

# IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS A LA MIELOTOXICIDAD POR TIOPURINAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL Y TIOPURINA S-METILTRANSFERASA NORMAL: ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO.

M Chaparro<sup>1\*</sup>, A González Neira<sup>2</sup>, M Román<sup>3\*</sup>, G Pita<sup>2</sup>, T Cabaleiro<sup>3\*</sup>, D Herrero<sup>2</sup>, B Herraes<sup>2</sup>, R Alonso<sup>2</sup>, C Taxonera<sup>4</sup>, P López Serrano<sup>5</sup>, P Martínez Montiel<sup>6</sup>, M Vera<sup>7</sup>, F Bermejo<sup>8</sup>, A López-San Román<sup>9</sup>, F Abad-Santos<sup>3\*</sup>, JP Gisbert<sup>1\*</sup>

Servicios de Aparato Digestivo de los Hospitales: La Princesa<sup>1</sup>; Clínico San Carlos<sup>4</sup>; Alcorcón<sup>5</sup>; Doce de Octubre<sup>6</sup>; Puerta de Hierro<sup>7</sup>; Fuenlabrada<sup>8</sup>; Ramón y Cajal<sup>9</sup>. Madrid. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas<sup>2</sup>. Madrid. Servicio de Farmacología Clínica, Hospital Universitario de La Princesa<sup>3</sup>. Madrid.

\* Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IP) y Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD).

## RESUMEN

**Introducción.** Los pacientes con actividad baja del enzima tiopurina metiltransferasa (TPMT) tienen un riesgo aumentado de desarrollar mielotoxicidad secundaria a las tiopurinas. Sin embargo, sólo una minoría de pacientes con mielotoxicidad presenta alteraciones en la TPMT. **Objetivo:** Identificar variantes genéticas asociadas con el riesgo de desarrollo de mielotoxicidad secundaria a tiopurinas en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y genotipo y fenotipo de la TPMT normal. **Métodos.** Se incluyeron 93 pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y fenotipo y genotipo de la TPMT normal. Casos: Pacientes con mielotoxicidad secundaria a tiopurinas, sin ningún otro efecto adverso. Controles: Pacientes sin efectos adversos secundarios al tratamiento con tiopurinas. El fenotipo de la TPMT se consideró normal por encima de 13,7 UI/mL. El ADN se extrajo de células nucleadas de sangre periférica. El genotipo de la TPMT se estudió mediante secuenciación (alelos TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C, \*3D, \*4, \*5, \*6, \*7, \*9, \*10, \*15, \*16, \*19 and \*22). La mielotoxicidad se definió como <math><3.000/mL</math> leucocitos, <math><1.500/mL</math> neutrófilos, o <math><100.000/mL</math> plaquetas. El ADN genómico se analizó mediante el array Illumina OmniExpress Exome BeadChip. Este array interroga un total de 951.117 polimorfismos de una base (SNPs) (660K comunes y 200K variantes raras). Las asociaciones entre los SNPs y la mielotoxicidad se evaluaron mediante análisis de regresión logística.

**Resultados.** Se incluyeron 93 pacientes (37 casos y 56 controles). La distribución de sexo, tipo de enfermedad inflamatoria intestinal, edad media, actividad media de la TPMT y dosis media de mercaptopurina (1,3 vs. 1,4 mg/kg) fue similar en los casos y en los controles. El porcentaje de pacientes con mercaptopurina fue superior entre los casos (32,4 vs. 12,5%,  $p=0,02$ ) y la dosis media de azatioprina más alta en los controles (2,2 vs. 2,5 mg/kg,  $p=0,03$ ). Los SNPs que mostraron una asociación más fuerte fueron: SNP1:  $p=6,5 \times 10^{-5}$ , Odds ratio (OR)=10,4 (intervalo de confianza 95%: 2,5-21); SNP2:  $p=6,6 \times 10^{-5}$ , OR=6,2 (2,4-12); SNP3:  $p=8,5 \times 10^{-5}$ , OR=0,1 (0,07-0,5); y SNP4:  $p=8,8 \times 10^{-5}$ , OR=0,2 (0,1-0,4). El SNP1 se encuentra próximo a un gen que codifica un enzima relevante del metabolismo de las tiopurinas.

