leur AMM, ils sont réservés aux échecs des traitements conventionnels comprenant corticoïdes

et immunosuppresseurs (hormis le cas particulier de la MC fistulisante). Cependant, de nombreux praticiens tendent à les utiliser d'emblée en cas de critères de sévérité de la maladie. La seule étude randomisée ayant comparé l'AZA à l'IFX montre la supériorité de cette dernière dans les formes compliquées de MC et RCH.

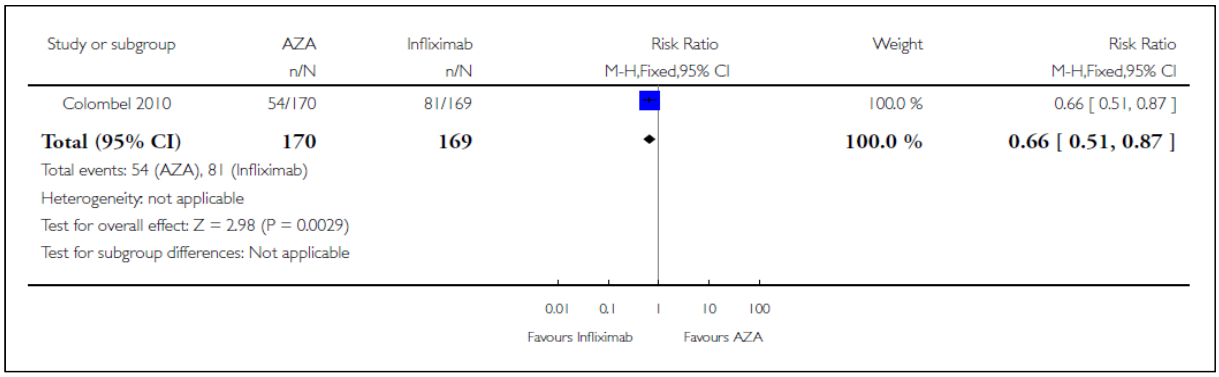

FIGURE 4 : COMPARAISON ENTRE AZA ET INFLIXIMAB.

Critère de jugement : Rémission clinique à la 26e semaine.

Une autre stratégie, chez des patients présentant des formes sévères, est d'associer biothérapie et immunosuppresseurs, les résultats des études randomisées concluant indubitablement vers une supériorité du traitement combiné par rapport à chacun des traitements pris séparément.

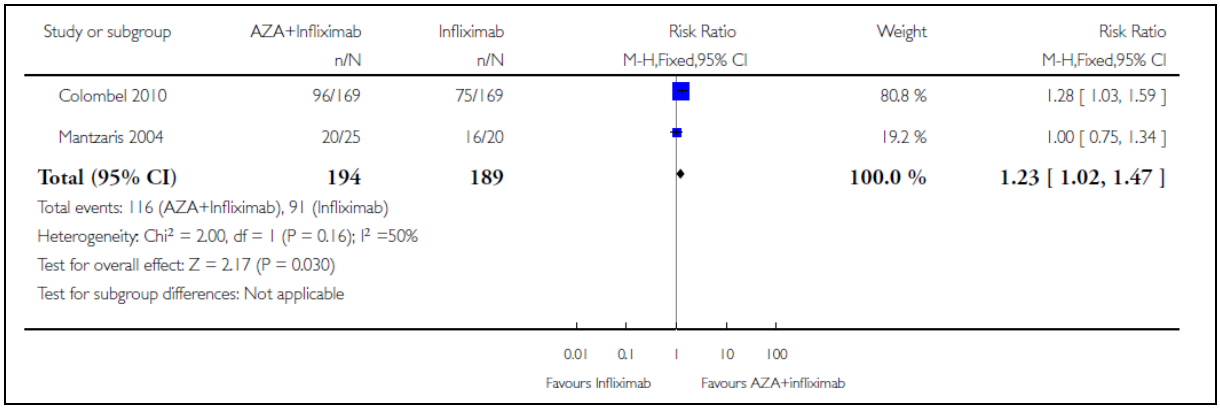

FIGURE 5 : COMPARAISON ENTRE BITHERAPIE AZATHIOPRINE + INFLIXIMAB ET INFLIXIMAB SEUL.

Critère de jugement : rémission clinique sans corticothérapie

2.3 Efficacité des thiopurines dans la RCH

Tout comme dans la MC, les recommandations en faveur de l'usage des thiopurines dans la RCH reposent essentiellement sur des études contrôlées et il n'existe que peu d'études randomisées comparant l'AZA ou la 6-MP à un placebo ou aux 5-aminosalycilés (5-

ASA). Les figures ci-dessous sont tirées de la Review COCHRANE sur l'efficacité de l'AZA et de la 6-MP dans la RCH, actualisée en 2012 (36).

Le traitement des patients atteints de RCH en première intention repose principalement sur les 5-aminosalicylés. Ceux-çi ont fait la preuve de leur grande efficacité aussi bien pour l'induction que pour le maintien de la rémission clinique (42). L'usage des immunosupresseurs dans la RCH est bien moins important que dans la MC. Dans les formes localisées et modérées, les thioguanines n'interviennent qu'en deuxième position, en cas d'inefficacité ou de contre-indication aux 5-ASA (35) (43). Environ 22% des patients ayant eu une poussée nécessitant une corticothérapie orale développeront une corticodépendance. L'usage des immunosuppresseurs se justifie sans ambiguïté chez ces derniers.

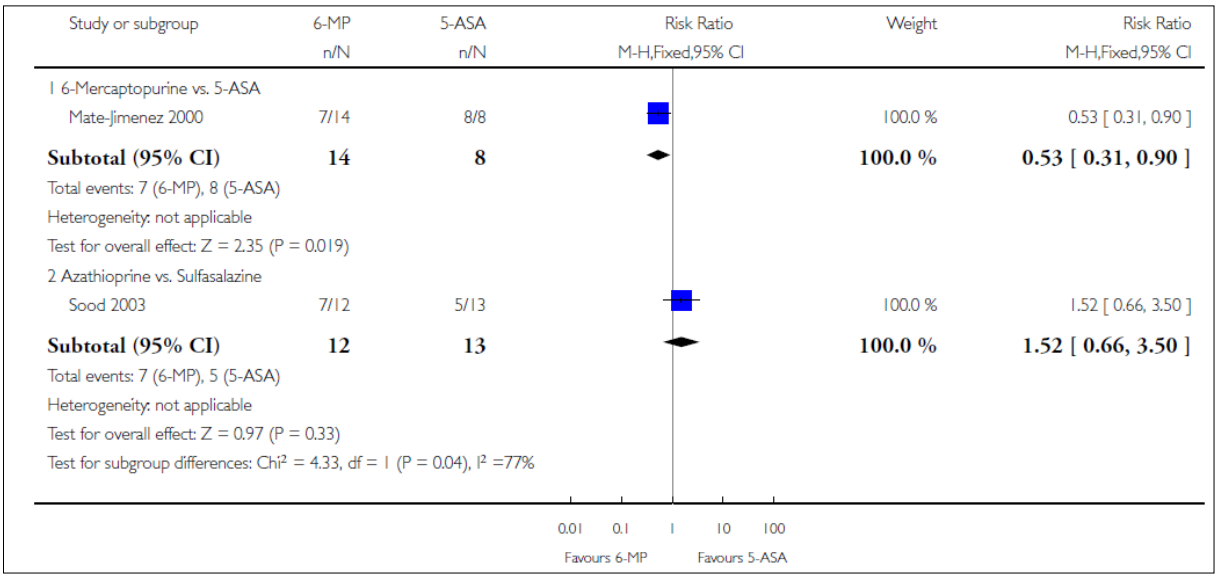

FIGURE 6 : COMPARAISON ENTRE 6-MP ET 5-ASA.

Critère de jugement : Echec du maintien de la rémission

2.3.1 Formes chroniques actives modérées ou limitées au colon gauche

Dans ces indications, l'usage des thiopurines est limité aux patients ayant une résistance ou une dépendance à la corticothérapie orale. Les atteintes distales de RCH répondent le plus souvent très bien à un traitement local par 5ASA ou corticoïdes. Cependant, en cas d'atteinte chronique malgré un traitement local et oral par 5ASA maximal, les immunosuppresseurs sont d'indication raisonnable car la sanction chirurgicale (coloprotectomie totale) pourrait apparaître démesurée par rapport à l'atteinte.

En cas d'atteinte pancolique, l'introduction d'immunosuppresseurs est en général plus rapide en raison d'un risque plus élevé de dégénérescence néoplasique et de l'intérêt d'obtenir une cicatrisation muqueuse prolongée.

Une méta analyse de 2009, incluant six études et 124 patients (essentiellement des études contrôlées) rapporte des résultats très en faveur de l'usage d'AZA et de 6-MP dans le maintien de la rémission, avec une efficacité moyenne des thiopurines de 60% pour un Odds-Ratio de 2.56 (IC95% : 1.51-4.34)(44) (36).

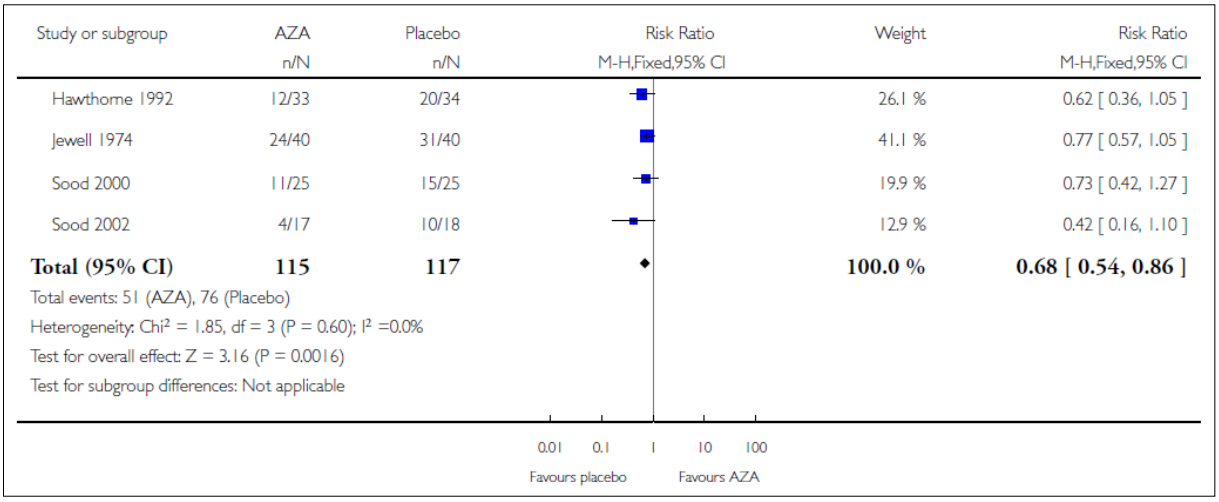

FIGURE 7 : META-ANALYSE COMPARANT L'AZATHIOPRINE CONTRE PLACEBO.
Critère de jugement: échec du maintien de la rémission.

2.3.2 Formes sévères

En raison de leur délai d'action, les thiopurines n'ont aucune place en phase aiguë des poussées sévères de RCH, le traitement en première intention étant une corticothérapie intraveineuse. En cas d'échec de cette dernière, afin d'éviter la colectomie en urgence, il existe deux alternatives : la ciclosporine intraveineuse ou l'infliximab, les deux traitements étant d'efficacité équivalente (45). En cas de succès de la ciclosporine, un traitement de fond doit être entrepris car cette dernière n'est que peu efficace pour le maintien de la rémission à long terme. Les thiopurines interviennent alors en relais d'immunosuppression, avec une phase de bithérapie immunosuppressive par ciclosporine orale et thiopurines qui dure entre 1 et 2 mois.

Dans la lignée de l'étude SONIC, un essai similaire, SUCCESS, a été conduit dans la RCH. Les résultats étaient comparables et concluaient à une efficacité de la bithérapie AZA-IFX sur chacun des traitements pris séparément (46). Mais contrairement à ce qui était le cas dans la MC, l'AZA et l'IFX avaient une efficacité similaire en termes de rémission clinique à S16.

Cependant, cette association est actuellement utilisée uniquement en cas d'échappement à l'IFX ou à l'ADA en monothérapie, et ses indications sont moins fréquentes que dans la MC.

3. Toxicité des thiopurines

Chez des patients atteints de MICI et traités par thiopurines, on dénombre jusqu'à 20% d'interruptions de traitement pour cause d'effets secondaires (8). Parmi ces effets indésirables, les plus graves sont la myélotoxicité aboutissant parfois à une aplasie médullaire sévère, et la pancréatite aiguë. (7)

- Troubles digestifs : Parmi les effets indésirables des thiopurines, les douleurs abdominales, ballonnements et accélération du transit sont les plus précoces et les plus fréquents. Ils semblent être plus importants sous AZA, surviennent rapidement après introduction du traitement, et peuvent parfois poser un problème de confusion quant à l'appréciation de l'efficacité du traitement. Ces effets indésirables disparaissent au bout de quelques semaines de poursuite du traitement, mais sont souvent responsable d'inobservance majeure chez les patients. Ils disparaissent souvent également en cas de remplacement de l'AZA par la 6-MP

- Myélotoxicité : L'un des effets secondaires les plus fréquents mais aussi le plus potentiellement gravissime. Le plus souvent, il s'agit d'une leucopénie modérée, concernant environ 2.2 à 15% des patients traités, selon les seuils pris en compte. Dans la majorité des cas, celle-ci disparaît après réduction des doses, mais peut entraîner une augmentation des complications infectieuses. Un travail rétrospectif étudiant la proportion de mutation de la TPMT chez des patients ayant présenté une leucopénie ou une thrombopénie sous thiopurines retrouvait une mutation de la TPMT dans environ27% des cas (dont 10% de mutations homozygotes) (47). On notait toutefois que le délai d'apparition de cette myélotoxicité était beaucoup plus court chez les patients homozygotes mutés. Cependant, sa recherche systématique avant l'introduction du traitement reste débattue.

La survenue d'une leucopénie ou d'une lymphopénie dans des limites raisonnables (supérieure ou égal à 2000 leucocytes/mm3 ; supérieure à 500 lymphocytes/mm3) a longtemps servi et sert toujours comme marqueur d'observance et ne justifie pas une modification de ce dernier. Afin de dépister précocement cette toxicité, il est recommandé

d'effectuer une surveillance hebdomadaire puis mensuelle de la numération formule sanguine lors de l'initiation d'un traitement par thiopurines.

