

UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas



**ASOCIACION DE EFECTOS ADVERSOS AL TRATAMIENTO DE
MERCAPTOPURINAS CON POLIMORFISMOS GENETICOS DE LA
ENZIMA TPTM EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA
TRATADOS EN EL HOSPITAL DR. LUIS CALVO MACKENNA.**

Tesis para optar al título de Química Farmacéutica

CRISTINA CANALES LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Mauricio Farfán

Centro de estudios moleculares

Depto. de Pediatría Oriente

Facultad de Medicina

Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna

Universidad de Chile

PROFESOR PATROCINANTE:

Dra. Daniela Seelenfreund

Laboratorio de Bioquímica

Depto. de Bioquímica y Biología

Molecular.

Facultad de Ciencias Químicas y

Farmacéuticas.

Universidad de Chile

Santiago, Chile

Agosto, 2012

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, por no descansar en su tarea de hacer de sus hijas personas de bien, correctas y felices, por su amor incondicional, su apoyo, comprensión, paciencia y ánimos. A mi querida hermana menor, Vicky, por ser mi compañera, cuidarme siempre y por agregar humor a cada situación. A mi padre por cumplir su promesa y estar siempre a mi lado siendo el mejor amigo y por supuesto a mi mami, por consentirme como la mejor abuela y por su confianza en todos mis proyectos.

Al Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna y en especial a mi director de tesis, Mauricio Farfán, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de este trabajo, pero sobre todo por la motivación que recibí para seguir adelante en los momentos de flaqueza. A mis amigas del Centro de estudios moleculares y del laboratorio de microbiología del hospital, Alejandra, Lorena, Joselyn, Gloria y Victoria siempre presentes, enseñándome el valor de pertenecer a un equipo y aportando gran alegría a mis días, sin duda lo que más extrañaré serán nuestras tazas de café luego del almuerzo.

A mis amigos de la universidad, Jimena y Carlos, porque cada uno complementa al otro con su personalidad y ese complemento me acompañó durante todos estos años, los quiero mucho y les deseo todo el éxito y felicidad que sean capaces de alcanzar. A Boris, por ser un buen amigo, por decir y hacer lo necesario, por escuchar siempre y por dejarme aprender junto a el.

Finalmente, gracias a todos los que me acompañaron desde el principio y a los que se unieron al final de esta etapa, sin ustedes no hubiera sido posible.

INDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	<i>ii</i>
INDICE GENERAL	<i>iii</i>
INDICE DE FIGURAS	<i>v</i>
INDICE DE TABLAS	<i>vi</i>
ABREVIATURAS	<i>vii</i>
I. RESUMEN	<i>viii</i>
II. ABSTRACT	<i>ix</i>
III. INTRODUCCIÓN	1
IV. HIPÓTESIS	10
V. OBJETIVOS	10
V.1. Objetivo general	10
V.2. Objetivos específicos	10
VI. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS	11
VI.1. Diseño global de estudio	11
VI.2. Población de estudio	11
VI.3. Obtención de datos clínicos	12
VI.4. Obtención de datos de laboratorio	12
VI.5. Determinación de toxicidad hematológica y hepática	12
VI.6. Correlación entre la presencia de polimorfismos de la enzima TPMT, la disminución de dosis de 6-MP y toxicidad asociada a su uso.	13

VII. RESULTADOS	14
VII.1. Pacientes incluidos en el estudio	14
VII.2. Análisis de toxicidad hematológica asociada a polimorfismos en el gen <i>TPMT*1</i> y el uso de 6-MP	17
VII.3. Análisis de toxicidad hepática asociada a polimorfismos en el gen <i>TPMT*1</i> y el uso de 6-MP	17
VII.4. Asociación de la dosificación de 6-MP y polimorfismos en el gen <i>TPMT*1</i>	18
VIII. DISCUSIÓN	21
IX. CONCLUSIONES	26
X. BIBLIOGRAFIA	27

INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Representación esquemática del metabolismo de 6-MP	4
Figura 2	Polimorfismos en el gen <i>TPMT*1</i>	8
Figura 3	Pacientes integrados al estudio	15
Figura 4	Dosis diaria de 6-MP durante el periodo de mantención en pacientes con y sin alelo mutado del gen <i>TPMT*1</i>	22
Figura 5	Dosis acumulada de 6-MP durante el periodo de mantención en pacientes con y sin alelo mutado del gen <i>TPMT*1</i>	23

INDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Presencia de toxicidades en los pacientes integrados al estudio	13
Tabla 2	Características demográficas de los pacientes integrados	14
Tabla 3	Frecuencias genotípicas de las variantes del gen <i>TPMT*1</i> de los pacientes integrados	16
Tabla 4	Frecuencias alélicas para las variantes del gen <i>TPMT*1</i>	17
Tabla 5	Actividad TPMT en pacientes que presentan polimorfismo en el gen <i>TPMT*1</i>	17
Tabla 6	Parámetros hematológicos durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen <i>TPMT*1</i>	18
Tabla 7	Parámetros hepáticos durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen <i>TPMT*1</i>	19
Tabla 8	Dosis de 6-MP durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen <i>TPMT*1</i>	21
Tabla 9	Frecuencias alélicas para las variantes del gen <i>TPMT*1</i> en distintos grupos étnicos o poblaciones	25

ABREVIATURAS

6-MP	:6-Mercaptopurina
6-TX	:Tioxantina
6-tio-ITP	:Tioinosina Trifosfato
6-TU	:Ácido Tioúrico
ADN	:Ácido desoxirribonucleico
BFM	:Berlin Frankfurt Münster
GGT	:Gamma glutamil transpeptidasa
GMPS	:Guanosina monofosfato sintetasa
GOT	:Transaminasa Glutámico oxalato (<i>Glutamic oxalate transaminase</i>)
GPT	:Transaminasa Glutámico pirúvica (<i>Glutamic pyruvic transaminase</i>)
HGF	:Hospital Gustavo Fricke
HLCM	:Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna
HPRT	:Hipoxantina fosforribosil transferasa (<i>Hypoxanthine phosphoribosyl transferase</i>)
IMDPH	:Inosina monofosfato deshidrogenasa
ITPA	:Inosina trifosfato pirofosfohidrolasa.
kDa	:kiloDalton
LLA	:Leucemia linfoblástica aguda
pb	:Pares de bases
PINDA	:Programa Infantil de Drogas Antineoplásicas
RAN	:Recuento absoluto de neutrófilos
SJCRH	: <i>St. Jude Children`s Research Hospital</i>
TGN	:Nucleótidos de tioguanina
TIMP	:Tioinosina Monofosfato
TPMT	:Tiopurina s-metiltransferasa
uL	:microlitro
XO	:Xantina oxidasa

I. RESUMEN

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es la neoplasia más común en niños, siendo la 6-mercaptopurina (6-MP) una droga que cumple un rol fundamental para el tratamiento de esta neoplasia. Sin embargo, se han asociado al uso de esta droga una serie de efectos adversos. La presencia de polimorfismos presentes en genes que codifican enzimas involucradas en su metabolización, aparece como una de las principales causantes de los efectos adversos a 6-MP. Uno de los polimorfismos involucrados en el metabolismo de la 6-MP, corresponde a aquellos presentes en el gen *TPMT*1* que codifica la enzima Tiopuril S-metiltransferasa (TPMT). Se han asociado a diversos polimorfismos en este gen, la presencia de concentraciones plasmáticas tóxicas de nucleótidos de tioguanina (TGNs), un metabolito de la 6-MP, aumentando el riesgo de desarrollar eventos adversos durante la terapia, lo que conduce al abandono o suspensión de la terapia, obligando a controlar o reducir las dosis recibidas de 6-MP en pacientes que presentan algún polimorfismo en el gen *TPMT*1*.

El conocimiento de la prevalencia de este polimorfismo y su efecto en el tratamiento de la LLA ha permitido el desarrollo de una farmacogenética efectiva, mejorando sustancialmente la calidad de vida de los pacientes durante el tratamiento. Estudios previos de nuestro grupo permitieron encontrar la presencia de polimorfismos en el gen TPMT en un 8% de una población de 103 niños chilenos con LLA. En este trabajo se analizó la relación existente entre la presencia de polimorfismo en el gen *TPMT*1* con los efectos adversos y la disminución de la dosis de 6-MP durante el periodo de mantención en el tratamiento de la LLA.

El análisis de 35 pacientes con LLA atendidos en el Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna muestra que se administra una dosis significativamente menor de 6-MP durante el periodo de mantención en los niños con LLA que presentan un alelo polimórfico del gen *TPMT*1*. Los resultados obtenidos apoyan el uso de una farmacogenética efectiva para el tratamiento de la LLA en nuestro país.