**Conclusiones:** Este estudio de asociación de exoma completo ha identificado cuatro SNPs que podrían explicar la mielotoxicidad secundaria a tiopurinas en pacientes con TPMT normal. El SNP con la asociación más fuerte podría regular la expresión de un gen que codifica un enzima de la vía metabólica de las tiopurinas. Aunque estos hallazgos deben validarse, estos SNPs podrían ser prometedores predictores genéticos de mielotoxicidad secundaria a tiopurinas.

**ABREVIATURAS.** Tiopurina metiltransferasa (TPMT), Odds ratio (OR), intervalo de confianza (IC).

## PALABRAS CLAVE.

Tiopurinas, azatioprina, mercaptopurina, mielotoxicidad, tiopurina metiltransferasa.

## CORRESPONDENCIA:

Javier P. Gisbert, M.D.  
Playa de Mojácar 29. Urb. Bonanza  
28669 Boadilla del Monte. Madrid. Spain.  
Tel.: 34-913 093 911; Fax: 34-914 022 299  
e-mail: javier.p.gisbert@gmail.com

## SUMMARY

**Background.** Patients with low thiopurine methyltransferase (TPMT) activity are at increased risk of developing thiopurine-induced myelotoxicity. However, only a minority of patients with myelotoxicity are carriers of a mutant TPMT allele.

**Aim.** To identify genetic variants associated with thiopurine-induced myelotoxicity in inflammatory bowel disease (IBD) patients with TPMT wild-type alleles and normal activity of this enzyme.

**Methods:** 93 IBD patients with normal TPMT activity and wild-type genotype treated with thiopurines were included. Case group: patients with thiopurine-induced myelotoxicity and without other thiopurine-induced adverse effect. Control group: patients without thiopurine-induced side effects consecutively included. TPMT activity over 13.7 U/ml was considered normal. DNA was extracted from peripheral blood nucleated cells. TPMT genotype was determined by sequencing (TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C, \*3D, \*4, \*5, \*6, \*7, \*9, \*10, \*15, \*16, \*19 and \*22 alleles). Myelotoxicity was defined as  $<3,000/\text{mL}$  leucocytes,  $<1,500/\text{mL}$  neutrophils, or  $<100,000/\text{mL}$  platelets. Genomic DNA was analysed using Illumina OmniExpress Exome BeadChip genotyping array. This array interrogates a total of 951,117 single nucleotide polymorphisms (SNPs) (660K common and 200k rare coding variants). Genotype calls were generated using Illumina GenomeStudio. After standard QC control, associations between SNPs and myelotoxicity were assessed using logistic regression analysis.

**Results:** 93 patients were included (37 cases and 56 controls). The distribution of gender, type of IBD, mean age, mean TPMT activity and mean dose of mercaptopurine (1.3 vs. 1.4 mg/kg) were similar between cases and controls. The percentage of patients with mercaptopurine was higher among cases (32.4 vs. 12.5%,  $p=0.02$ ), while mean azathioprine dose was slightly higher among controls (2.2 vs. 2.5 mg/kg,  $p=0.03$ ). The SNPs that showed the strongest association were: SNP1:  $p=6.5 \times 10^{-5}$ , Odds ratio (OR)=10.4 (confidence interval 95%: 2.5-21); SNP2:  $p=6.6 \times 10^{-5}$ , OR=6.2 (2.4-12); SNP3:  $p=8.5 \times 10^{-5}$ , OR=0.1 (0.07-0.5); and SNP4:  $p=8.8 \times 10^{-5}$ , OR=0.2 (0.1-0.4). The SNP1 is located close to a gene that encodes a relevant enzyme of the thiopurine metabolic pathway.