- Hépatotoxicité : Elle est rare, survenant chez environ 0.3 à 3% des patients, essentiellement sous forme d'une élévation des transaminases. Si cette élévation reste modérée (inférieure à 2 fois la normale), il n'est pas nécessaire d'interrompre le traitement. Dans le cas contraire, elle régresse en général rapidement après son interruption.. Certains dérivés thiopuriniques (6-MMP) ont été incriminés dans la physiopathologie de cette toxicité. Récemment, l'association allopurinol-thiopurine a été reportée comme pouvant permettre de réduire les l'hépatotoxicité induite par les thiopurines (48). Les mécanismes expliquent la toxicité hépatique des thiopurines sont peu clairs. Une augmentation des 6-MMP a été mise en cause mais reste douteuse (cf. 4.1 et 4.4). On peut toutefois noter que l'azathioprine est un traitement efficace et indiqué dans la prise en charge des certaines hépatopathies auto-immunes. Les thiopurines peuvent également exposer à une Hyperplasie Nodulaire Régénérative (HNR) (49), atteintes hépatique plus sévère mais rarissime pouvant aboutir à une hypertension portale et qui peut toutefois être réversible à l'arrêt du traitement

- Pancréatite : Une pancréatite aiguë sous thiopurines survient dans environ 2 à 3.3% des patients, généralement dans les premiers mois après introduction du médicament. (50) Le mécanisme est de type immuno-allergique. La survenue d'un tel évènement contre-indique de façon définitive l'utilisation des thiopurines chez le patient exposé, car la récidive en cas de réintroduction est systématique.(50)(51)

Par ailleurs, la prise au long cours expose à un risque plus élevé de développement de tumeurs, notamment cutanées, aspect que nous ne détaillerons pas içi.

4. Métabolisme des thiopurines

4.1 Pharmacocinétique

4.1.1 Absorption

L'AZA et la 6-MP ont une absorption intestinale incomplète, avec une grande variabilité interindividuelle. Leur biodisponibilité est respectivement estimée à moins de 50% pour l'AZA, et à environ 35% pour la 6-MP (33), probablement en lien avec un important effet de

premier passage hépatique en ce qui concerne ce dernier. La concentration plasmatique maximale est atteinte en environ 2h en moyenne. Le taux de liaison aux protéines plasmatiques est d'environ 30%.

4.1.2 Métabolisme

L'AZA est rapidement et quasiment entièrement transformée en 6-MP dans l'organisme par un processus enzymatique impliquant une ou plusieurs Glutathion-S transférase (GST) (52). La 6-MP est ensuite métabolisée selon trois voies enzymatiques compétitives :

- La première voie fait intervenir la xanthine oxydase (XO) et conduit à l'acide thiourique (ATU), métabolite inactif qui est excrété dans les urines.

$$\text{6-MP} \longrightarrow \text{ATU (inactif)}$$

- La seconde voie, sous la dépendance de la TPMT, entraîne la conversion de la 6-MP en 6-méthylmercaptopurine (6-meMP), un métabolite inactif, en utilisant comme co-facteur la S-adénosyl Lméthionine (SAM).

$$\text{6-MP} \xrightarrow{\text{TPMT et SAM}} \text{6meMP}$$

- La troisième voie, celle qui nous intéresse ici, est la voie pharmacologiquement la plus active. La dégradation de la 6-MP est initiée par l'hypoxanthine guanine phosphoribosyltransférase (HGPRT). Après plusieurs transformations enzymatiques, elle aboutit à la formation des 6-thioguanosine nucléotides (6-TGN), métabolites actifs de l'AZA et des 6-Méthyl Mercaptopurine Ribonucléotides (6-MMPR). Ce sont ces 2 métabolites qui sont dosés lors de l'évaluation de la réponse au traitement. Nous détaillerons cette voie dans le paragraphe çi-dessous.

- $\text{6-MP} \xrightarrow{\text{HGPRT}} \text{6-TGN et 6-MMPR}$

** Voie de l' HGPRT*

La 6-MP, sous l'action de l'HGPRT, est d'abord convertie en 6-thioinosine monophosphate (6-TIMP), puis en 6-thioxanthine monophosphate (6-TXMP), elle-même métabolisée en 6-thioguanosine monophosphate (6-TGMP). Cette transformation du 6-TIMP en 6-TGMP fait intervenir deux enzymes : l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) et la guanosine monophosphate synthétase (GMPS).

La 6-TGMP est à l'origine de la formation des 6-TGN que sont la 6-thioguanosine triphosphate (6-TGTP) et sa forme désoxy (6-dTGTP) via l'intervention de kinases et de réductases.

La 6-TIMP est aussi un substrat de la TPMT, qui la transforme en 6-méthyl-thioinosinemonophosphate (6-meTIMP), elle-même convertie via d'autres kinases en 6-méthyl-thioinosine diphosphate (6-meTIDP) et triphosphate (6-meTITP). Ce dernier élément est un puissant inhibiteur de la synthèse des purines, et contribue par cette fonction à l'effet cytotoxique de la 6-MP par un mécanisme différent de celui des 6-TGN. Les métabolites 6-meTIMP, 6-meTIDP et 6-meTITP sont désignés collectivement sous le terme 6-MMP(R) (6-Méthyl Mercaptopurine Ribonucléotides).

Par ailleurs, la 6-TG (Lanvis ®), non utilisée dans les MICI, est directement transformée en 6-TGMP par l'HGPRT.

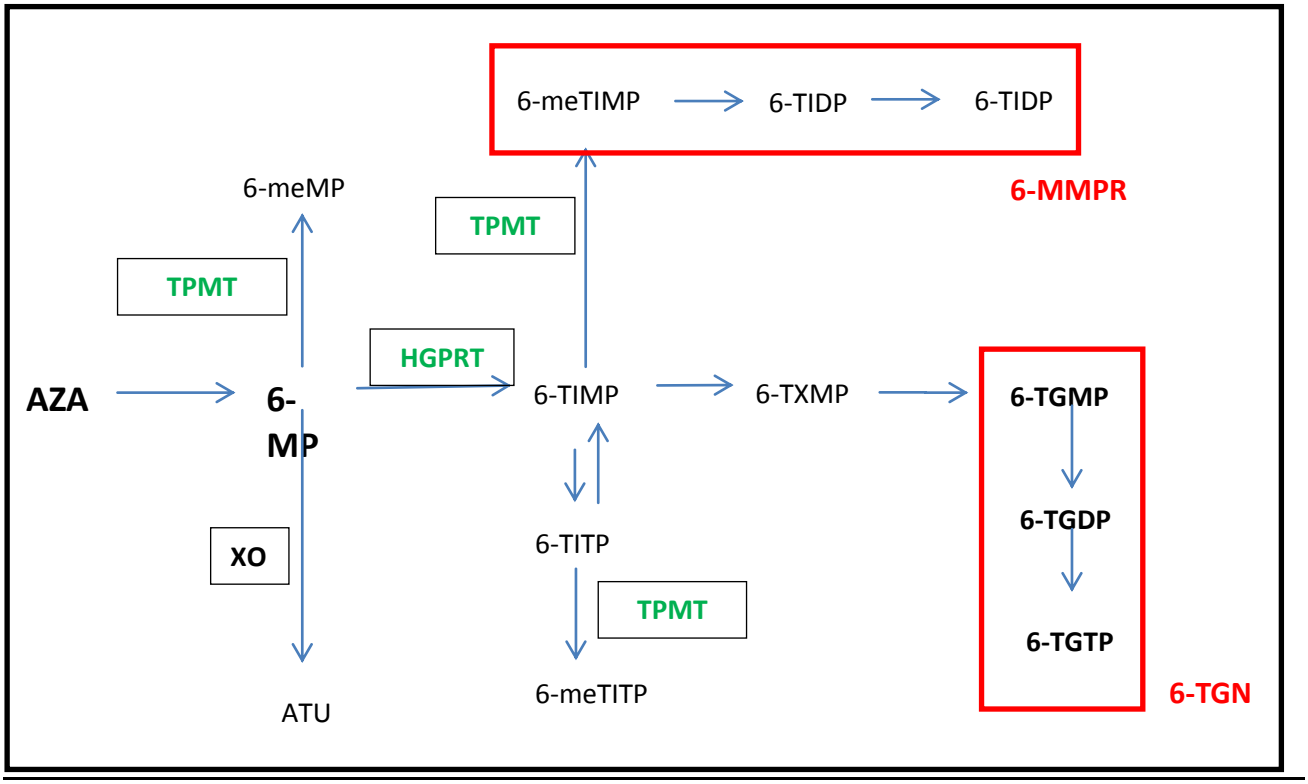

FIGURE 8 : METABOLISME SIMPLIFIE DES THIOPURINES.
AZA : azathioprine ; 6-MP : 6-mercaptopurine ; TPMT : thiopurine methyltransférase; HGPRT: hypoxantine guaninephosphoribosyltransférase; XO: xantine oxydase; ATU: acide thiourique; 6-meMP: 6-méthylmercaptopurine; 6-TIMP: 6-thioinosine monophosphate; 6-TIDP et TITP: 6-thioguanosine diphosphate et triphosphate; 6-meTIMP: 6-méthylthioinosine monophosphate; 6-TXMP: 6-thioxanthine monophosphate; 6-TGMP, TGDP et TGTP: 6-thioguanosine monophosphate, diphosphate et triphosphate.

4.2 Effet du déficit en TPMT sur le métabolisme des thiopurines

Comme nous l'avons vu plus haut, la TPMT intervient à plusieurs niveaux dans le métabolisme de la 6-MP :

- Lors de la transformation de la 6-MP en 6-meMP
- Lors de la formation des 6-MMP à partir de la 6-TIMP
- Lors de la méthylation de la 6-TGMP

Un déficit enzymatique en TPMT entraîne donc une déviation du métabolisme vers la voie de l'HGPRT, augmentant ainsi la concentration des 6-TGN, dont l'accumulation est responsable d'accidents hématologiques. Inversement, plus l'activité TPMT est élevée, plus la concentration en 6-TGN diminue, expliquant certains cas de résistance au traitement (11)(12).

Selon certaines estimations à partir d'échantillons de volontaires sains et malades caucasiens, la répartition de l'activité de la TPMT serait la suivante (cf. figure 9) :

- 90% seraient des « méthyleurs (métaboliseurs) rapides » : homozygotes pour un allèle fonctionnel du gène
- 0,3% seraient des « méthyleurs limités » : porteurs homozygotes ou hétérozygotes composites d'allèles non fonctionnels du gène de la TPMT; Ceux-ci sont à très haut risque d'accidents hématologiques, car leur phénotype les expose à des taux sanguins très élevés de 6-TGN (53).
- les 10% restants seraient des « méthyleurs intermédiaires » : hétérozygotes avec un allèle muté du gène. Chez ces derniers, une augmentation des doses de thiopurines pourrait conduire soit à un risque accru d'accidents hématologiques, soit à une inefficacité du traitement. Il est d'usage pour ces patients de débuter le traitement à doses réduites.

Le gène TPMT est localisé sur le bras court du chromosome 6. A ce jour, une trentaine de variants alléliques du gène de la TPMT a été identifiée. L'allèle *TPMT*2 (mutation c.238G>C, Ala80Pro)* ; l'allèle *TPMT*3A, (mutations c.460G>A (Ala154Thr) et c.719A>G (Tyr240Cys))* et l'allèle *TPMT*3B (mutation c.460G>A)* sont les 3 variants les plus fréquemment rencontrés.

L'application de tests de génotypage à des échantillons d'ADN provenant de grandes populations de volontaires sains ou de patients préalablement phénotypés (c'est-à-dire chez qui l'activité TPMT avait été dosée) , a permis de montrer une bonne concordance, de 75 à 100 %, entre le phénotype des sujets prédits par génotypage et celui déterminé par le dosage de l'activité (54). Ce taux de concordance élevé, associé à la simplicité, à la rapidité et au coût modéré des tests de génotypage, en font des méthodes de choix, utilisables en routine, pour identifier les patients à risque de myélotoxicité avant initiation d'un traitement par thiopurines (55). L'intérêt du génotypage par rapport au phénotypage réside dans le fait que l'activité de la TPMT peut être variable dans le temps et influencée par des médicaments pris concomitamment, ou induite par la prise de thiopurines, alors que le génotype reste constant dans le temps.

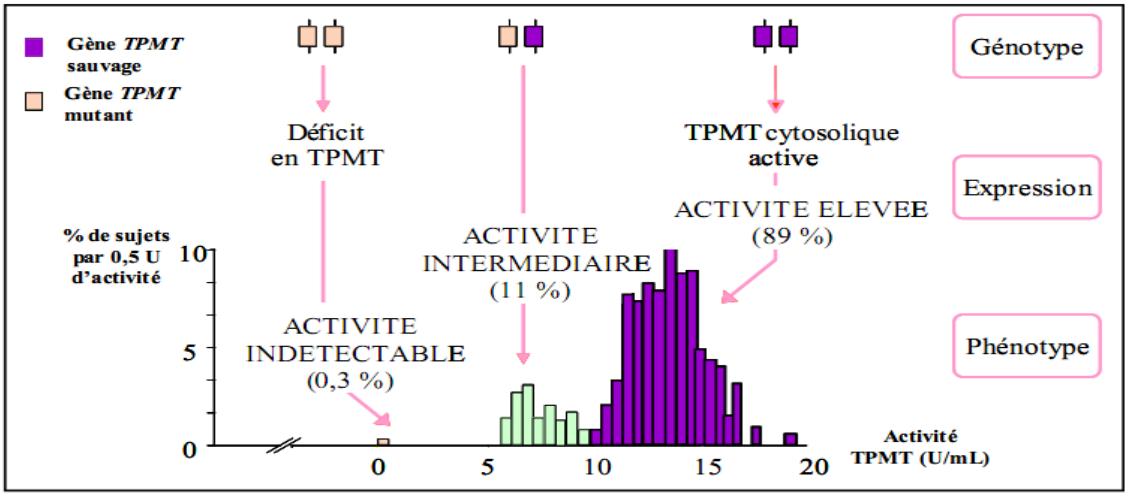

FIGURE 9 : REPARTITION ET CORRELATION PHENOTYPE ET GENOTYPE DE L'ACTIVITE DE LA TPMT.
D'après Anne Garat : thèse du 19.09.2009 « pharmacogénétique des médicaments thiopuriniques »

4.3 Effet de l'allopurinol sur le métabolisme des thiopurines

L'allopurinol est une molécule utilisée dans le traitement de l'hyperuricémie. Il est un puissant inhibiteur de la xantine oxydase. Il a été démontré que lors d'une administration concomitante d'allopurinol et de thiopurine (AZA ou 6-MP), l'inhibition de la XO entraîne une augmentation de l'activité de l'HGPRT(56). De plus, cette association entraîne une augmentation de la concentration de 6-TGN et une diminution du ratio 6-MMPR/6-TGN, car l'un des métabolites de l'allopurinol, l'oxipurinol inhiberait les réactions de méthylation, ce qui diminuerait la formation de 6-MMP. De ce fait, lors de l'association thiopurine-allopurinol, le traitement par thiopurines doit être donné à doses réduites en raison du risque élevé de toxicité. Dans une étude récente, 41 patients qui avaaient expérimentés des

effets indésirables hépatiques (16 patients) et non-hépatiques (25 patients) avaient reçu une dose réduite de thiopurine associé à de l'allopurinol (100 ou 200mg/jour). Cette association thérapeutique avait permis d'obtenir des taux de rémission d'environ 72%, sans récidive de toxicité.

