

Thiopurine metabolieten bepaling

Synoniem: Azathioprine bepaling, (6-)Mercaptopurine bepaling, Thioguanine bepaling

Afname

Afname voorkeur:	Li-heparine buis zonder gel (groen)
Afname volume:	7 ml
Afname condities:	Bloed afnemen voor volgende inname (dalspiegel). Buis na afname koelen op ijs .
Opslag condities:	Gekoeld op slaan voor korte tijd. Niet invriezen.
Verzend condities:	Zelfde dag gekoeld versturen.
Buizenpoststation:	502
Terugmeldtijd:	Binnen 2 weken
Frequentie:	1x per week



Wanneer vraagt u deze test aan?

U vraagt deze test aan wanneer een patiënt wordt behandeld met azathioprine (Imuran) of 6-Mercaptopurine (Puri-Nethol, Xaluprine) of Thioguanine. Het monitoren van de metaboliet spiegels van azathioprine wordt zinvol geacht omdat er tussen patiënten grote verschillen in bloedspiegels bestaan. Kennis over de bloedspiegels kan helpen bij het bepalen van een optimale dosering, het identificeren van patiënten die niet reageren en bij het voorkomen van ernstige bijwerkingen (leverschade).

Wat wordt getest?

Azathioprine of 6-Mercaptopurine zijn prodrugs. De stoffen zijn zelf niet werkzaam maar worden in het lichaam gemetaboliseerd tot actieve thioguanine nucleotiden (6TGN) en toxische 6-methylmercaptopurine ribonucleotiden (6MMP). Het exacte farmaceutische mechanisme is tot op heden maar ten delen opgehelderd en wordt over het algemeen toegeschreven aan de gelijkheid van 6TGN met de purinebase guanine. Incorporatie in het DNA van 6TGN heeft cytotoxische gevolgen voor met name leukocyten en leidt tot remming van het immuunsysteem.

Hoe vraagt u deze test aan?

Interne aanvragers kunnen de bepaling aanvragen in HiX. Externe aanvragers vragen de bepaling aan via het 'externe aanvraag formulier' en sturen het monster en aanvraagformulier naar:

Erasmus MC
 Wytemaweg 80
 3015 CN Rotterdam
 Laboratorium MDL
 kamer Nc-1022

Hoe worden de azathioprine metabolieten bepaald?

Het bloed wordt bij binnenkomst 'gewassen' en het aantal RBC wordt geteld. Bij het wassen worden de witte bloedcellen uit het bloed verwijderd. Met behulp van perchloorzuur worden de metabolieten gehydrolyseerd tot hun nucleotiden. Deze worden vervolgens op een HPLC gekwantificeerd.

Op welke manier krijgt u de uitslag van de test?

Bij interne aanvragen van het Erasmus MC wordt de uitslag in Labtrain en HiX genoteerd. Bij externe aanvragen sturen wij u zo snel mogelijk de uitslag schriftelijk toe.

Bij deze bepaling wordt de concentratie 6TGN en 6MMP bepaald in een bekende hoeveelheid rode bloed cellen (RBC). De uitslag wordt omgerekend naar picomol per 8×10^8 RBC. Voor beide metabolieten zijn referentiewaarden vastgesteld. Deze waarden zijn afhankelijk van de gebruikte methode. Wij maken gebruik van de bepaling zoals beschreven door Dervieux¹.

Referentiewaarden

De referentie waarden zijn gebaseerd op de Dervieux methode. De referentie waarden bij behandeling met thioguanine wijken af van die bij azathioprine of mercaptopurine. 6-TGN kent een therapeutische range maar ook een toxische waarde. Voor 6-MMP geldt alleen een toxische waarde. De referentie waarden zijn overgenomen uit de literatuur. Deze klinische intervallen zijn bepaald aan de hand van een andere methode beschreven door Lennard et al². De resultaten verkregen met de Lennard methode zijn lager (2,6x) dan die verkregen met de Dervieux methode. Aan de hand van een vergelijking tussen de twee methodes is een omreken factor vast gesteld¹⁵.