II. SUMMARY

Association of adverse reactions to mercaptopurine in children with acute lymphoblastic leukemia with TPMT genetic polymorphisms with treated at the Dr. Luis Calvo Mackenna Hospital.

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy in children. The drug 6-mercaptopurine (6-MP) plays a fundamental role in the treatment of this malignancy. However, a number of side effects have been associated with the use of this drug. The presence of polymorphisms in genes encoding enzymes involved in its metabolism, appears as a major cause of adverse effects of 6-MP. Several of the polymorphisms involved in the metabolism of 6-MP corresponds to those present in the gene encoding the *TPMT*1* enzyme, Thiopuril S-methyltransferase (TPMT). Some of these have been associated with the presence of toxic plasma concentrations of thioguanine nucleotides (TGNs), metabolites of 6-MP. These metabolites increase the risk of adverse events during therapy, leading to the abandonment or suspension of therapy, and demand an increased control of 6-MP doses in patients with a polymorphism of this gene.

Knowledge of the prevalence of this polymorphism and its effect on the treatment of ALL has allowed the development of an effective pharmacogenetic approach, substantially improving the quality of life of patients during treatment. Previous studies from our group found polymorphisms in the TPMT gene in 8% of a population of 103 Chilean children with ALL. In this work we analyzed the relationship between the presence of one polymorphism of the *TPMT*1* gene with the side effects and the decrease of the 6-MP dose during the treatment of ALL and the decrease of the 6-MP dose during maintenance treatment of ALL. The analysis of 35 patients with ALL treated at the Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna shows that there is a significant decrease in the dose of 6-MP during maintenance in children with ALL with a polymorphic allele of the *TPMT*1* gene. The results support the use of an effective pharmacogenetics strategy for the treatment of ALL in our country.

III. INTRODUCCIÓN

Leucemia Linfoblástica Aguda

Las leucemias agudas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la expansión clonal, rápida y descontrolada de las células progenitoras del sistema hematopoyético (Noronha y cols., 2011). Estas células leucémicas invaden la médula ósea y se diseminan a la sangre periférica, bazo, ganglios y el resto de los tejidos haciéndose clínicamente detectable (Hematología: Fisiología y Diagnóstico, 2005). Los pacientes que presentan esta neoplasia pueden presentar cuadros casi asintomáticos hasta muy graves como hemorragias, anemia, neutropenia y trombocitopenia. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en niños y corresponde a un tercio de los casos de cáncer infantil en todo el mundo (Wall y Rubnitz, 2003). En nuestro país se muestra una tendencia semejante con aproximadamente 110 casos de LLA nuevos al año (Guía clínica. Leucemia en menores de 15 años, 2010). El origen de esta enfermedad aún es desconocido, sin embargo, se asocia a factores genéticos y ambientales tales como la exposición a radiación ionizante, algunos químicos (benceno o pesticidas) y agentes alquilantes.

Tratamiento de la LLA

En Chile, el tratamiento de la LLA está protocolizado por el Programa Infantil de Drogas Antineoplásicas (PINDA). Actualmente el PINDA integra una red de 13 centros hospitalarios en todo el país con 30 protocolos activos para neoplasias en menores de 15 años (Campbell, 2005). Para el tratamiento de la LLA, se han descrito varios protocolos, siendo el protocolo del grupo alemán BFM (Berlin-Frankfurt-Münster) el que se utiliza actualmente en los centros hospitalarios de Chile. Este protocolo tiene una duración de 104 semanas y divide el tratamiento de la LLA en tres etapas fundamentales: inducción a la remisión, consolidación o intensificación y mantención o continuación (Protocolo PINDA, 2005).

La etapa de inducción está destinada a destruir las células leucémicas de la sangre y médula ósea para poner a la enfermedad en remisión. En este periodo se utilizan corticoides, antraciclinas, alquilantes, vincristina, asparaginasa, entre otros. La etapa de consolidación o intensificación comienza una vez que la leucemia entra en remisión y su finalidad es destruir las células malignas restantes que pueden causar una recaída. En esta fase del tratamiento, se utilizan fármacos como la citarabina, altas o medianas dosis de metotrexato, más una etapa de reinducción con drogas similares a la inducción durante 6 meses. En la etapa de mantención se utiliza 6-MP y metotrexato oral hasta completar 104 semanas de tratamiento y obtener la destrucción de toda célula leucémica restante. En el caso de recaídas, se utilizan protocolos intensificados diseñados especialmente para esta situación (Protocolo PINDA, 2005; Guía clínica. Leucemia en menores de 15 años, 2010).