4.4 Mécanisme d'action cellulaire

L'effet cellulaire des thiopurines n'a été élucidé que récemment. Ce sont des molécules agonistes des bases purines Adénine et Guanine (cf. figure 10). Elles sont donc intégrées à l'ADN de toutes les sous-populations lymphocytaires, plus particulièrement au moment de la différenciation induite par les antigènes, ce qui explique leur action inhibitrice de l'immunité cellulaire.

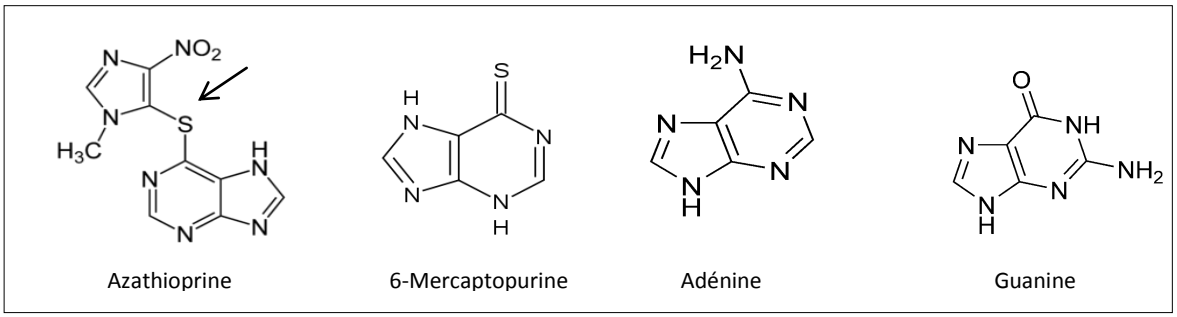

FIGURE 10 : STRUCTURES MOLECULAIRES COMPAREES DE L'AZATHIOPRINE, DE LA 6-MERCAPTOPURINE ET DES BASES PURIQUES ADENINE ET GUANINE.

- La 6-TGTP (une des 6-TGN) et sa forme désoxy (6-dTGTP) sont incorporées au niveau des chaînes d'ARN et/ou d'ADN à la place des bases puriques, ce qui conduit à une rupture des brins.

  La 6-TGTP peut aussi induire une apoptose de lymphocytes T CD4+ stimulés via le CD 28. Elle a la capacité de se lier de façon spécifique et avec une très forte affinité à la protéine RAC1 à la place de son co-activateur endogène le GTP. RAC-1 ayant une action anti-apoptotique, sa liaison avec la 6-TGTP ci l'inhibe et la cellule est entraînée vers une voie d'apoptose, via la suppression de l'activation de gènes-cible de RAC1 dont le NF-kB (Nuclear factor kappa B) (57).

- Par ailleurs, l'AZA et la 6-MP agiraient également via l'inhibition de l'expression de certains gènes codant pour des protéines agissant sur l'inflammation et l'auto-

immunité comme l'alphaintégrine et le TNFRSF7 (TumorNecrosis Factor Receptor Super Family member 7)(58).

Ce mécanisme joue un rôle majeur dans l'effet thérapeutique des thiopurines au cours des MICI et de lui découle la lymphopénie fréquemment observée lors de la surveillance biologique du traitement, qui touche aussi bien les lignées T que B.

- Par ailleurs, le 6 meTIMP , composant appartenant aux 6-MMP (R), est un inhibiteur de la synthèse de novo des bases purine car il serait un inhibiteur de la phosphoribosyl-pyrophosphate amidotransférase, enzyme catalysant la première étape de cette synthèse. Cette action semble contribuer dans une faible mesure aux propriétés antiprolifératives des thiopurines.(59)

Il est évident que les propriétés immunosuppressives des thiopurines ne sont pas attribuables à un seul et unique mécanisme. À ce jour cependant, la participation de chacun des mécanismes suscités à l'action globale des thiopurines reste peu claire.

5. Impact du taux de métabolites sur l'évolutivité des MICI

Il a été démontré que les concentrations en 6-TGN dans les érythrocytes sont corrélées à celles des 6-TGN incorporés à l'ADN leucocytaire (60). L'une des équipes ayant le plus travaillé sur l'impact des 6-TGN et des 6-MMP sur la rémission dans les MICI est celle de Cuffari. Ils ont été les premiers, en 1996, à montrer une corrélation entre le taux de 6-TGN et la rémission clinique sous 6-MP dans une cohorte de 25 adolescents atteints de MC (10). Cette corrélation a été confirmée par Dubinsky, sur une population de 92 patients pédiatriques (MC et RCH). Il a pu définir un seuil d'efficacité de 235 pmol/8.10^8 GR. Cependant, la corrélation entre toxicité hépatique et taux de 6-MMP qu'il a mise en évidence (avec un seuil de 5700 pmol/8.10^8 GR) n'a jamais été retrouvée par d'autres études(61). A l'inverse, les travaux de Lowry(62) et de Belaiche (63)portant respectivement sur 170 et 28 patients, n'ont pas retrouvé de corrélation entre 6-TGN et activité de la maladie. Roblin, en 2005, a inclus prospectivement 170 patients corticodépendants recevant ou non de l'AZA. Le dosage des métabolites a été effectué à 1-2 mois puis tous les 3 mois pendant 1 an, et les doses d'AZA adaptées jusqu'à obtention d'un taux de 6-TGN

supérieur à 250pmol/8.10^8 GR. Le taux de rémission était significativement plus élevé chez les patients ayant un taux de 6-TGN supérieur à 250pmol/8.10^8 GR, confirmant l'intérêt de ce dosage à visée adaptative du traitement.

Malgré ces discordances, toutes les revues de la littérature sur le sujet concluent à l'utilité de ce dosage, que ce soit en cas d'inefficacité de l'AZA (recherche d'une non-observance ou suspicion d'une activité TPMT élevée) ou de suspicion de toxicité (7). Certains se sont même essayés à l'élaboration de propositions thérapeutiques pour adapter le traitement en fonction du dosage. Une méta-analyse parue en 2006 et basée sur les différentes séries rétrospectives précédemment publiées confirme l'existence d'une valeur seuil de 6-TGN probablement comprise ente 230 et 260pmol/8.10^8 GR, malgré une très grande hétérogénéité des études analysées(64)

TABLEAU 1 : PROPOSITION D'INTERPRETATION DES DOSAGES DES METABOLITES CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE MICI.

D'après Derijks et al, Alim Pharm Therapies, 2006 (7).

	6-TGN (pmol/8.108 GR)	6-MMP (pmol/8.108 GR)	Ratio 6-MMP/6-TGN
zone thérapeutique atteinte	230-450	< 5700	5 - 25
Non observance	<< 230	<< 5700	5 - 25
Sous-dosage	<230	< 5700	5 - 25
Myélotoxicité probable (activité TPMT absente)	>> 450	<< 5700	0
Myélotoxicité potentielle (activité TPMT faible)	> 450	< 5700	0
Hépato toxicité potentielle (activité TPMT élevée)	< 230- 450	> 5700	30 - 100
Hépato toxicité probable (activité TPMT très élevée)	<< 230	>> 5700	>> 100

6-TGN : 6-thioguanosine nucléotides ; 6-MMP : 6-méthylmercaptopurine ribonucléotides, exprimés en picomoles / 10^8 globules rouges.

6. But de l'étude

Le but du travail que nous avons mené était d'évaluer l'impact du dosage systématique à la 8e semaine des dérivés des thiopurines (6-TGN et 6-MMP) sur la réponse clinique et sur les modifications thérapeutiques lors des premiers mois de prise en charge de MICI.

MATERIELS ET METHODES

1.Matériels

1.1 Recrutement de la population principale de l'étude

A partir du mois de Juin 2010, nous avons systématiquement recherché une mutation du gène de la TPMT chez les patients candidats à l'introduction d'une thiopurine et dosé les 6-TGN chez des malades traités. Parmi ceux-ci, nous avons sélectionné ceux ayant eu un dosage des métabolites des thiopurines 8 semaines après introduction du traitement.

Critères d'inclusion :

- patients ayant eu un traitement par azathioprine (AZA) ou 6-mercaptopurine (6-MP)
- et ayant eu un dosage des dérivés des thiopurines dans les 8 semaines après l'introduction du traitement.

Critères d'exclusion :

- arrêt du traitement avant le dosage des dérivés métaboliques.

1.2 Recrutement de la population contrôle

Les patients ayant été suivis au CHU de Poitiers pendant au moins deux mois et ayant reçu un traitement par AZA ou 6-MP. Tous les patients pris en charge dans les trois ans précédant le début du dosage ont été inclus, jusqu'à l'obtention d'un groupe comparable selon les critères suivants:

- âge
- sexe
- consommation tabagique
- phénotype de la maladie (cf. chapitre 1.2.2).

Les patients n'ont pas été appariés individuellement, mais les moyennes ou la réparttion de chaque item ont été comparées dans les 2 groupes.

1.2 Recueil des données

Le recueil de données a été fait rétrospectivement, à partir des données contenues dans les courriers et les dossiers médicaux des patients. Nous avons collecté des données à 3 moments du suivi : 1°) lors de la consultation ou de l'hospitalisation pendant laquelle la thiopurine a été introduite (V1)

2°) Lors de la 1ère consultation de suivi du traitement ayant eu lieu entre la 6e et la 12e semaine (V2)

3°) lors d'une consultation de suivi qui avait lieu entre 6 et 9 mois en l'absence d'évènement intercurrent, ou plus tôt en cas de modification thérapeutique (V3).

La date des dernières nouvelles des patients et l'état de leur maladie à celle-ci ont également été reportés.

1.1.1 Données générales

Caractéristiques des patients et de leur maladie

- sexe
- âge
- tabagisme à l'initiation du traitement (actif ou sevré)
- date de diagnostic de la MICI
- phénotype de celle-ci (cf. chapitre 1.2.2)
- traitements reçus préalablement (y compris la chirurgie)
- traitements donnés simultanément aux thiopurines (corticoïdes, anti-TNF, 5-ASA, ciclosporine)
- dose de corticothérapie (en milligrammes)
- motif d'initiation du traitement par thiopurines.

A chaque consultation de suivi ont été recueillis :

- Des données cliniques
    - poids

- données cliniques d'évaluation de l'activité de la maladie (nombre de selles, rectorragies en proportion du nombre de selles, score de Harvey-Bradshaw)
- survenue d'évènements intercurrents (poussée, abcès, complications de la maladie, effets indésirables du traitement)
- traitements spécifiques associés
- dose de corticothérapie (en milligrammes)

- Des données paracliniques
  - taux de CRP (en mg/L)
  - lymphocytes (en nombre par mm3)
  - volume globulaire moyen (en µ3)
  - taux d'ALAT(en UI/L)
  - taux de 6-TGN et de 6-MMP lors de la 1ère consultation après introduction, ainsi que lors des consultations suivantes si le dosage avait été réalisé.
- Les actions thérapeutiques entreprises (changement de dose ou arrêt des thiopurines, changement de traitement de fond ou chirurgie) et leur motif.

1.1.2 Données spécifiques à chaque MICI

**Pour la MC*

Pour le staging initial de la MC, nous avons utilisé la Classification de MONTREAL (65) (ANNEXE 4) afin de préciser le phénotype de chaque malade au début du traitement. Nous avons également recherché une atteinte ano-périnéale sans toutefois utiliser de classification particulière.

Pour l'évaluation de l'activité de la maladie lors de la consultation initiale et lors des consultations de suivi, nous avons recueilli dans les dossiers le score de HARVEY-BRADSHAW (HB) et si celui-ci n'était pas mentionné, nous l'avons calculé rétrospectivement à partir des données présentes dans le dossier médical.

**Pour la RCH*

Pour le staging initial nous avons déterminé le phénotype des malades en fonction de l'extension de la maladie :

- extension rectale pure
- extension jusqu'à l'angle colique gauche
- extension au-delà de l'angle colique gauche.

Pour les consultations de suivi, nous avons recueilli les données cliniques d'évaluation de l'activité de la RCH (le nombre de selles quotidiennes, ainsi que la proportion de selles sanglantes).

2.Méthodes

2.1 Prescription des thiopurines

Avant la mise en route du traitement, tous les patients du groupe principal de l'étude ont eu un test génétique à la recherche d'une mutation inhibitrice de la TPMT. Ce test a été réalisé par le laboratoire de Pharmacogénétique du CHU de Poitiers.

Les indications du traitement par thiopurines étaient les suivantes :

- corticodépendance ou corticorésistance
- au décours d'une poussée de colite aiguë grave (RCH)
- en prévention de la récidive post opératoire (MC)
- en traitement de fond de la récidive post opératoire (MC).

La dose prescrite était de 2 à 2,5mg/kilogramme de poids pour l'AZA et de 1 à 1,5 mg/kg pour la 6-MP, ce qui correspond aux doses recommandées dans la prise en charge des MICI. En cas de mutation hétérozygote de la TPMT, la dose de départ était réduite par rapport aux doses ci-dessus.

2.2 Dosage des métabolites des thiopurines

Le dosage des métabolites est effectué par le Laboratoire de Toxicologie et de Pharmacologie du CHU de Poitiers. Il se fait à partir d'un prélèvement de sang total qui est

échantillonné et conservé à -20°C. Après déprotéinisation et centrifugation, le surnageant est chauffé afin de séparer les bases puriques puis analysé par méthode chromatographique. Les résultats sont exprimés en picomoles pour 200 microlitres de sang (pmol/200 µL) et/ou en concentration érythrocytaire (pmol/8.10^8 GR).