		Method of analysis		unit	Referentie
		Lennard ²	Dervieux ¹		
Azathioprine/6-Mercaptopurine:					
therapeutic	6-TGN	230-450	300-600	pmol/ 8×10^8 RBC	[3-8]
toxic	6-TGN	> 450	> 600	pmol/ 8×10^8 RBC	[9]
	6-MMP	> 5700	> 5700	pmol/ 8×10^8 RBC	[5;9;10]
Thioguanine					
therapeutic	6-TGN	230-1000	300-1250	pmol/ 8×10^8 RBC	[11;12]
toxic	6-TGN	> 2000	>2600	pmol/ 8×10^8 RBC	[11-14]

Referenties

1. Dervieux T, Boulieu R. Identification of 6-methylmercaptopurine derivative formed during acid hydrolysis of thiopurine nucleotides in erythrocytes, using liquid chromatography-mass spectrometry, infrared spectroscopy, and nuclear magnetic resonance assay. *Clin Chem.* 1998 Dec;44(12):2511-5.
2. Lennard L, Singleton HJ. High-performance liquid chromatographic assay of the methyl and nucleotide metabolites of 6-mercaptopurine: quantitation of red blood cell 6-thioguanine nucleotide, 6-thioinosinic acid and 6-methylmercaptopurine metabolites in a single sample. *J Chromatogr.* 1992 Nov 27;583(1):83-90.
3. Cuffari C, Theoret Y, Latour S, Seidman G. 6-Mercaptopurine metabolism in Crohn's disease: correlation with efficacy and toxicity. *Gut* 1996; 39:401-406.
4. Cuffari C, Hunt S, Bayless T. Utilisation of erythrocyte 6-thioguanine metabolite levels to optimise azathioprine therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2001; 48:642-646.
5. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnott D, Theoret Y, Seidman EG. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 118:705-713.
6. Dubinsky MC, Yang H, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. 6-MP metabolite profiles provide a biochemical explanation for 6-MP resistance in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122:904-915.
7. Gupta P, Gokhale R, Kirschner BS. 6-mercaptopurine metabolite levels in children with inflammatory bowel disease. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.* 2001; 33:450-454.
8. Wright S, Sanders DS, Lobo AJ, Lennard L. Clinical significance of azathioprine active metabolite concentrations in inflammatory bowel disease. *Gut* 2004; 53:1123-1128.
9. Osterman MT, Kundu R, Lichtenstein GR, Lewis JD. Association of 6-thioguanine nucleotide levels and inflammatory bowel disease activity: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2006; 130:1047-1053.
10. Chouchana L, Narjoz C, Beaune P, Lorient MA, Roblin X. Review article: the benefits of pharmacogenetics for improving thiopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2012; 35:15-36.
11. Derijks LJJ, de Jong DJ, Gilissen LPL, Engels LGJB, Hooymans PM, Jansen JBMJ, Mulder CJJ. 6-Thioguanine seems promising in azathioprine- or 6-mercaptopurine-intolerant inflammatory bowel disease patients: A short-term safety assessment. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2003; 15:63-67.
12. Dubinsky MC, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. An open-label pilot study using thioguanine as a therapeutic alternative in Crohn's disease patients resistant to 6-mercaptopurine therapy. *Inflamm.Bowel.Dis.* 2001; 7:181-189.
13. Gilissen LPL, Derijks LJJ, Driessen A, Bos LP, Hooymans PM, Stockbrugger RW, Engels LGJB. Toxicity of 6-thioguanine: no hepatotoxicity in a series of IBD patients treated with long-term, low dose 6-thioguanine. Some evidence for dose or metabolite level dependent effects? *Dig.Liver Dis.* 2007; 39:156-159.

14. Herrlinger KR, Fellermann K, Fischer C, Kreisel W, Deibert P, Schoelmerich J, Fleig WE, Ruhl A, Reinshagen M, Greinwald R, Stange EF, Schwab M. Thioguanine-nucleotides do not predict efficacy of tioguanine in Crohn's disease. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 19:1269-1276.
15. Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Oellerich M. Differences in nucleotide hydrolysis contribute to the differences between erythrocyte 6-thioguanine nucleotide concentrations determined by two widely used methods. *Clin Chem.* 2003 Feb;49(2):260-8.