Actualmente el 80% de los pacientes con LLA se curan gracias al tratamiento de esta enfermedad con la quimioterapia combinada. El éxito del tratamiento se atribuye en parte a los meses de mantención para prolongar la remisión obtenida durante la etapa inicial del tratamiento. Un aumento adicional en la tasa de supervivencia depende de la reducción de la toxicidad relacionada con las drogas, lo que resulta en una menor interrupción de la quimioterapia y un menor número de recaídas de la enfermedad (Beaumais y cols., 2011).

6-MP en el tratamiento de la LLA y su mecanismo de acción

El tratamiento con 6-MP tiene un rol fundamental en todas las etapas del tratamiento de la LLA y se utiliza casi exclusivamente junto al metotrexato en la terapia de mantención (Beaumais y cols., 2011). En general, la terapia de mantención tiene una duración de 57 a 74 semanas, donde todos los pacientes reciben igual terapia oral compuesta por 50 mg/m²/día de 6-MP, 20 mg/m² una vez a la semana y 6 a 12 mg de metotrexato intratecal comenzando en la semana 4 para los pacientes estratificados en riesgo estándar o intermedio.

La 6-MP es un profármaco análogo de purina que requiere activación intracelular de la Hipoxantina Fosforribosil Transferasa (HPRT) para ejercer su efecto farmacológico. Esta enzima convierte a la 6-MP en tioinosina monofosfato (TIMP) y consecutivamente TIMP se convierte en Tioguanosina Monofosfato a través de dos pasos que involucran a las enzimas Inosina Monofosfato Deshidrogenasa (IMDPH) y Guanosina Monofosfato Sintetasa (GMPS), (Figura 1). Este proceso es competitivo con la metilación por la Tiopurina Metil Transferasa (TPMT) la cual convierte a la 6-MP en el compuesto inactivo metil-mercaptopurina y además metaboliza tioinosina monofosfato en metil-tioinosina monofosfato, que es capaz de inhibir la síntesis *de novo* de purinas. Otra de las enzimas claves en el metabolismo de la 6-MP es la enzima ITPA (Inosina Trifosfato Pirofosfohidrolasa), cuya función es evitar la acumulación de inosina trifosfatos (6-tio-ITP). Además la enzima Xantina Oxidasa (XO) oxida a la 6-MP a 6-tioxantina (6-TX) y subsecuentemente a ácido 6-tiúrico (6-TU).

El efecto antileucémico de la 6-MP está relacionado con interferir con la actividad de las enzimas en el procesamiento del ADN dado por cambios en la estructura de la cadena de ADN después de la incorporación de los nucleótidos de tioguanina (TGNs) (Stocco y cols., 2009). La figura 1 detalla esquemáticamente el metabolismo de la 6-MP.