**Conclusions.** An exome-wide association study identified four new SNPs that could explain thiopurine-induced toxicity not related to TPMT deficiency. The SNP with the strongest association could regulate the expression of an enzyme of the thiopurine metabolic pathway. Although further validation is required, these variants could be promising genetic predictors of thiopurine-induced myelotoxicity.

## INTRODUCCIÓN

La azatioprina y su metabolito la mercaptopurina pertenecen al grupo de las tiopurinas y son los fármacos inmunosupresores más ampliamente empleados en el tratamiento de múltiples enfermedades de base inmunológica, entre las que se encuentran patologías reumatólogicas, como la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico, patologías dermatológicas y enfermedades digestivas como la hepatitis autoinmune y la enfermedad inflamatoria intestinal<sup>1</sup>.

Los efectos secundarios de estos fármacos aparecen con cierta frecuencia, obligando a su retirada en aproximadamente el 15% de los casos<sup>1-4</sup>. La dosis de azatioprina y mercaptopurina se ajusta habitualmente en fun-

ción del peso del paciente para alcanzar la mayor eficacia terapéutica con la mínima incidencia de efectos adversos, aunque esto no siempre se consigue<sup>5</sup>. Se han sugerido diversas estrategias para monitorizar de forma individualizada y de modo más fiable la dosis de tiopurinas con la intención, por una parte, de identificar a los pacientes con riesgo de toxicidad por estos fármacos y, por otro, a aquellos con dosis subterapéuticas e inmunodepresión inadecuada<sup>5</sup>. Entre estas estrategias se encuentra la medición del volumen corpuscular medio de los eritrocitos, la inducción de leucopenia, la cuantificación de los metabolitos de la 6-tioguanina y la determinación de la actividad de la tiopurina metiltransferasa (TPMT)<sup>5</sup>.

Existe una elevada proporción de pacientes que presentan mielotoxicidad con el tratamiento con tiopurinas a pesar de que el fenotipo y el genotipo de la TPMT sean normales<sup>5</sup>. En este sentido, en un estudio realizado previamente por nuestro grupo, encontramos que ninguno de los pacientes que estaban en tratamiento con tiopurinas presentaba una actividad baja de la TPMT y, por tanto, todos los casos de mielotoxicidad de nuestra cohorte se observaron en pacientes con actividad normal o intermedia del enzima<sup>6</sup>. En otro estudio prospectivo realizado con el objetivo de conocer si la elección de la dosis de tiopurinas basada en la actividad de la TPMT podía prevenir la mielotoxicidad, los autores observaron que, de los cuatro pacientes que presentaban mielotoxicidad, ninguno tenía niveles bajos de actividad de la TPMT (uno tenía un valor intermedio de actividad y tres un valor alto)<sup>7</sup>. Esto sugiere que en ocasiones puede que no sea la TPMT sino otro enzima de la ruta metabólica o con una función no conocida que pueda conferir susceptibilidad a presentar este tipo de toxicidad a los pacientes tratados con este fármaco.

Debido a que la aparición de mielotoxicidad por tiopurinas en pacientes con actividad y genotipo de la TPMT normal es un hecho relativamente frecuente y a que sus repercusiones son clínicamente relevantes, son necesarios estudios que permitan identificar otros factores de susceptibilidad que permitan explicar la aparición de dicho efecto adverso en este grupo de pacientes.

El objetivo de nuestro estudio fue identificar genes que presenten variantes genéticas, concretamente polimorfismos de una base o SNPs (single nucleotide polymorphisms), que puedan estar asociadas a mielosupresión en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en los que esta complicación no se justifique por una actividad enzimática baja ni por una mutación de la TPMT.