Trois contrôles internes de 6TGN et 6MMP sont fabriqués au laboratoire et conservés à -80° (Un contrôle bas à 50/500 pmol/200µL de 6TG/6MMP, un contrôle moyen à 300/3000 pmol/200µL et un contrôle haut à 800/8000 pmol/200µL)

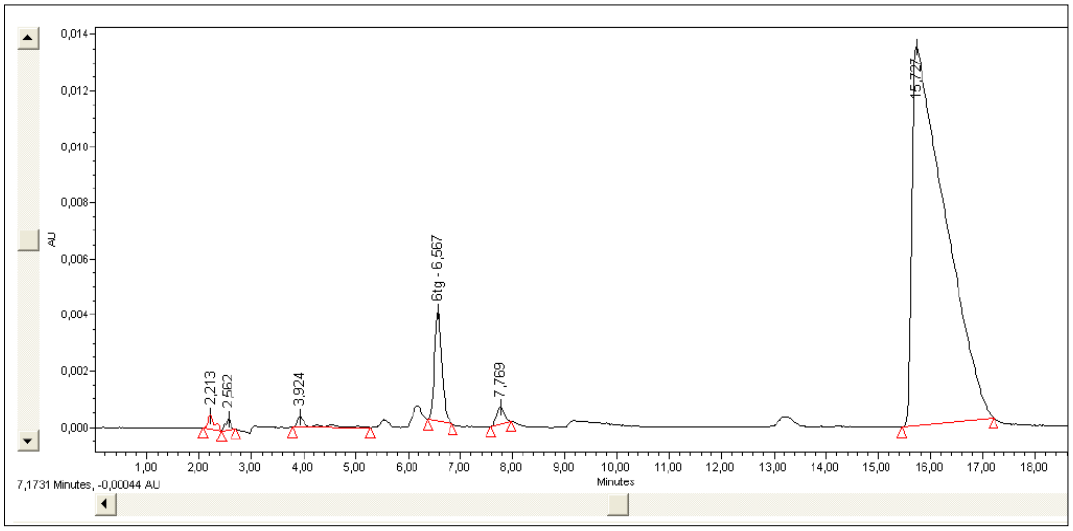

FIGURE 11 : CHROMATOGRAMME.
Le 1er pic correspond au taux de 6-TGN et le 2e au taux de 6-MMP

2.3 Evaluation de la réponse

L'évaluation de la réponse au traitement a été faite par le clinicien. Les résultats ont été analysés à partir des données contenues dans les courriers médicaux.

Les patients ont été considérés en rémission complète (RC) :

- Pour la MC : si le score de HB était inférieur ou égal à 4 pour la MC
- Pour la RCH : si le nombre de selles quotidiennes était inférieur ou égal à 3, sans rectorragie
- Et si la dose de corticothérapie prise était nulle (pour les 2 pathologies)

Ils ont été considérés en Rémission Partielle (RP) :

- En cas de diminution des symptômes
- et de diminution de la dose de corticothérapie

Ils ont été considérés en échec thérapeutique (ECHEC)

- en cas de suspension du traitement par AZA de la 6-MP
- en cas de changement thérapeutique (introduction de biothérapies ou chirurgie)
- en cas de persistance d'une corticothérapie supérieure ou égale à 40mg/j
- en cas de survenue d'une complication grave (abcès, fistule, colite aiguë grave)

2.4 Adaptation du traitement

Avant l'usage systématique du dosage des métabolites, le traitement était adapté en fonction des paramètres suivants :

- La réponse clinique
- La tolérance clinique
- La tolérance biologique : présence d'une leuco ou d'une lymphopénie, d'une cytolyse hépatique
- L'existence d'un traitement de fond associé (essentiellement un anti-TNF)

A partir de Juin 2010, les praticiens prenaient en compte en plus des paramètres sus-cités, les résultats du dosage des 6-TGN et des 6-MMP.

2.5 Analyse statistique

Les variables quantitatives sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type pour les variables à distribution normale, ou sous forme de médiane (1er quartile – 3e quartile) pour les autres. Les variables qualitatives sont présentées sous forme de nombre (pourcentage).

Les comparaisons entre les variables quantitatives ont été réalisées à l'aide des tests de Student ou d'Anova lorsque les variables étaient normales, ou à l'aide du test de Wilcoxon pour les autres. Les comparaisons entre les variables qualitatives ont été réalisées à l'aide des tests de Chi2 ou de Fisher Exact lorsque les effectifs théoriques étaient inférieurs à 5. Tous les tests ont été effectués avec une p value à 0,05.

RESULTATS

1. Caractéristiques de la population

1.1 Caractéristiques cliniques des patients à l'inclusion

Soixante-un patients ont été inclus dans la population des patients ayant eu le dosage systématique des métabolites des thiopurines (groupe étude).

Cinquante-huit patients ont été inclus dans la population témoin, n'ayant pas eu un dosage systématique (groupe contrôle).

Les tableaux 2 et 3 rapportent les principales caractéristiques des 2 populations sur les critères de comparaison initiale.

TABLEAU 2 : CARACTERISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE RECTOCOLITE HEMORRAGIQUE

Variables	Tous n = 44	Groupe étude n = 23	Groupe contrôle n = 21	p
Sexe				0,21
Hommes	25 (57%)	11(48%)	14 (67%)	
Femmes	19 (43%)	12(52%)	7 (33%)	
Age (années)		39,7 ±14,8	44,5 ± 16,8	0,32
tabagisme actif n (%)	8 (19%)	4 (17%)	4 (19%)	0,84
Localisation				0,69
Rectale	5 (12%)	3 (13%)	2 (10%)	
Colique gauche	16 (36%)	7 (30%)	9 (43%)	
Pancolique	23 (52%)	13(57%)	10 (47%)	
ATCD de colite aiguë grave	16 (36%)	8 (34%)	8 (38%)	0,72

TABLEAU 3 : CARACTERISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE MALADIE DE CROHN

Variables	Tous n=75	Groupe étude n = 38	Groupe contrôle n = 37	p
Sexe				0,21
Hommes	29 (39%)	15 (39%)	14 (38%)	
Femmes	46 (61%)	23 (61%)	23 (26%)	
Age (années)	35,7 ± 14,2	34,6± 14,5	36,9 ± 15,3	0,73
tabagisme actif n (%)	26 (35%)	12 (32%)	14 (38%)	0,31
Localisation				0,65
L1 (iléale)	25 (33%)	13 (34%)	12 (32%)	
L2 (colique)	10 (13%)	4 (11%)	6 (16%)	
L3 (iléo-colique)	38 (51%)	19 (50%)	19 (51%)	
L4 (digestif sup)	2 (3%)	2 (5%)	0 (0%)	
Age au diagnostic				1,00
A1 (<17 ans)	15 (20%)	8 (21%)	7 (19%)	
A2 (17 à 40 ans)	56 (74%)	28 (74%)	28 (76%)	
A3 (> 40ans)	4 (6%)	2 (5%)	2 (5%)	
Behavior				0,99
B1 (inflammatoire)	43 (57%)	22 (58%)	21 (57%)	
B2 (sténosant)	14 (19%)	7 (18%)	7 (19%)	
B3 (perforant)	18 (24%)	9 (24%)	9 (24%)	
Atteinte ano-périnéale n(%)	18 (24%)	11 (29%)	7 (19%)	0,4

1.2 Traitements reçus par les patients

L'ensemble des traitements reçus par les patients est résumé dans le Tableau 4, qu'il s'agisse des traitements antérieurs ou des traitements donnés en même temps que les thiopurines. Pour ce dernier paramètre, seuls les traitements de fond ont été pris en compte (exclusion des corticoïdes et du budésonide).

Trois patients recevaient de la 6-mercaptopurine et 58 patients de l'azathioprine. L'introduction du traitement par AZA ou 6-MP avait eu lieu en moyenne 1640 ± 2227 jours après le diagnostic dans le groupe étude et de 1450 ± 2551 jours dans le groupe contrôle.

La dose médiane de corticoïdes à l'initiation du traitement était de 10 mg (6 - 40) dans le groupe étude et de 29,5 mg (9 - 40) dans le groupe contrôle, significativement plus élevée dans ce dernier groupe (p = 0,02).

TABLEAU 4 : TRAITEMENTS REÇUS PAR LES PATIENTS A L'INITIATION DU TRAITEMENT PAR THIOPURINES

	Groupe étude n = 61	**Groupe contrôle n = 58**
Traitements de fond reçus avant AZA/6-MP		
5-aminosalicylés	30 (49%)	36 (62%)
AZA	12 (20%)	8 (14%)
Chirurgie	9 (15%)	9 (16%)
Anti TNF alpha	12 (20%)	0 (0%)
Autres (ciclosporine, Méthotrexate, Modulen...)	8 (13%)	1 (2%)
Aucun	18 (29%)	2 (3%)
Mutation TPMT		
Non	58 (95%)	**Non recherchée**
Hétérozygote (déficit partiel)	3 (5%)	
Dose moyenne d'AZA (milligrames)	**121 ± 34,2**	**119 ± 26,1**
Motif de début du traitement		
Gravité	18 (29%)	26 (49%)
Corticodépendance	28 (46%)	25 (43%)
Corticorésistance	9 (15%)	2 (3%)
Post-opératoire	6 (9%)	5 (9%)
Corticothérapie	**47 (77,0%)**	**48 (82,8%)**
Dose médiane à l'initiation (mg) *	10±19,6	29,5±21,6
Autres traitements concomitants à l'AZA/6-MP		
Anti TNF alpha	7 (11%)	2 (3%)
Ciclosporine	4 (7%)	2 (3%)
5-aminosalicylés	13 (21%)	18 (31%)
Aucun	41 (67%)	18 (31%)

AZA : azathioprine. 6-MP : 6-mercaptopurine ; TPMT : thiopurine méthyltransférase ; *p =0,02.

1.3 Paramètres d'évaluation de la maladie à l'initiation du traitement

Pour les patients atteints de MC, le score moyen de HB était de 7 ± 4,23 chez les patients MC du groupe étude, et de 6 ± 3,06 chez les patients MC du groupe 2.

Pour les patients atteints de RCH, le nombre moyen de selles quotidien était de 6 ± 3,32 pour le groupe étude. Il était de 7,7 selles/jour ± 3,97dans le groupe contrôle.

Nous avons retrouvé le taux de CRP à l'initiation du traitement chez 54 patients du groupe étude et 52 patients du groupe contrôle : le taux moyen était de 26mg/L ± 35 pour le groupe étude et de 40mg/L ± 44,3 pour le groupe contrôle. Ils ne sont pas significativement différents (p = 0,06).

Le VGM, le taux d'ASAT et de lymphocytes à l'initiation du traitement n'ont été recueillis que dans le groupe étude. Le VGM était en moyenne de 85,1 µ3 ± 6,1 chez les 49 patients pour lesquels cette donnée a été retrouvée.

2. Réponse clinique et biologique

2.1 Réponse clinique à la 2e visite (V2)

Cinquante-quatre patients (88,5%) du groupe étude étaient en rémission clinique complète ou partielle lors de la V2, ainsi que 47 patients (89,6%) du groupe contrôle. Le tableau 5 détaille les résultats de la réponse clinique à V2. Il n'y avait pas de différence entre les deux groupes.

TABLEAU 5 : REPONSE CLINIQUE DANS LES 2 GROUPES LORS DE LA 2E VISITE.

	Groupe étude n = 61	**Groupe contrôle N = 58**	**p**
Délai médian par rapport à l'introduction du traitement (jours)	65 (58-81)	64 (54-84)	
Etat clinique à V2			**0,11**
réponse complète,	24 (39,3%)	17 (29,3%)	
réponse partielle	30 (49,2%)	35 (60,3%)	
échec	7 (11,5%)	6(10,4%)	
Dose médiane de corticoïdes (mg)	**0 (0 – 10)**	**9,5 (0 - 10)**	**0,12**
Patients sans corticoïdes à V2	32 (52,5%)	21 (36,2%)	0,07

Le tableau 6 reprend les résultats du groupe étude et compare les différents sous-groupes de réponse en fonction des paramètres biologiques et de la dose de corticothérapie.

TABLEAU 6: DONNEES DES PATIENTS DU GROUPE ETUDE EN FONCTION DE LA REPONSE CLINIQUE A V2.

	Tous n = 61	RC n = 24	RP n = 30	ECHEC n = 7	p
Dose médiane de corticoïdes (mg)	7 ± 12	0	9 ± 10	20 ± 19	<0.0001
lymphocytes (nb/mm3)	1801 ± 923	1882 ± 908	1735 ± 858	1817 ± 1322	0.87
VGM (µ3)	89 ± 7	88 ± 6	89 ± 7	89 ± 8	0.81
ALAT (UI/L)	22 ± 20	20 ± 12	24 ± 24	23 ± 15	
CRP (mg/L)	9 ± 15	6 ± 14	8 ± 16	16 ± 14	0.13

RC=réponse complète, RP=réponse partielle. Les chiffres sont exprimés en moyenne ± écart-type.

2.2 Dosage des dérivés des thiopurines

Il n'y avait pas de différence significative du taux de 6-TGN ou de 6-MMP en fonction de la réponse clinique (p = 0,87). Les taux médians de 6-TGN et de 6-MMP étaient respectivement de 253 pmol/8.10^8 GR (175 - 455) et de 1732 pmol/8.10^8 GR (660 - 4493). Ces résultats sont rapportés dans le tableau 6. Un patient du sous-groupe échec avait des taux de 6-TGN et de 6-MMP inférieurs aux seuils de détection, ce qui signifie qu'il n'avait probablement pas pris le traitement ; quatre patients du même sous-groupe avaient des taux de 6-TGN supérieurs à 230 pmol/8.10^8 GR.

TABLEAU 7: TAUX DE 6-TGN ET DE 6-MMP EN FONCTION DE LA REPONSE CLINIQUE A V2.

	Tous n = 61	RC n = 24	RP n = 30	ECHEC n = 7	p
6-TGN (pmol/8,10^8 GR)	313 ± 215	284 ± 165	344 ± 257	278 ± 170	0.87
6-MMP (pmol/8,10^8 GR)	2814 ± 2868	3025 ± 3370	2902 ± 2458	1712 ± 2391	0.55

RC=réponse complète, RP=réponse partielle

Les figures 12 et 13 représentent la répartition des taux de 6-TGN dans les sous-groupes de patients répondeurs complets et partiels.

** Parmi les patients en rémission complète :*

- un patient avec un taux de 6-TGN > 600 pmol/8.10^8 GR : diminution de dose
- treize patients dont le taux était entre 230 et 600 pmol/8.10^8 GR : 2 patients ont eu une diminution de dose
- dix patients dont le taux était < 230 pmol/8.10^8 GR : 3 ont eu une modification de dose dont 1 pour 6-MMP > 14 000.