## MÉTODOS

Se ha realizado un estudio observacional, multicéntrico, de casos y controles. Se incluyeron pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal de diversos hospita-

les de la Comunidad de Madrid que hubieran presentado mielotoxicidad con el tratamiento con fármacos tiopurínicos y que tuvieran fenotipo y genotipo del enzima TPMT normales.

## PACIENTES

### • CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyeron pacientes mayores de 18 años con capacidad para dar su consentimiento informado, procedentes de hospitales de la Comunidad de Madrid.

**Casos:** pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que hayan presentado mielotoxicidad por el tratamiento con tiopurinas y tengan una actividad y un genotipo de la TPMT normal.

**Controles:** como grupo control se incluyeron pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en tratamiento con tiopurinas, con actividad y genotipo normal de la TPMT, que no hayan tenido mielotoxicidad ni ningún otro efecto adverso asociado al tratamiento con estos fármacos.

### • CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes que tuvieran una actividad baja de la enzima TPMT o que presentaran alguna mutación en el gen que codifica esta enzima.

Pacientes que hubieran presentado algún efecto adverso además de la mielotoxicidad.

## ESTUDIO DEL GENOTIPO Y EL FENOTIPO DE LA TPMT

**Fenotipo de la TPMT:** se midió la actividad de la TPMT por un laboratorio externo mediante el procedimiento habitual, tal y como se ha descrito previamente<sup>7</sup>. Para ello, se extrajo una muestra de sangre venosa en tubo de EDTA de 10 ml, que se conservó a una temperatura entre 2 y 8 °C hasta su traslado.

**Genotipo de la TPMT:** el genotipado de la TPMT se realizó en el Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa. Para su realización se extrajeron 10 mL de sangre venosa en tubo de EDTA. El genotipo de la TPMT se determinó en ADN obtenido de células de sangre periférica mediante reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación de los alelos TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C, \*3D, \*4, \*5, \*6, \*7, \*8, \*9, \*10, \*15, \*16, \*19, \*20 y \*22 (que previamente se han relacionado con un fenotipo de actividad baja del enzima).

## ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO

Inicialmente se realizó un mapeo del genoma de los casos y de los controles mediante arrays de SNPs. El ADN genómico se analizó mediante el panel Illumina OmniExpress Exome BeadChip. Este panel interroga un total de 951.117 SNPs (~660.000 variantes comunes y

~200.000 variantes raras), y los resultados del análisis fueron generados por el Illumina GenomeStudio. Posteriormente se compararon las frecuencias de los SNPs estudiados entre el grupo de casos y el grupo de controles para identificar variantes con diferencias estadísticamente significativas entre ambos y que, por tanto, pudieran tener relación con la aparición de mielotoxicidad.

## DEFINICIONES Y CRITERIOS DE EVALUACIÓN

**Mielotoxicidad:** leucopenia inferior a 3.000 leucocitos/mL, neutropenia inferior a 1.500 neutrófilos/mL o trombopenia inferior a 100.000 plaquetas/mL.

**Fenotipo (actividad) TPMT:** se consideró normal por encima de 13,7 UI/mL.

**Genotipo TPMT:** se consideró que el genotipo de la TPMT era normal si no se identificaron ninguno de los polimorfismos estudiados (TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C, \*3D, \*4, \*5, \*6, \*7, \*8, \*9, \*10, \*15, \*16, \*19, \*20 y \*22), que son responsables de actividad baja del enzima en más del 95% de los casos.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

**Análisis de asociación con SNPs:** se llevó a cabo mediante el paquete estadístico de SNPassoc (SNPs-based whole genome association studies). Se comprobó que las frecuencias de los alelos cumplieran la ley del equilibrio de Hardy-Weinberg (significación de 0,05). Aquellos SNPs que no cumplieron dicha ley fueron excluidos del análisis. Se llevó a cabo la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas entre el grupo de casos y el de controles para cada SNP de manera individual. Se incluyeron en el análisis todas las variables que pudieran estar relacionadas con la aparición de mielotoxicidad. Se estimaron las odds ratios (OR) y los intervalos de confianza (IC 95%) para cada SNP tomando como referencia los homocigotos de la variante alélica más frecuente, según modelos de regresión logística multivariante, ajustando por edad, sexo y otros factores que pudieran influir en la respuesta.