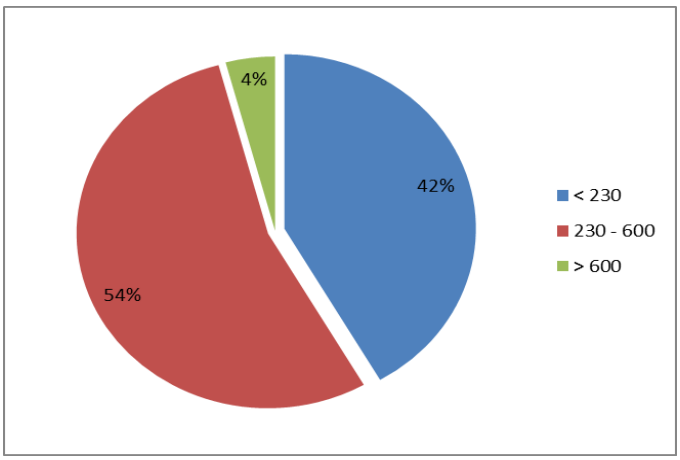

FIGURE 12: **REPARTITION DES TAUX DE 6-TGN (EN PMOL/8.10^8 GR) CHEZ LES PATIENTS EN REMISSION COMPLETE**

**Parmi les patients en rémission partielle :*

- cinq avaient des taux de 6-TGN supérieurs à 600 pmol/8.10^8 GR : 4 d'entre eux ont eu une diminution de dose
- douze avaient des taux inférieurs à 230 pmol/8.10^8 GR : il y a eu augmentation de dose chez 5 patients et introduction d'allopurinol chez 2 patients
- treize avaient des taux entre 230 et 600 pmol/8.10^8 GR : il y a eu 2 augmentations de dose, 1 diminution de dose (pour lymphopénie) et 1 introduction d'allopurinol

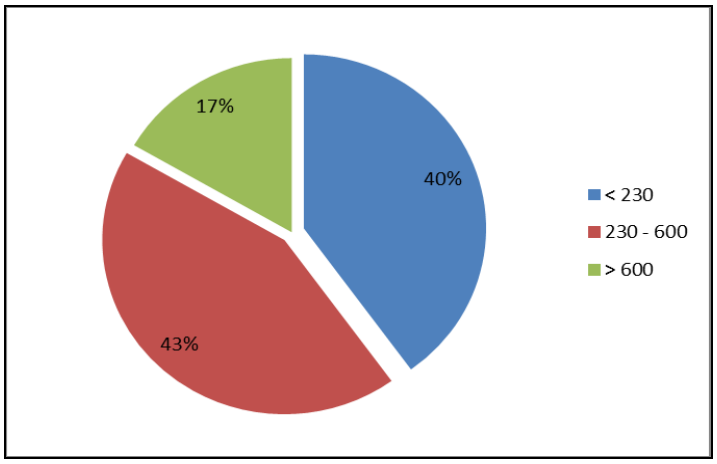

FIGURE 13: **REPARTITION DES TAUX DE 6-TGN (EN PMOL/8.108 GR) CHEZ LES PATIENTS EN REMISSION PARTIELLE**

**Parmi les patients en échec à V2 :*

- Un avait des taux indétectables de 6 TGN et de 6-MMP témoins de son inobservance thérapeutique

- deux avaient des taux < 230 pmol/8.10^8 GR : ils ont eu une augmentation isolée de dose pour l'un, et associée à l'introduction un anti-TNF pour l'autre
- quatre avaient des taux > 230 pmol/8.10^8 GR : 3 d'entre eux ont eu une introduction d'anti-TNF.

2.3 Modifications thérapeutiques

Dans le groupe étude, 25 patients (42,6%) ont eu une modification de leur traitement à la suite de la 2e visite, dont 23 modifications de dose de thiopurines et 2 changements ou introduction de biothérapies. Dans le groupe contrôle, 22 patients (37,9%) ont eu une modification de dose à la suite de la 2e visite. Il n'y avait pas de différence entre les 2 groupes concernant le pourcentage de modifications thérapeutiques (p = 0,8) mais on remarquait que le nombre de diminutions de dose était plus élevé dans le groupe étude par rapport au groupe contrôle. Le détail de ces modifications est rapporté dans le tableau 8.

TABLEAU 8 : MODIFICATIONS THERAPEUTIQUES EFFECTUEES A L'ISSUE DE LA 2E VISITE DANS LES 2 GROUPES

Modification thérapeutique	Groupe étude n = 61	Groupe contrôle N = 58
Augmentation de dose	9 (14,8%)	12 (20,7%)
Diminution de dose	9 (14,8%)	5 (8,6%)
Introduction/ modification des anti-TNF	4 (6,6%)	2 (3,4%)
Autres	3 (4,9%)	3 (5,2%)
Arrêt du traitement	0	1
Switch AZA vers 6-MP	0	1
Chirurgie	0	1
Introduction d'allopurinol	3 (4,9%)	0
Aucun changement	35 (57,3%)	36 (62,1%)

2.4 Réponse clinique lors de la 3e visite (v3)

Quatre patients étaient perdus de vue après la 2e visite dans le groupe étude et dans le groupe contrôle. Les taux de réponse clinique sur les patients restants sont résumés dans le tableau 9. Aucune différence statistique n'a été retrouvée entre les 2 groupes, avec un p value proche de la significativité. Il n'y avait pas non plus de différence concernant le délai de la 3e visite. Le nombre de modifications thérapeutiques était nettement plus bas dans le groupe étude, mais cette différence n'était pas statistiquement significative.

TABLEAU 9 : REPONSE CLINIQUE A LA 3E VISITE ET DELAI MOYEN DE LA 3E VISITE.

	Groupe étude n = 56	Groupe contrôle n = 54	TOTAL N = 110	p
Réponse clinique				**0,11**
Echec	13 (23,2%)	20 (37,1%)	33 (30,0%)	
Réponse (partielle et complète)	43 (76,8%)	34 (62,9%)	77 (70,0%)	
Délai moyen (jours)	**239.6 ± 93.9**	**266.3 ± 187.8**	**252,6**	**0,96**
Modifications thérapeutiques	20 (35,7%)	27 (50%)	47 (42,3%)	0,12

**Devenir des patients traités par thiopurines en monothérapie.*

Cette catégorie regroupait 54 patients dans le groupe étude et 56 patients dans le groupe contrôle. Une biothérapie par infliximab ou adalimumab avait été introduite chez 10 (18,5%) patients du groupe étude et 13 (23,2%) patients du groupe contrôle et le délai moyen de ce changement de thérapeutique semblait être plus faible dans le groupe 1 par rapport au groupe 2 : 161 ± 61 jours contre 312 ± 296 jours, proche de la significativité (p=0,09).

**Devenir des patients du groupe 1 ayant eu une modification thérapeutique lors de la V2 (26 patients) :*

- 7 (26.9%) étaient en échec clinique à V3
- 18 (69.2%) étaient répondeurs à V3
- 1 (3.9%) patient était décédé (des suites d'une chirurgie cardiologique)

3. Paramètres biologiques

3.1 Evolution dans le temps

Pour les statistiques sur les paramètres biologiques, seuls les patients de la population principale (groupe 1) ont été étudiés, soit 61 patients. L'évolution à V1, V2 et V3 de chacun des 3 paramètres biologiques étudiés est résumée dans les Figures 1, 2 et 3 ci-dessous.

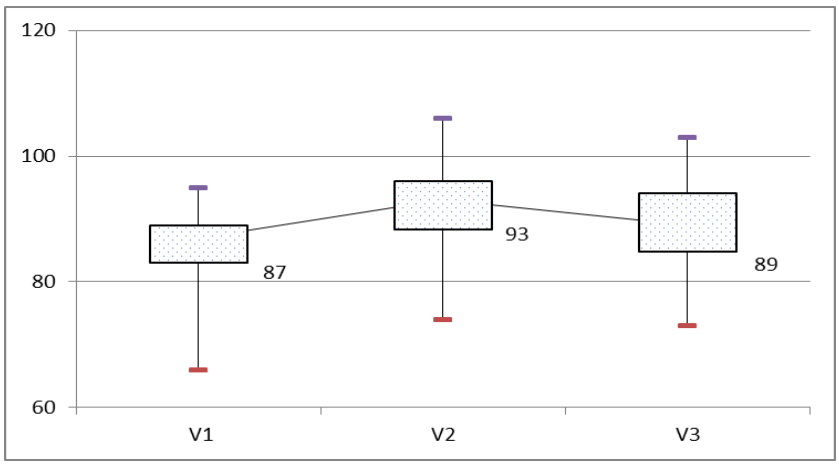

FIGURE 14 : EVOLUTION DU VOLUME GLOBULAIRE MOYEN (EN FEMTOLITRES) EN FONCTION DU TEMPS

Le VGM augmentait significativement entre V1 et V2, puis diminuait légèrement à V3, tout en restant supérieur à la valeur de V1 (cf. figure 14).

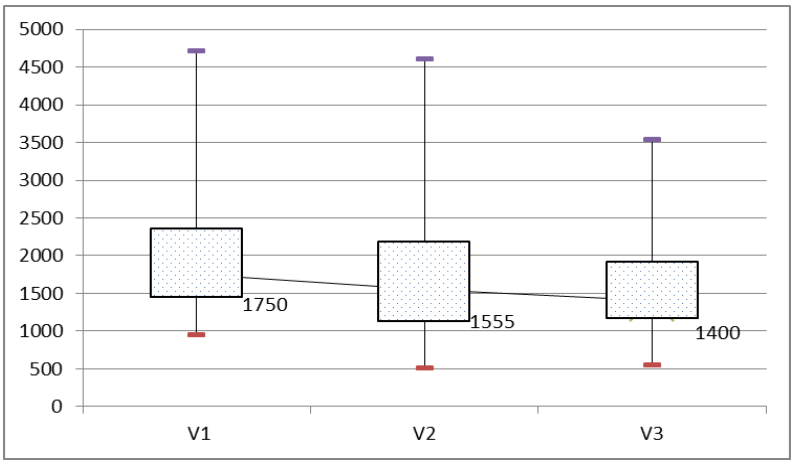

FIGURE 15: EVOLUTION DU TAUX DE LYMPHOCYTES (EN NOMBRE/MM3) EN FONCTION DU TEMPS.

On notait une lymphopénie progressive au fil des visites (cf. figure 15). Il n'y avait aucun patient atteint de lymphopénie sévère (< 500 éléments/mm3).

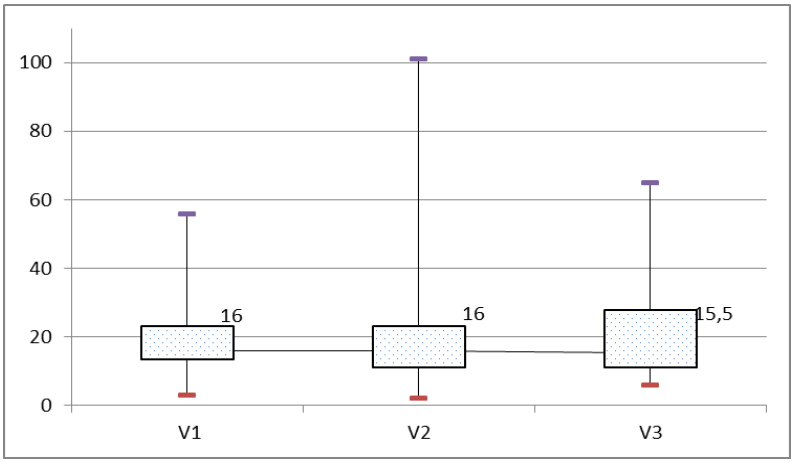

FIGURE 16 : EVOLUTION DU TAUX D'ALAT (EN UI/L) EN FONCTION DU TEMPS

Le taux d'ALAT ne s'était pas modifié au fil des visites (cf. figure 16). 1 seul patient avait eu un épisode de cytolyse à 101 UI/L, avec des taux de 6-MMP à 6200 pmol/8.10^8 GR. Lors du dosage suivant, après une diminution transitoire, ces taux étaient revenus inférieurs à la limite de détection. Deux autres patients ont eu un décalage de l'ALAT, l'un de gravité indéterminée lors du 4e mois de suivi, mais ayant conduit à une diminution transitoire de sa dose d'azathioprine et l'autre au cours du 6e mois (inférieur à 1,5 fois la normale).

3.2 Corrélation entre paramètres biologiques et dérivés métaboliques.

Premièrement, nous avons étudié la corrélation entre le VGM, le taux de lymphocytes, d'ALAT d'une part, et les taux de 6-TGN et de 6-MMP d'autre part.

Chez les 56 patients qui avaient des données, Il n'y avait pas de corrélation entre le VGM à V2 et les taux de 6TGN et de 6-MMP (p value = 0,92 et 0,98). Il n'y avait pas non plus de corrélation entre le delta de VGM (différence entre le VGM à V2 et le VGM à V1) et les taux de métabolites.

En ce qui concernait les lymphocytes (60 patients) : Il n'y avait pas de corrélation entre le taux de lymphocytes et les 6-TGN, avec cependant une p value à la limite de la significativité (p = 0,07). Il y avait une corrélation positive entre le taux de lymphocytes et le taux de 6-MMP (coefficient de Pearson = 0,2 IC 95% [0,02 ; 0,49] ; p = 0,03).

En ce qui concernait le delta des lymphocytes (taux de lymphocytes à V2- taux de lymphocytes à V1 = 43 patients) : Il y avait une corrélation négative entre le delta de lymphocytes et le taux de 6-TGN (coefficient de Pearson : - 0,40 IC 95% [-0,63 ; -0,12] ; p = 0,007). Cette corrélation n'a pas été retrouvée entre le delta de lymphocytes et le taux de 6-MMP (p = 0,14).

En ce qui concernait les taux d'ALAT, pour le 52 patients dont nous disposions des données, aucune corrélation n'avait été retrouvée entre ces derniers et le taux de 6-TGN (Coefficient de Pearson: -0,25 IC 95% [-0.48 ; 0.025]; p=0,07). IL n'y avait pas non plus de corrélation entre les taux d'ALAT et les 6-MMP (Coefficient de Pearson: 0,21 IC 95% [-0.06 ; 0.46] ; p=0.12).

4. Evènements indésirables

Des évènements indésirables notables avaient été rapportés chez 19 (31%) des 61 patients de notre groupe étude. Ils sont détaillés dans le tableau 10 ci-dessous. Tous les évènements ont été reportés, bien qu'ils ne soient pas tous systématiquement imputables à la prise de thiopurines. Un des patients a été opéré d'une valvulopathie cardiaque durant son traitement par AZA ; il est décédé dans les suites, après avoir eu plusieurs complications post-opératoires, dont une pneumopathie infectieuse. Son traitement par AZA avait été maintenu durant cette période.

TABLEAU 10: EVENEMENTS INDESIRABLES DURANT LE TRAITEMENT PAR THIOPURINES

Infectieux (n=3)	hépatite à Varicelle Zona Virus primo infection Ebstein Barr Virus Abcès cérébraux à haemophilus *
Immuno allergiques(n = 4)	pancréatite aigue allergies aux 2 anti-TNF sous AZA (2) arthralgies
Hépatiques (n=3)	cytolyse
Digestives (n=3)	douleurs abdominales
Autres (n=5)	Exérèse carcinome basocellulaire** alopécie asthénie éruptions diverses (2)
Décès (n=1)	Dans les suites d'une chirurgie valvulaire cardiaque

* à 5 mois du début due l'azathioprine ; **à 4 mois du début de l'azathioprine, imputabilité faible

DISCUSSION

Principaux résultats

Efficacité

L'intérêt du dosage des métabolites des thiopurines est démontré depuis plusieurs années, dans les MICI ou dans d'autres pathologies inflammatoires.