## RESULTADOS

Se incluyeron 93 pacientes, de los cuales 37 (39,8%) eran casos y 56 (60,2%) controles. Las características de los pacientes se resumen en la **Tabla I**; ambos grupos fueron similares con excepción del porcentaje de pacientes en tratamiento con mercaptopurina, que fue superior en el grupo de casos (32,4% vs. 12,5%,  $p=0,02$ ) y la dosis media de azatioprina, que fue significativamente más alta en los controles (2,46 mg/kg/día vs 2,25 mg/kg/día,  $p=0,03$ ).

La media de tiempo en tratamiento con tiopurinas antes de la aparición de mielotoxicidad fue de 27 meses, con una mediana de 12,5 meses y un rango de 0,5 a 148

**TABLA I.- CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO**

VARIABLES	CASOS	CONTROLES	P
Edad (mediana, años)	48,1	44,5	0,3
Sexo femenino (%)	55	66,1	0,3
Tipo de enfermedad inflamatoria intestinal (%)			
Enfermedad de Crohn	67,6	80,4	0,1
Colitis ulcerosa	32,4	19,6	
Tipo de tiopurina (%)			
Azatioprina	67,6	87,5	0,02
Mercaptopurina	32,4	12,5	
Dosis media azatioprina (mg/kg)	2,25	2,46	0,03
Dosis media de mercaptopurina (mg/kg)	1,29	1,4	0,63

meses. Las alteraciones hematológicas más frecuentes en estos pacientes fueron la leucopenia y la neutropenia (**Tablas II y III**).

A pesar de que la mayoría (75,8%) de los pacientes con mielotoxicidad estaban asintomáticos, dos de ellos (5,6%) requirieron ingreso hospitalario por fiebre. En la mayoría de los casos se mantuvo el tratamiento con tiopurinas a pesar de la aparición de la mielotoxicidad (**Tabla IV**), resolviéndose ésta en un 94,5% de los casos con la actitud tomada inicialmente con la dosis de las

tiopurinas (mantenimiento de la misma, disminución o retirada). La mediana de tiempo hasta la resolución de la mielotoxicidad fue de 2 meses (rango 0,1 a 9 meses).

Después de realizar el control de calidad de las muestras, se evaluó mediante un análisis de regresión logística la asociación entre los SNPs y el desarrollo de mielotoxicidad. En el análisis de asociación de exoma completo se identificaron diversos SNPs asociados con el riesgo de mielotoxicidad secundaria al tratamiento con tiopurinas (**Tabla V**). Los SNPs que presentaron una

**TABLA II.- DISTRIBUCIÓN DE LAS ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS EN LOS PACIENTES CON MIELOTOXICIDAD (CASOS)**

ALTERACIÓN	NÚMERO DE PACIENTES	%
Leucopenia	25	69,4
Neutropenia	24	69,4
Plaquetopenia	1	2,9
Anemia	17	47,2

**TABLA IV.- ACTITUD INICIAL CON EL TRATAMIENTO CON TIOPURINAS TRAS LA APARICIÓN DE LA MIELOTOXICIDAD**

	NÚMERO DE PACIENTES	%
Suspensión	14	37,8
Disminución de la dosis	19	51,4
Cambio a otra tiopurina	1	2,7
Sin cambios	3	8,1

**TABLA III.- RESULTADOS DE LA HEMATIMETRÍA EN LOS PACIENTES CON MIELOTOXICIDAD (CASOS)**

	MEDIA	MEDIANA	RANGO
Leucocitos (miles/mm <sup>3</sup> )	2.723	2.700	1.550-5.210
Neutrófilos (miles/mm <sup>3</sup> )	1.363	1.400	700-2.500
Plaquetas (miles/mm <sup>3</sup> )	223.257	200.000	98.000-441.000
Hemoglobina (g/dL)	12,1	12	7,4-16,5

**TABLA V.- POLIMORFISMOS ASOCIADOS CON LA APARICIÓN DE MIELOTOXICIDAD SECUNDARIA AL TRATAMIENTO CON TIOPURINAS EN PACIENTES CON TPMT (GENOTIPO Y FENOTIPO) NORMAL**

SNP	OR	P
1	0,21	8,85 x10 <sup>-5</sup>
2	0,13	8,50 x10 <sup>-5</sup>
3	6,27	6,60 x10 <sup>-5</sup>
4	10,4	6,57 x10 <sup>-5</sup>
5	9,24	1,28 x10 <sup>-4</sup>
6	9,24	1,28 x10 <sup>-4</sup>
7	9,24	1,28 x10 <sup>-4</sup>
8	5,43	1,29 x10 <sup>-4</sup>
9	5,43	1,29 x10 <sup>-4</sup>
10	6,57	1,35 x10 <sup>-4</sup>
11	5,56	1,35 x10 <sup>-4</sup>
12	5,6	1,43 x10 <sup>-4</sup>
13	3,88	1,45 x10 <sup>-4</sup>
14	5,42	1,60 x10 <sup>-4</sup>
15	5,42	1,60 x10 <sup>-4</sup>

SNP, single nucleotide polymorphism; OR, odds ratio

mayor asociación con dicho riesgo fueron los siguientes: SNP 1:  $p=6,5 \times 10^{-5}$ , OR=10,4 (IC95%: 2,5-20,9); SNP 2:  $p=6,6 \times 10^{-5}$ , OR=6,2 (IC95%: 2,4-12); SNP 3:  $p=8,5 \times 10^{-5}$ , OR=0,1 (IC95%: 0,07-0,5); y SNP 4:  $p=8,8 \times 10^{-5}$ , OR=0,2 (IC95%: 0,1-0,4). El SNP con una asociación más fuerte con el desarrollo de mielotoxicidad se localiza próximo a un gen que codifica una enzima importante en la vía metabólica de las tiopurinas.

## DISCUSIÓN

La mielotoxicidad aparece en aproximadamente el 10% de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en tratamiento con tiopurinas, siendo el efecto adverso más importante por su potencial letalidad<sup>1, 5-6</sup>. De hecho, aunque en la mayoría de los casos esta complicación cursa de forma asintomática, puede favorecer la aparición de infecciones<sup>8-9</sup>. En la mayoría de los casos, estas infecciones están producidas por patógenos de la flora habitual y suelen ser oligosintomáticas. Sin embargo, en ocasiones pueden ser muy graves y ocasionar la muerte del paciente. La incidencia acumulada de mortalidad en pacientes con mielotoxicidad inducida por el tratamiento con tiopurinas es del 0,06% y, en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, del 1%<sup>5</sup>. Por ello, es de gran transcendencia identificar aquellos

pacientes con susceptibilidad para presentar mielotoxicidad con estos fármacos.

La TPMT ha sido el enzima más estudiado en relación con la mielotoxicidad asociada al tratamiento con tiopurinas. La TPMT es un enzima clave para la metabolización de los fármacos tiopurínicos. La azatioprina se convierte en mercaptopurina, que puede ser metabolizada mediante metilación a través de la TPMT, oxidada gracias a la xantina oxidasa a ácido tiourico, o catabolizada hacia nucleótidos de la 6-tioguanina a través de la hipoxantina-guanina-fosforribosil transferasa. El efecto de la azatioprina y de la mercaptopurina es consecuencia de su conversión intracelular en 6-tioguanina, ya que este metabolito es el responsable fundamental de la actividad de estos fármacos, a través de su incorporación al ADN y ARN10-14.