Notre étude avait pour but d'évaluer l'impact clinique et biologique d'un dosage systématique des métabolites chez des patients traités par azathioprine ou 6-mercaptopurine. Aucune différence statistique n'a été mise en évidence sur le taux de rémission à 6 mois, le délai de changement thérapeutique et le nombre de modifications thérapeutiques entre le groupe dosé systématiquement et le groupe contrôle. Ces résultats semblent conformes à ceux de Dassopoulos publiés dans Gastroenterology en 2009 (66) Il avait mené une étude prospective randomisée qui évaluait 2 stratégies d'administration d'AZA, l'une standard (dose fixe basée sur le poids) et l'autre adaptée au dosage des 6-TGN (recherche d'un taux cible de 6-TGN compris entre 250 et 400 pmol/8.10^8 GR) . Les résultats concluant à une absence de supériorité d'une stratégie sur l'autre est à tempérer par la faiblesse de ses effectifs (n = 20 patients) et par son arrêt prématuré dû au manque d'inclusions. Une 2e étude avec un design similaire, celle de Reinshagen en 2007, malgré un nombre plus important de patients (n = 71) , ne retrouvait pas non plus de différence entre une stratégie basée sur le dosage des 6-TGN et une stratégie standard (même taux cible de 6-TGN) (67). Le critère de jugement principal dans les études sur le sujet a été principalement le taux de rémission sans corticoïdes à 16, 24 ou 42 semaines.

Dans notre travail, au-delà de la proportion de rémissions cliniques, nous avons également essayé de mettre en évidence une différence dans les délais et dans la proportion de changements thérapeutiques. Ces deux items n'étaient pas statistiquement différents entre le groupe principal et le groupe contrôle. Nous avons toutefois noté une tendance à une intensification plus précoce des traitements chez les patients ayant débuté en monothérapie, puisque le délai moyen de changement thérapeutique était près de deux fois plus court dans le groupe dosé (161 jours) par rapport au groupe non dosé (312 jours),

résultat qui était à la limite de la significativité. . Le faible nombre de patients ayant eu une intensification thérapeutique (moins d'un quart des patients de chaque groupe) a très certainement eu un impact négatif sur les tests statistiques. A notre connaissance, aucune étude récente sur le sujet n'a confirmé cette tendance.

Nous avons noté qu'un nombre important de patients se situait en dessous des seuils de 6-TGN optimaux. Ainsi, près de 42% des patients en rémission clinique complète lors de la 2e visite avaient des taux de 6-TGN inférieurs à 230 pmol/8.10^{8} GR contre 54% de patients qui étaient en zone thérapeutique optimale. Dans la méta analyse d'Osterman (64) regroupant plusieurs études ayant mis en évidence un seuil optimal de 6-TGN, la proportion de patients en rémission clinique se situant en dessous de ce seuil optimal de 6-TGN variait entre 18 et 65%. . Ce résultat n'est pas très étonnant, car tout comme un seuil optimal de 6-TGN ne garantit pas une rémission clinique, un seuil bas n'est pas systématiquement associé à un échec thérapeutique. La rémission clinique n'est probablement pas uniquement liée aux simples taux de 6-TGN et/ou de 6-MMP, ni au métabolisme intrinsèque.

Les taux de réponse à l'azathioprine dans nos populations sont élevés, à environ 70% à 8 mois. Ces taux sont comparables à ceux retrouvés dans le travail de Roblin sur les 6-TGN (12) où le taux de rémission avoisinait les 72% à 6 mois. Ces taux semblent supérieurs à ceux habituellement rencontrés dans la littérature. Une des explications à cela est le choix de la simple rémission clinique sans corticothérapie comme critère principal. Dans les études aux critères de jugement plus stricts (incluant une rémission endoscopique et / ou biologique), les taux de rémission varient entre 30 et 40%. Cette différence peut s'expliquer par un biais de recrutement intrinsèque à notre travail. Dans les critères d'inclusion, les patients devaient avoir pris le traitement pendant au moins 6 semaines pour avoir le dosage, ce qui excluait les patients qui arrêtaient précocement le traitement pour intolérance. De plus, la recherche systématique des mutations de la TPMT ainsi que l'adaptation des doses en cas d'hétérozygotie excluaient également les patients pouvant avoir une toxicité précoce liée aux thiopurines. Ce biais explique également le faible nombre d'effets secondaires rapportés.

Tolérance

En ce qui concerne les paramètres biologiques, nous avons retrouvé une corrélation uniquement entre le taux de 6-TGN et le taux de lymphocytes. Les différentes études sur le

sujet ont eu des réponses controversées, mais il est communément admis que le traitement par AZA et/ou 6-MP entraîne une leucopénie et une lymphopénie, dont les mécanismes sont expliqués plus haut (cf. chapitre 4.4) mais la corrélation entre la profondeur de celle-ci et les taux de 6-TGN ou 6-MMP reste floue. Aucune étude hormis celle de Dubinsky n'a réussi à mettre en évidence un seuil formel de 6-TGN conduisant systématiquement à une leucopénie. Dans son travail, le seuil conduisant à une augmentation significative de la leucopénie était de 450 pmol/8.10^8 GR, mais incluait des patients ayant reçu une pleine dose de thiopurine malgré un statut hétérozygote vis-à-vis du gène de la TPMT. Nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre le taux de 6-MMP et la variation des transaminases. Cela n'est pas surprenant étant donné la rareté de l'hépato toxicité et le faible nombre d'effectifs analysables dans notre travail. Dans cette même étude de Dubinsky, il avait été retrouvé un seuil de 6-MMP de 5700 pmol/8.10^8 GR au-dessus duquel la proportion d'anomalies hépatiques augmentait fortement. Ce seuil n'a pas été retrouvé dans les études qui ont suivi, notamment dans celle de Goldenberg dans laquelle aucune toxicité hépatique n'a été mise en évidence chez les 12% de patients au-dessus de ce seuil (68). En définitive, peu d'études ont montré une corrélation forte et indiscutable entre ces paramètres. Il est toutefois certain que les 6-MMMP jouent un rôle important dans la toxicité hépatique. Cependant, au vu de sa prévalence lors de la prise de thiopurines, seule une étude incluant plusieurs centaines de patients pourrait apporter une réponse définitive quant au seuil minimal.

Tous les évènements indésirables que nous avons rapportés dans ce travail n'ont pas pour seule étiologie la prise d'AZA. Mais nous n'avons rapporté que ceux qui nous paraissaient imputables (partiellement ou complètement) à l'AZA. Peu d'entre eux ont conduit à un arrêt du traitement : la pancréatite aiguë et la survenue d'une hypertension portale. En ce qui concerne cette dernière, l'imputabilité de l'AZA était faible, étant donné que la patiente présentait plusieurs autres facteurs de risque (surpoids, prise d'anti androgènes, maladie auto-immune). Néanmoins, le traitement par AZA avait été interrompu lors du diagnostic.

Méthodologie

La population de notre travail comportait un nombre homogène de malades, avec un suivi dans un unique centre expert. Le suivi a été réalisé en majorité par le même médecin. Le ratio habituel de deux MC pour une RCH était respecté dans notre population, de même

que le sex ratio et l'âge médian. Nous avons inclus les patients à partir du de la date à laquelle le dosage des thiopurines a été disponible dans notre centre. Nous avons choisi les patients qui étaient dosés autour de la 8e semaine après l'introduction car il s'agissait du délai habituel de la 2e consultation après introduction du traitement. Ce délai permet d'obtenir une décroissance progressive de l'éventuelle corticothérapie instituée lors de la poussée, d'être à distance de l'éventuelle prise en charge chirurgicale en cas d'initiation post-opératoire, de passer la phase des effets secondaires mineurs de l'introduction du traitement et enfin d'analyser les premiers résultats après équilibre thérapeutique (atteint en moyenne après 4 semaines d'administration).

Il n'a pas été facile de définir le choix de notre population contrôle. Afin d'éviter les biais de sélection, nous avons sélectionné les patients de manière consécutive et rétrograde, partant de la date de 1ère consultation et/ou hospitalisation à partir de Mai 2010 et dans les trois ans précédents. Nous avons pris le parti d'utiliser la comparaison avec un groupe historique plutôt que l'appariement, car cette dernière méthode nécessitait un recrutement sur une période beaucoup plus large que trois ans, et exposait ainsi à de plus grandes variations dans les modalités de prise en charge thérapeutique. Les inclusions ont été stoppées dès l'obtention d'un groupe contrôle comparable à notre population principale sur les critères préalablement définis. Nous nous sommes focalisés sur la première année de suivi de ces patients, comme pour notre population principale. Comme mentionné dans la section « Résultats », les groupes étaient comparables à l'inclusion sur la répartition des différents groupes phénotypiques.

Le postulat de départ de notre travail a été l'homogéinéité de la prise en charge des patients mis sous thiopurines au fil du temps, entre autres du fait du nombre restreint de médecins s'occupant des MICI dans notre centre. Cela est corroboré par des doses d'azathioprine similaires dans les deux groupes à l'initiation du traitement. Les patients ont été managés selon la stratégie de « Step-up » rapide, c'est-à-dire une escalade thérapeutique au bout de 3 à 5 mois d'inefficacité des thiopurines. Celle-ci est actuellement encore utilisée dans notre centre et dans de nombreux autres.

La modification la plus importante de stratégie thérapeutique peut se voir dans l'usage des anti-TNF qui était plus important dans la population principale que dans le groupe contrôle. Cela peut s'expliquer par le mode de recrutement différent des 2 populations. Les patients

du groupe étude avaient reçu plus de traitements antérieurs, et plus d'immunosuppresseurs (thiopurines, Méthotrexate ou ciclosporine) que les patients du groupe 2. Cela corrobore l'ensemble des études sur l'évolution de la prise en charge des MICI, qui va dans le sens de l'accroissement de l'utilisation des biothérapies. Environ 10% des patients sous du groupe 1 étaient sous bithérapie (biothérapie + AZA/6-MP) contre aucun patient du groupe 2. Ce paramètre semble cependant avoir peu influé sur les résultats. Cependant, la durée moyenne d'évolution de la MICI à l'introduction du traitement par thiopurines était similaire entre les deux groupes. Le choix des critères de rémission clinique pour la MC a été préalablement défini dans une précédente étude (69). Nous n'avons pas tenu compte des données endoscopiques car notre suivi était relativement court (moins d'un an) et donc il n'y avait aucune nécessité à une endoscopie systématique moins d'un an après l'introduction d'un traitement de fond, que ce soit pour la RCH ou la MC. Dans la RCH, la réponse au traitement est facilement estimable par la clinique qui est très parlante. La place de l'endoscopie dans l'évaluation de la réponse au traitement dans la MC est moins évidente que dans la RCH, notamment en raison de la lourdeur de celle-ci en cas d'atteinte iléale.

Limites

La principale limite de ce travail réside dans la faiblesse de ses effectifs que nous avons analysés, qui confère un manque de puissance à nos résultats, notamment pour ceux qui sont à la limite de la significativité. Il est évident que le caractère monocentrique de notre étude a limité le nombre d'inclusions.

Du fait du mode de recueil de données, nous nous sommes heurtés à une difficulté majeure : l'interprétation rétrospective du comportement des médecins. En effet, les modifications thérapeutiques reposaient sur de nombreux paramètres : la réponse clinique, les effets indésirables cliniques et biologiques et le taux de dérivés métaboliques si ceux-ci avaient été dosés. L'absence de modification thérapeutique en cas de taux non conformes à ceux attendus n'était pas systématiquement explicitée dans le dossier, de même que les motifs des modifications thérapeutiques (ce dernier cas de figure concernait toutefois un faible nombre de patients). La grande majorité des patients était toutefois suivie par le même médecin, et de ce fait, les variations de comportement dues à la différence de point de vue inter-observateur sont probablement négligeables.

Impact clinique

Efficacité

Au vu de nos résultats, le bénéfice du dosage systématique des 6-TGN n'apparaît pas évident. De ce fait, nos résultats sont similaires à ceux de Lowry et Belaiche (cf. chapitre 5). L'une des critiques principales que l'on pourrait faire à ces deux études négatives est que les taux médians de 6-TGN mesurés dans leurs populations étaient très inférieurs aux seuils considérés comme significatifs. Ils étaient d'environ 130pmol/8.10^8 GR dans l'étude de Lowry(62), et d'environ 180 pmol/8.10^8 GR dans celle de Belaiche (63). Dans notre travail, ces taux étaient bien plus élevés et étaient proches voire supérieurs aux seuils reconnus par les différents travaux sur le sujet (230 et 280 pmol/8.10^8 GR). Nous n'avons cependant pas trouvé de différence de taux médian de 6-TGN et de 6-MMP entre les différents sous-groupes de réponse clinique. Le faible nombre de patients en échec lors du dosage (n = 7), pourrait expliquer l'absence de significativité des tests statistiques.

Les causes de résistance ou d'échec aux thiopurines restent peu élucidées à ce jour. Parmi les hypothèses avancées, l'existence chez certains patients d'une activité élevée de la TPMT a été évoquée. Chez ces derniers, cette particularité métabolique conduit à des taux bas de 6-TGN, ce qui n'était pas le cas pour nos patients.

Une autre explication résiderait dans l'étude d'autres enzymes impliquées dans le métabolisme des thiopurines. Un travail portant sur 20 patients résistants à l'AZA sans anomalie de la TPMT a recherché des mutations de l'IMPDH (Inosine monophosphate déshydrogénase, enzyme intervenant dans la transformation de la 6-TIMP en 6-TGN). Aucune mutation du gène de l'IMPDH n'avait été trouvée, mais un patient était porteur d'une mutation sur le gène promoteur d'IMPDH qui conduisait à une forte réduction de l'activité de cette enzyme in vitro (70). Cette voie métabolique semble toutefois n'expliquer une très faible proportion des patients résistants aux thiopurines. Une autre explication aux taux globalement élevés de 6-TGN dans notre population serait l'effet de l'administration concomitante de 5-ASA, qui concernait environ 50% des patients.

Diverses études ont rapporté une augmentation des taux de 6-TGN (principalement des 6-TGDP et 6-TGTP) en rapport avec la co-administration de 5-ASA pendant le traitement par thiopurines (71) (72). Cette augmentation pouvait être associée à un sur-risque de leucopénie(62), mais aussi à une amélioration de l'efficacité(73). Le mécanisme

pharmacologique sous-jacent reste à élucider. Une inhibition de l'activité de la TPMT par les 5-ASA a été suggérée, orientant la formation de métabolites des 6 MMPR vers les 6-TGN, mais les données semblent sont contradictoires(74). Cependant, dans notre travail, seul un des patients en échec thérapeutique prenait des 5-ASA en même temps que l'AZA. Ce mécanisme ne semble pas non plus expliquer les taux de 6-TGN optimaux chez les patients en échec.