Diversos estudios han puesto de manifiesto la correlación entre el fenotipo y/o el genotipo de la TPMT y el riesgo de mielotoxicidad<sup>5</sup>. De este modo, los pacientes homocigotos para el alelo de baja actividad de la TPMT tienen un riesgo aumentado de sufrir mielotoxicidad grave debido al exceso de acumulación de 6-tioguanina, debido a que una cantidad mayor de mercaptopurina es metabolizada por la ruta enzimática de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa. Por ejemplo, algunos investigadores han descrito incidencias de mielotoxicidad de hasta el 100% en los sujetos homocigotos para el alelo de baja actividad, pero de tan sólo el 7% en aquellos con actividad enzimática normal<sup>15</sup>. Otros autores han demostrado que la probabilidad de padecer una deficiencia completa o parcial de actividad de TPMT para esta enzima es más de seis veces mayor entre los pacientes que han sufrido un episodio de mielosupresión en comparación con aquellos que han tolerado el tratamiento con tiopurinas sin problemas<sup>16</sup>. Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en que únicamente en uno de cada cuatro pacientes con mielotoxicidad secundaria a tiopurinas, ésta puede explicarse por alteraciones en la TPMT<sup>17-20</sup>.

Diversos estudios han demostrado que la determinación de la actividad de la TPMT antes de iniciar el tratamiento con tiopurinas es coste-eficaz, ya que serviría para identificar a los pacientes con actividad baja de la TPMT que tendrían un riesgo muy elevado de presentar mielotoxicidad con estos fármacos<sup>21-22</sup>. Sin embargo, de este modo únicamente identificaríamos un 25% de los pacientes susceptibles de presentar mielotoxicidad secundaria a tiopurinas.

En el presente estudio hemos identificado una serie de polimorfismos que se asocian con el riesgo de presentar mielotoxicidad secundaria al tratamiento con tiopurinas en pacientes en los que ésta no puede explicarse por alteraciones en la TPMT. Cabe destacar que el polimorfismo que se asoció de forma más fuerte al riesgo de mielotoxicidad se encuentra localizado próximo a un

gen que codifica uno de los enzimas relevantes en la ruta del metabolismo de las tiopurinas. Estos resultados deben ser validados en una cohorte más amplia de pacientes pero, de confirmarse estos hallazgos, podrían ser de gran utilidad para identificar pacientes con riesgo de desarrollo de mielotoxicidad por tiopurinas.

En conclusión, este estudio de asociación de exoma completo ha permitido la identificación de nuevos SNPs asociados con la aparición de mielotoxicidad secundaria a tiopurinas y TPMT normal, en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. El SNP con la asociación más fuerte podría regular la expresión de un enzima implicado en el metabolismo de las tiopurinas. A pesar de que es necesario validar estos hallazgos en una cohorte de pacientes independiente, estos SNP podrían considerarse marcadores genéticos prometedores para predecir el desarrollo de mielotoxicidad secundaria al tratamiento con tiopurinas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Chaparro M, Ordás I, Cabré E, García V, Bastida G, Peñalva M, et al. Safety of thiopurine therapy in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 3,931 patients. *Inflamm Bowel Dis* 2012; en prensa.
- de Jong DJ, Derijks LJ, Naber AH, Hooymans PM, Mulder CJ. Safety of thiopurines in the treatment of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; Suppl 239:69-72.
- Gisbert JP, Gomollon F, Mate J, Pajares JM. Questions and answers on the role of azathioprine and 6-mercaptopurine in the treatment of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2002 Jun-Jul;25(6):401-15.
- Nielsen OH, Vainer B, Rask-Madsen J. Review article: the treatment of inflammatory bowel disease with 6-mercaptopurine or azathioprine. *Aliment Pharmacol Ther* 2001 Nov;15(11):1699-708.
- Gisbert JP, Gomollon F. Thiopurine-induced myelotoxicity in patients with inflammatory bowel disease: a review. *Am J Gastroenterol* 2008 Jul;103(7):1783-800.
- Chaparro M, Vázquez P, Van Domselaar M, García R, Algaba A, Martínez Montiel P, et al. Thiopurine-induced myelotoxicity in inflammatory bowel disease (IBD): a multicenter study. *Gastroenterology* 2010;138:S688.
- Gisbert JP, Luna M, Mate J, Gonzalez-Guijarro L, Cara C, Pajares JM. Choice of azathioprine or 6-mercaptopurine dose based on thiopurine methyltransferase (TPMT) activity to avoid myelosuppression. A prospective study. *HepatoGastroenterology* 2006 May-Jun;53(69):399-404.
- Connell WR, Kamm MA, Ritchie JK, Lennard-Jones JE. Bone marrow toxicity caused by azathioprine in inflammatory bowel disease: 27 years of experience. *Gut* 1993 Aug;34(8):1081-5.
- Rayner CK, Hart AL, Hayward CM, Emmanuel AV, Kamm MA. Azathioprine dose escalation in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 Jul 1;20(1):65-71.
- Geary RB, Barclay ML. Azathioprine and 6-mercaptopurine pharmacogenetics and metabolite monitoring in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005 Aug;20(8):1149-57.
- Gisbert JP, Gomollon F, Mate J, Pajares JM. Individualized therapy with azathioprine or 6-mercaptopurine by monitoring thiopurine methyl-transferase (TPMT) activity. *Rev Clin Esp* 2002 Oct;202(10):555-62.
- Aberra FN, Lichtenstein GR. Review article: monitoring of immunomodulators in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005 Feb 15;21(4):307-19.
- Al Hadithy AF, de Boer NK, Derijks LJ, Escher JC, Mulder CJ, Brouwers JR. Thiopurines in inflammatory bowel disease: pharmacogenetics, therapeutic drug monitoring and clinical recommendations. *Dig Liver Dis* 2005 Apr;37(4):282-97.
- Gisbert JP, González-Lama Y, Mate J. Monitoring of thiopurine methyltransferase and thiopurine metabolites to optimize azathioprine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2006 Nov;29(9):568-83.
- Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro RC, Krynetski EY, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* 1999 Dec 1;91(23):2001-8.
- Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol* 2001 Apr 15;19(8):2293-301.
- Gisbert JP, Luna M, Mate J, Gonzalez-Guijarro L, Cara C, Pajares JM. Thiopurine methyltransferase activity and myelosuppression in inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Med Clin (Barc)* 2003 Jun 7;121(1):1-5.
- Gilissen LP, Derijks LJ, Driessen A, Bos LP, Hooymans PM, Stockbrugger RW, et al. 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 Feb;39(2):156-9.
- De Ridder L, Van Dieren JM, Van Deventer HJ, Stokkers PC, Van der Woude JC, Van Vuuren AJ, et al. Pharmacogenetics of thiopurine therapy in paediatric IBD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006 Apr 15;23(8):1137-41.
- Kader HA, Mascarenhas MR, Piccoli DA, Stouffer NO, Baldassano RN. Experiences with 6-mercaptopurine and azathioprine therapy in pediatric patients with severe ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999 Jan;28(1):54-8.
- Winter J, Walker A, Shapiro D, Gaffney D, Spooner RJ, Mills PR. Cost-effectiveness of thiopurine methyltransferase genotype screening in patients about to commence azathioprine therapy for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 Sep 15;20(6):593-9.
- Dubinsky MC, Reyes E, Ofman J, Chiou CF, Wade S, Sandborn WJ. A cost-effectiveness analysis of alternative disease management strategies in patients with Crohn's disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. *Am J Gastroenterol* 2005 Oct;100(10):2239-47.