Notre travail a montré que quelle que soit la stratégie adoptée, plus d'un tiers des malades ont un changement thérapeutique au bout de 2 mois de suivi. Cependant, il existe plusieurs catégories de patients pour lesquels le dosage a été indubitablement utile:

- les patients ayant eu une introduction d'allopurinol dans le but de réorienter leur métabolisme, même en l'absence de tout signe de toxicité hépatique ou médullaire..

- les patients en rémission complète à V2 dont la dose d'azathioprine a été diminuée suite au dosage, qui étaient plus nombreux dans le groupe étude que dans le groupe contrôle. Ces diminutions avaient été mises en place pour la plupart sans signe de toxicité clinique ou biologique standard. L'un des patients avait un taux de 6-MMP supérieur à 14000 pmol/8.10^8 GR.

- le patient dont l'inobservance a été mise en évidence grâce à des taux de métabolites inférieurs aux limites de détection.

Chez ces patients, la modification thérapeutique telle qu'elle s'est faite l'a été grâce aux résultats du dosage des métabolites.

Comme cité plus haut, on a noté une tendance à une intensification plus précoce du traitement chez les patients en échec thérapeutique.

Tolérance

Un autre intérêt du dosage systématique des métabolites résiderait dans la minimisation de l'exposition d'un patient aux immunosuppresseurs, ce qui pourrait diminuer la survenue d'effets indésirables tels que les infections, la myélosuppression et la toxicité hépatique. Nous nous sommes principalement attachés à suivre l'impact des dérivés sur les paramètres biologiques hématologiques et hépatiques, et nous n'avons constaté que peu d'évènements. La double-stratégie consistant en l'adaptation d'une part de la dose initiale selon du génotypage de la TPMT et d'autre part des doses suivantes en fonction des

métabolites (diminution des doses ou réorientation métabolique via l'ajout d'allopurinol) pourrait conduire non seulement à minimiser la toxicité, mais à améliorer le rapport coût-efficacité en ce qui concerne la surveillance biologique. Celle actuellement recommandée, qui consiste en la réalisation d'une NFS et d'un bilan hépatique hebdomadaire pendant tout le premier mois, puis bimensuelle et enfin mensuelle est coûteuse et pourrait être simplifiée. Les patients suivis dans notre centre ont une surveillance bimensuelle, puis à 1 mois, et enfin tous les 6 mois en cas de prise au long cours. Le faible nombre d'accidents hématologiques et hépatiques plaiderait en faveur de cette stratégie allégée.

Conclusion

Pour conclure, nous pouvons dire au regard de notre travail qu'un dosage systématique des dérivés des thiopurines n'est pas remis en cause. Même s'il n'apporte pas d'amélioration en termes de rémission clinique, il permet d'avoir pour un nombre non négligeable de patients une sécurité vis-à-vis de la tolérance notamment sur les plans hématologique et hépatique, en donnant à chaque patient la dose minimale efficace correspondant à son métabolisme. Il permettrait également d'anticiper l'escalade thérapeutique en cas d'échec.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. Gastroenterology.2011;140(6):1785‑1794.

2. Pearson DC, May GR, Fick GH, Sutherland LR. Azathioprine and 6-mercaptopurine in crohn disease: a meta-analysis. Ann Intern Med.1995;123(2):132‑142.

3. Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. J Crohns Colitis.2010;4(1):28‑62.

4. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Williet N, Pillot C, Bresler L, Bigard M-A. Impact of azathioprine and tumour necrosis factor antagonists on the need for surgery in newly diagnosed Crohn's disease. Gut.2011;60(7):930‑936.

5. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. N Engl J Med.2010;362(15):1383‑1395.

6. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. Gut.2002;50(4):485‑9.

7. Derijks LJJ, Gilissen LPL, Hooymans PM, Hommes DW. Review article: thiopurines in inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther.2006;24(5):715‑29.

8. López-Martín C, Chaparro M, Espinosa L, Bejerano A, Maté J, Gisbert JP. Adverse events of thiopurine immunomodulators in patients with inflammatory bowel disease. Gastroenterol Hepatol.2011;34(6):385‑392.

9. Elion GB. The George Hitchings and Gertrude Elion Lecture. The pharmacology of azathioprine. Ann N Y Acad Sci.1993;685:400‑407.

10. Cuffari C, Théorêt Y, Latour S, Seidman G. 6-Mercaptopurine metabolism in Crohn's disease: correlation with efficacy and toxicity. Gut.1996;39(3):401‑406.

11. Roblin X, Biroulet LP, Phelip JM, Nancey S, Flourie B. A 6-Thioguanine Nucleotide Threshold Level of 400 pmol/8 × 108 Erythrocytes predicts azathioprine refractoriness in patients with inflammatory bowel disease and normal TPMT Activity. Am J Gastroenterol.2008;103(12):3115‑3122.

12. Roblin X, Serre-Debeauvais F, Phelip J-M, Faucheron J-L, Hardy G, Chartier A, et al. 6-Tioguanine monitoring in steroid-dependent patients with inflammatory bowel diseases receiving azathioprine. Aliment Pharmacol Ther.2005;21(7):829‑839.

13. Chevaux JB, Peyrin-Biroulet L, Sparrow MP. Optimizing thiopurine therapy in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis.2011;17(6):1428‑35.

14. Roblin X, Oussalah A, Chevaux J-B, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Use of thiopurine testing in the management of inflammatory bowel diseases in clinical practice: a worldwide survey of experts. Inflamm Bowel Dis.2011;17(12):2480‑2487.

15. González-Lama Y, Bermejo F, López-Sanromán A, García-Sánchez V, Esteve M, Cabriada JL, et al. Thiopurine methyl-transferase activity and azathioprine metabolite concentrations do not predict clinical outcome in thiopurine-treated inflammatory bowel disease patients. Aliment Pharmacol Ther. 2011;34(5):544‑554.

16. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, 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.1996;39(5):690‑7.

17. Gower-Rousseau C, Vasseur F, Fumery M, Savoye G, Salleron J, Dauchet L, et al. Epidemiology of inflammatory bowel diseases: New insights from a French population-based registry (EPIMAD). Dig Liver Dis.2013;45(2):89‑94.

18. Chouraki V, Savoye G, Dauchet L, Vernier-Massouille G, Dupas J-L, Merle V, et al. The changing pattern of Crohn's disease incidence in northern France: a continuing increase in the 10- to 19-year-old age bracket (1988–2007). Aliment Pharmacol Ther.2011;33(10):1133‑42.

19. Benchimol EI, Guttmann A, Griffiths AM, Rabeneck L, Mack DR, Brill H, et al. Increasing incidence of paediatric inflammatory bowel disease in Ontario, Canada: evidence from health administrative data. Gut.2009;58(11):1490‑1497.

20. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. Nature.2011;474(7351):307‑317.

21. Tsianos EV. Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. World J Gastroenterol.2012;18(2):105.

22. Cosnes, Carbonnel, Carrat, Beaugerie, Cattan, Gendre. Effects of current and former cigarette smoking on the clinical course of Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther.1999;13(11):1403‑11.

23. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekbom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. N Engl J Med.2001;344(11):808‑814.

24. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. Gastroenterology.1976;70(3):439‑444.

25. Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of crohn's-disease activity. Lancet. 1980;315(8167):514.

26. Mary JY, Modigliani R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). Gut.1989;30(7):983.

27. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Kerremans R, Coenegrachts JL, Coremans G. Natural history of recurrent Crohn's disease at the ileocolonic anastomosis after curative surgery. Gut.1984;25(6):665‑672.

28. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in Ulcerative Colitis. Br Med J.1955;2(4947):1041‑1048.

29. Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, et al. Cyclosporine in Severe Ulcerative Colitis Refractory to Steroid Therapy. N Engl J Med.1994;330(26):1841‑1845.

30. Travis SPL, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel J-F, et al. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). Gut.2012;61(4):535‑542.

31. Elion GB, Hitchings GH, Vanderwerff H. Antagonists of nucleic acid derivatives VI. purines. J Biol Chem. 1951;192(2):505‑18.

32. Murray JE, Merrill JP, Harrison JH, Wilson RE, Dammin GJ. Prolonged Survival of Human-Kidney Homografts by Immunosuppressive Drug Therapy. N Engl J Med.1963;268(24):1315‑1323.

33. Sahasranaman S, Howard D, Roy S. Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines. Eur J Clin Pharmacol.2008;64(8):753‑767.

34. Willoughby JM, Beckett J, Kumar PJ, Dawson AM. Controlled trial of azathioprine in Crohn's disease. Lancet.1971;2(7731):944‑947.

35. Adler DJ, Korelitz BI. The therapeutic efficacy of 6-mercaptopurine in refractory ulcerative colitis. Am J Gastroenterol. 1990;85(6):717‑722.

36. Timmer A, McDonald JWD, Tsoulis DJ, Macdonald JK. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev.2012;9:CD000478.

37. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Lesser M, Daum F. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease. Gastroenterology.2000;119(4):895‑902.

38. Ramadas AV, Gunesh S, Thomas GAO, Williams GT, Hawthorne AB. Natural history of Crohn's disease in a population-based cohort from Cardiff (1986-2003): a study of changes in medical treatment and surgical resection rates. Gut.2010;59(9):1200‑1206.

39. Bouhnik Y, Lémann M, Mary JY, Scemama G, Taï R, Matuchansky C, et al. Long-term follow-up of patients with Crohn's disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. Lancet.1996;347(8996):215‑219.

40. Reinisch W, Angelberger S, Petritsch W, Shonova O, Lukas M, Bar-Meir S, et al. Azathioprine versus mesalazine for prevention of postoperative clinical recurrence in patients with Crohn's disease with endoscopic recurrence: efficacy and safety results of a randomised, double-blind, double-dummy, multicentre trial. Gut.2010;59(6):752‑759.

41. Hanauer SB, Korelitz BI, Rutgeerts P, Peppercorn MA, Thisted RA, Cohen RD, et al. Postoperative maintenance of Crohn's disease remission with 6-mercaptopurine, mesalamine, or placebo: a 2-year trial. Gastroenterology.2004;127(3):723‑729.

42. Akobeng AK, Gardener E. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of medically-induced remission in Crohn's Disease. Cochrane Database Syst Rev.2005;(1):CD003715.

43. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. Am J Gastroenterol.1997;92(2):204‑211.

44. Gisbert JP, Linares PM, McNicholl AG, Maté J, Gomollón F. Meta-analysis: the efficacy of azathioprine and mercaptopurine in ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2009;30(2):126‑137.

45. Laharie D, Bourreille A, Branche J, Allez M, Bouhnik Y, Filippi J, et al. Ciclosporin versus infliximab in patients with severe ulcerative colitis refractory to intravenous steroids: a parallel, open-label randomised controlled trial. Lancet.2012;380(9857):1909‑1915.

46. Panccione R, Ghosh S, Middleton S, Marquez JR, Khalif I, Flint L, et al. Infliximab, Azathioprine, or Infliximab + Azathioprine for Treatment of Moderate to Severe Ulcerative Colitis: The UC Success Trial. Gastroenterology.2011;140(5, Supplement 1):S‑134.

47. Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, Marteau P, Gendre JP, Bonaz B, et al. Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. Gastroenterology.2000;118(6):1025‑1030.

48. Ansari A, Patel N, Sanderson J, O'Donohue J, Duley JA, Florin THJ. Low-dose azathioprine or mercaptopurine in combination with allopurinol can bypass many adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther.2010;31(6):640‑647.

49. Daniel F, Cadranel J-F, Seksik P, Cazier A, Duong Van Huyen J-P, Ziol M, et al. Azathioprine induced nodular regenerative hyperplasia in IBD patients. Gastroentérologie Clin Biol. 2005;29(5):600‑603.

50. Sandborn W, Sutherland L, Pearson D, May G, Modigliani R, Prantera C. Azathioprine or 6-mercaptopurine for inducing remission of Crohn's disease. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2):CD000545.

51. Maltzman JS, Koretzky GA. Azathioprine: old drug, new actions. J Clin Invest. 2003;111(8):1122‑1124.

52. Houdret MDN. Pharmacogenetique des medicaments thiopuriniques. 2009 [en ligne]consulté le 25 nov 2012; http://hal.inria.fr/docs/00/43/92/66/PDF/garat_anne.pdf

53. Lennard L, Gibson BE, Nicole T, Lilleyman JS. Congenital thiopurine methyltransferase deficiency and 6-mercaptopurine toxicity during treatment for acute lymphoblastic leukaemia. Arch Dis Child.1993;69(5):577‑579.

54. Schaeffeler E, Fischer C, Brockmeier D, Wernet D, Moerike K, Eichelbaum M, et al. Comprehensive analysis of thiopurine S-methyltransferase phenotype-genotype correlation in a large population of German-Caucasians and identification of novel TPMT variants. Pharmacogenetics.2004;14(7):407‑417.

55. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: Monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. Am J Hum Genet.1980;32(5):651‑662.

56. Seinen ML, de Boer NKH, Smid K, van Asseldonk DP, Bouma G, van Bodegraven AA, et al. Allopurinol enhances the activity of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase in inflammatory bowel disease patients during low-dose thiopurine therapy: preliminary data of an ongoing series. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.2011;30(12):1085‑1090.

57. Tiede I, Fritz G, Strand S, Poppe D, Dvorsky R, Strand D, et al. CD28-dependent Rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human CD4+ T lymphocytes. J Clin Invest.2003;111(8):1133‑1145.

58. Thomas CW, Myhre GM, Tschumper R, Sreekumar R, Jelinek D, McKean DJ, et al. Selective inhibition of inflammatory gene expression in activated T lymphocytes: a mechanism of immune suppression by thiopurines. J Pharmacol Exp Ther.2005;312(2):537‑545.

59. Cara CJ, Pena AS, Sans M, Rodrigo L, Guerrero-Esteo M, Hinojosa J, et al. Reviewing the mechanism of action of thiopurine drugs: towards a new paradigm in clinical practice. Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.2004;10(11):RA247‑254.

60. Bergan S, Bentdal O, Sødal G, Brun A, Rugstad HE, Stokke O. Patterns of azathioprine metabolites in neutrophils, lymphocytes, reticulocytes, and erythrocytes: relevance to toxicity and monitoring in recipients of renal allografts. Ther Drug Monit.1997;19(5):502‑509.

61. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnett D, Théorêt Y, et al. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. Gastroenterology.2000;118(4):705‑713.

62. Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Pike MG, Mays DC, Tremaine WJ, et al. Measurement of thiopurine methyltransferase activity and azathioprine metabolites in patients with inflammatory bowel disease. Gut.2001;49(5):665‑670.

63. Belaiche J, Desager JP, Horsmans Y, Louis E. Therapeutic drug monitoring of azathioprine and 6-mercaptopurine metabolites in Crohn disease. Scand J Gastroenterol.2001;36(1):71‑76.

64. Osterman MT, Kundu R, Lichtenstein GR, Lewis JD. Association of 6-Thioguanine Nucleotide Levels and Inflammatory Bowel Disease Activity: A Meta-Analysis. Gastroenterology.2006;130(4):1047‑1053.

65. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, 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 J Can Gastroenterol.2005;19 Suppl A:5‑36.

66. Dassopoulos T, Martin CF, Galanko J, Wolf DC, Dubinsky M, Sandler RS, et al. A Randomized Trial of Metabolite-Adjusted Versus Weight-Based Dosing of Azathioprine (AZA) in Crohn's Disease (CD). Gastroenterology.2009;136(5):A‑519.

67. Reinshagen M, Schütz E, Armstrong VW, Behrens C, Tirpitz C von, Stallmach A, et al. 6-Thioguanine Nucleotide–Adapted Azathioprine Therapy Does Not Lead to Higher Remission Rates Than Standard Therapy in Chronic Active Crohn Disease: Results from a Randomized, Controlled, Open Trial. Clin Chem.2007;53(7):1306‑1314.

68. Goldenberg BA, Rawsthorne P, Bernstein CN. The utility of 6-thioguanine metabolite levels in managing patients with inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol.2004;99(9):1744‑1748.

69. Charpignon C, Beau P. Methotrexate as single therapy in Crohn's disease: is its long-term efficacy limited? Gastroenterol Clin Biol.2008;32(2):153‑157.

70. Roberts RL, Gearry RB, Barclay ML, Kennedy MA. IMPDH1 promoter mutations in a patient exhibiting azathioprine resistance. Pharmacogenomics J.2007;7(5):312‑317.

71. De Graaf P, de Boer NKH, Wong DR, Karner S, Jharap B, Hooymans PM, et al. Influence of 5-aminosalicylic acid on 6-thioguanosine phosphate metabolite levels: a prospective study in patients under steady thiopurine therapy. Br J Pharmacol.2010;160(5):1083‑1091.

72. De Boer NKH, Wong DR, Jharap B, de Graaf P, Hooymans PM, Mulder CJJ, et al. Dose-dependent influence of 5-aminosalicylates on thiopurine metabolism. Am J Gastroenterol.2007;102(12):2747‑2753.

73. Hande S, Wilson-Rich N, Bousvaros A, Zholudev A, Maurer R, Banks P, et al. 5-aminosalicylate therapy is associated with higher 6-thioguanine levels in adults and children with inflammatory bowel disease in remission on 6-mercaptopurine or azathioprine. Inflamm Bowel Dis.2006;12(4):251‑257.

74. Dewit O, Vanheuverzwyn R, Desager JP, Horsmans Y. Interaction between azathioprine and aminosalicylates: an in vivo study in patients with Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther.2002;16(1):79‑85.

ANNEXES

ANNEXE I : SCORE DE HARVEY ET BRADSHAW (fiche du GETAID)

Date [_ _ / _ _ / _ _] Initiales patient |___|___|/|___|___|

Recueil du score de Harvey-Bradshaw
(À remplir par le médecin lors de la consultation)

Bien être général	❑ 0 bon ❑ 1 moyen ❑ 2 médiocre ❑ 3 intense ❑ 4 (très mauvais)	|__|
Douleur abdominale	❑ 0 aucune ❑ 1 légère ❑ 2 moyenne ❑ 3 sévère	|__|
Selles liquides (nombre par jour)		|__|__|
Masse abdominale	❑ 0 aucune ❑ 1 douteuse ❑ 2 certaine ❑ 3 certaine et douloureuse	|__|
Signes extradigestifs, fistule, fissure anale (1 point par item présent)?		|__|
Total Score		**|__|__|**

Score < 4 : maladie inactive
Score compris entre 4 et 12 : maladie active
Score supérieur à 12 : maladie active très sévère

ANNEXE II : SCORE ENDOSCOPIQUE DE RUTGEERTS

Stade i,0 :	absence de lésions
Stade i,1 :	ulcérations iléales aphtoïdes peu nombreuses (≤ 5)
Stade i,2 :	ulcérations aphtoïdes multiples (> 5) avec muqueuse intercalaire normale ou zones isolées de lésions plus larges ou lésions confinées à l'anastomose (sur moins de 1 cm de long)
Stade i,3 :	iléite aphtoïde diffuse avec muqueuse intercalaire inflammatoire
Stade i,4 :	iléite diffuse avec ulcérations plus larges, nodules et/ou sténose

ANNEXE III : SCORE DE LICHTIGER (fiche du GETAID)

	Date :								
Nombre de selles par jour (en plus du nombre habituel)	0-2 3-4 5-6 7-9 10 et plus	0 1 2 3 4							
Selles nocturnes	Non Oui	0 1							
Saignement rectal (en % du nombre de selles)	Absent < 50% ≥ 50% 100%	0 1 2 3							
Incontinence fécale	Non Oui	0 1							
Douleurs abdominales	Aucune Lègères Moyennes Intenses	0 1 2 3							
Etat général	Parfait Très bon Bon Moyen Mauvais Très Mauvais	0 1 2 3 4 5							
Douleur abdominale provoquée	Aucune Légère et localisée Moyenne et diffuse Importante	0 1 2 3							
Nécessité d'un antidiarrhéique	Non Oui	0 1							
	TOTAL								

ANNEXE IV : CLASSIFICATION DE MONTREAL

Age (au moment du diagnostic de la maladie)

A1: inférieur à 17 ans

A2: entre 17 et 40 ans

A3: supérieur à 40 ans

Localisation

L1: iléale

Lé: colique

L3: iléo-colique

L4: tractus digestif supérieur

Behaviour (comportement)

B1 : lésions inflammatoires

B2: phénotype sténosant

B3: phénotype fistulisant

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Proposition d'interprétation des dosages des métabolites chez des patients atteints de MICI. 33

Tableau 2 : Caractéristiques des patients atteints de Rectocolite Hémorragique 40

Tableau 3 : Caractéristiques des patients atteints de Maladie de Crohn 41

Tableau 4 : Traitements reçus par les patients a l'initiation du traitement par thiopurines .. 42

Tableau 5 : Réponse clinique dans les 2 groupes lors de la 2e visite. 43

Tableau 6: Données des patients du groupe étude en fonction de la réponse clinique à V2. 44

Tableau 7: Taux de 6-TGN et de 6-MMP en fonction de la réponse clinique à V2. 44

Tableau 8 : Modifications thérapeutiques effectuées à l'issue de la 2e visite dans les 2 groupes 46

Tableau 9 : Réponse clinique à la 3e visite et délai moyen de la 3e visite. 47

Tableau 10: Evènements indésirables durant le traitement par thiopurines 50

INDEX DES FIGURES

Figure 1: Répartition des MICI dans le monde, basé sur les données d'incidence annuelle pour 100 000 habitants. 10

Figure 2 : Résumé de la 1ère méta analyse sur l'efficacité de l'AZA pour le maintien de la rémission dans la MC. *d'après pearson et al, ann int med, 1995* 18

Figure 3 : Comparaison entre AZA /6-MP contre placebo. 19

Figure 4 : comparaison entre AZA et infliximab. 22

Figure 5 : Comparaison entre bithérapie azathioprine + infliximab et infliximab seul. 22

Figure 6 : Comparaison entre 6-MP et 5-ASA. 23

Figure 7 : méta-analyse comparant l'azathioprine contre placebo. 24

Figure 8 : Métabolisme simplifié des thiopurines. 28

Figure 9 : répartition et corrélation phénotype et génotype de l'activité de la TPMT. 30

Figure 10 : Structures moléculaires comparées de l'azathioprine, de la 6-mercaptopurine et des bases puriques adénine et guanine. 31

Figure 11 : Chromatogramme. 38

Figure 12: répartition des taux de 6-TGN (en pmol/8.10^8 GR) chez les patients en rémission complète. 45

Figure 13: répartition des taux de 6-TGN (en pmol/8.108 GR) chez les patients en rémission partielle 45

Figure 14 : Evolution du Volume Globulaire Moyen (en femtolitres) en fonction du temps .. 48

Figure 15: Evolution du taux de lymphocytes (en nombre/mm3) en fonction du temps. 48

Figure 16 : Evolution du taux d'ALAT (en UI/L) en fonction du temps 48

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE 6

GLOSSAIRE 7

INTRODUCTION 8

RAPPELS 10

1. Généralités sur les MICI 10

1.1 Données épidémiologiques concernant les MICI 10

1.2 Facteurs de risque des MICI 12

1.3 Diagnostic et Histoire naturelle des MICI 13

1.4 Evaluation de l'activité 15

2. Les thiopurines dans la prise en charge des MICI 17

2.1 Rappels historiques 17

2.2 Efficacité des thiopurines dans la MC 18

2.3 Efficacité des thiopurines dans la RCH 22

3. Toxicité des thiopurines 25

4. Métabolisme des thiopurines 26

4.1 Pharmacocinétique 26

4.2 Effet du déficit en TPMT sur le métabolisme des thiopurines 29

4.3 Effet de l'allopurinol sur le métabolisme des thiopurines 30

4.4 Mécanisme d'action cellulaire 31

5. Impact du taux de métabolites sur l'évolutivité des MICI 32

6. But de l'étude 33

MATERIELS ET METHODES 34

1.Matériels 34

1.1 Recrutement de la population principale de l'étude 34

1.2 Recrutement de la population contrôle 34

1.2 Recueil des données 35

2.Méthodes 37

2.1 Prescription des thiopurines 37

2.2 Dosage des métabolites des thiopurines 37

2.3 Evaluation de la réponse 38

2.4 Adaptation du traitement 39

2.5 Analyse statistique 39

RESULTATS 40

1.Caractéristiques de la population 40

1.1 Caractéristiques cliniques des patients à l'inclusion 40

1.2 Traitements reçus par les patients 41

1.3 Paramètres d'évaluation de la maladie à l'initiation du traitement 42

2. Réponse clinique et biologique 43

2.1 Réponse clinique à la 2e visite (V2) 43

2.2 Dosage des dérivés des thiopurines 44

2.3 Modifications thérapeutiques 46

2.4 Réponse clinique lors de la 3e visite (v3) 46

3.Paramètres biologiques 47

3.1 Evolution dans le temps 47

3.2 Corrélation entre paramètres biologiques et dérivés métaboliques. 49

4. Evènements indésirables 50

DISCUSSION 51

Principaux résultats 51

Méthodologie 53

Limites 55

Impact clinique 56

Conclusion 58

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 59

ANNEXES 66

INDEX DES TABLEAUX 70

INDEX DES FIGURES 71

TABLE DES MATIERES 72

UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

SERMENT

En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

RESUME

Titre : Impact du dosage systématique des métabolites des thiopurines dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Introduction : L'intérêt du monitorage des métabolites des thiopurines dans la prise en charge des patients atteints de Maladie de Crohn (MC) et de rectocolite hémorragique (RCH) est controversé. Le but de notre étude a été d'évaluer l'impact du dosage systématique des 6-thioguanosines (6-TGN) et des 6-méthylmercapto ribonucléotides (6-MMP), sur la prise en charge des malades traités par azathioprine ou 6-mercaptopurine, en comparaison à un groupe contrôle historique.

Matériel et Méthodes : A partir de Juin 2010, tous les patients traités par thiopurines (groupe d'étude) ont eu un dosage systématique des métabolites des thiopurines 8 semaines après l'introduction du traitement. Le groupe contrôle était composé de malades traités les 3 années précédentes sans autre modification de la prise en charge générale des RCH et MC et dont les modifications thérapeutiques étaient effectuées en fonction de l'efficacité et de la tolérance clinico-biologique. Les données suivantes ont été recueillies au début du traitement, à 2 et à 6 mois : activité de la maladie, tolérance clinique et biologique (lymphocytes, volume globulaire moyen et ALAT).

Résultats : Le groupe d'étude comprenait 61 patients (23 RCH et 38 MC) et le groupe contrôle 58 (21 RCH et 37 MC) et étaient comparables en termes d'ancienneté, de phénotype et de modalités de traitement. Le taux de rémission complète sans corticoïde et le taux de rémission partielle à 2 mois n'étaient pas significativement différents entre le groupe d'étude (39,3% et 49,2%) et le groupe contrôle (29,3% et 60,3%). Les taux médians respectifs de 6-TGN et de 6-MMP étaient de 253 ± 215 pmol/8.10^8 GR (zone thérapeutique optimale 230-600 pmol/8.10^8 GR) et de 1732 ± 2868 pmol/8.10^8 GR (zone de toxicité > 11450 pmol/8.10^8 GR). Il n'a pas été retrouvé de corrélation entre les taux de métabolites et la réponse clinique, ni avec les lymphocytes, le VGM et les ALAT. Vingt-cinq (40,9%) patients avaient des 6-TGN en-dessous du seuil théorique d'efficacité de 230 pmol/8.10^8 GR, dont 23 répondeurs. Seulement 2 malades avaient des taux de 6-MMP dans la zone toxique, sans anomalie de leur bilan hépatique. Vingt-cinq patients (42,6%) du groupe étude et 22 (37,9%) du groupe contrôle ont eu une modification thérapeutique suite à la 2e visite (ns). A 6 mois, la réponse clinique n'était pas statistiquement différente (p=0,11) entre les groupes étude (76,8%) et contrôle (69,8%). Il a été noté une tendance en faveur du groupe étude pour la diminution de la dose des corticoïdes à 2 mois (dose médiane de 0 mg vs 9,5 mg ; p =0,12) et pour le délai d'introduction des anti-TNF (161 ± 61 j vs 312 ± 296 j ; p = 0,09). L'association d'allopurinol à l'azathioprine chez 3 patients du groupe étude a permis d'atteindre un taux optimal de 6-TGN et de diminuer les 6-MMP à un taux non toxique.

Conclusion : Comparé à une prise en charge classique, notre étude ne permet pas de conclure à un bénéfice du dosage systématique des métabolites des thiopurines au cours des maladies inflammatoires de l'intestin, notamment en termes de gain d'efficacité. Elle suggère toutefois que cette stratégie permet de décider des modifications thérapeutiques plus rapidement en cas de réponse incomplète et elle permet également d'optimiser le traitement chez des malades ayant un métabolisme particulier des thiopurines.

Mots-clés : thiopurines, optimisation, métabolites, allopurinol, rectocolite hémorragique, maladie de Crohn