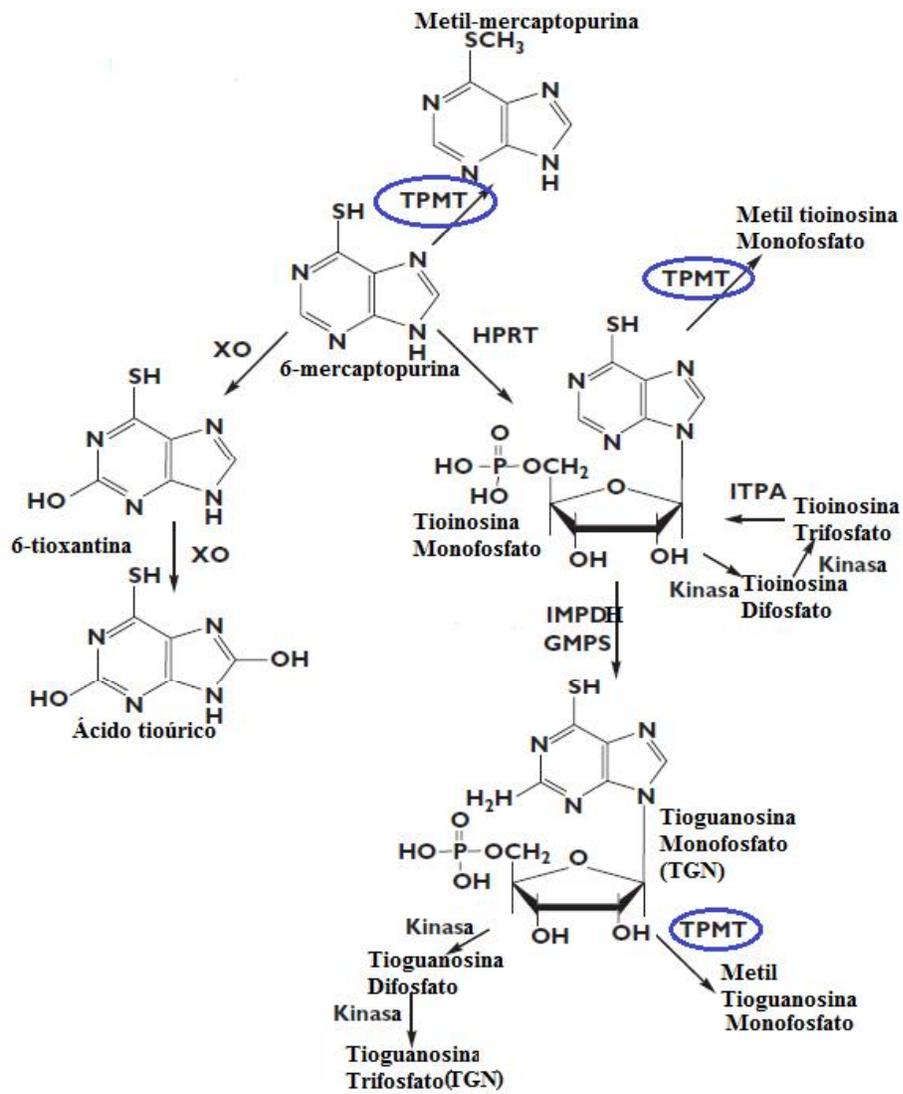


Figura 1: Representación esquemática del metabolismo de 6-MP (Adaptado de Hawwa y cols., 2008)

Toxicidad asociada a la 6-MP en el tratamiento de la LLA

A pesar de los buenos resultados obtenidos con el uso de la 6-MP se han descrito diversos efectos adversos asociados a este fármaco. Los efectos adversos más comunes son la mielotoxicidad la cual se expresa como leucopenia (recuento de leucocitos $<3000/\text{mm}^3$), neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos $<1500/\text{mm}^3$) y trombocitopenia (recuento de plaquetas $<75.000/\text{mm}^3$). Además, se ha descrito hepatotoxicidad por uso de 6-MP asociada a un aumento de las enzimas hepáticas transaminasa glutámico oxalacética (GOT), transaminasa glutámico-pirúvica (GPT) y gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), ya sea 3 veces el valor normal de dos de ellas o un aumento de 5 veces el valor normal de una de estas enzimas y/o un aumento de la bilirrubina en 2,5 veces su valor normal. También se incluyen efectos secundarios gastrointestinales como presencia de anorexia, vómitos, diarrea, dolor abdominal o mucositis y otros efectos secundarios como erupciones fotosensibles, fiebre y neurotoxicidad. (Hawwa y cols., 2008; Evans y cols., 2001; NCI. Common Terminology Criteria for Adverse Events, 2006).

Los efectos tóxicos al tratamiento con 6-MP se han asociado a la presencia de altos niveles de metabolitos de 6-MP circulantes, siendo los nucleótidos de tioguanina (TGN), responsables del efecto citotóxico del fármaco. Numerosos estudios han establecido que estos niveles tóxicos de metabolitos de 6-MP se relacionan directamente con la actividad de la enzima TPMT la cual genera un equilibrio entre los TGN y la metil-mercaptopurina. Se ha descrito una variabilidad en este equilibrio asociada principalmente a polimorfismos en el gen que codifica la enzima TPMT, pudiéndose diferenciar individuos con actividad enzimática baja, intermedia y normal. (Beumais y cols., 2011; Zhou., 2006). Estos antecedentes, sugirieron la necesidad de adaptar el tratamiento al individuo con el fin de limitar la toxicidad relacionada con este fármaco y mejorar la terapia de estos pacientes.

Farmacogenética en el tratamiento de la LLA

El estudio de las variantes genéticas y su asociación con el tratamiento farmacológico, o farmacogenética, ha permitido modificar y optimizar terapias farmacológicas de acuerdo a polimorfismos presentes en cada individuo (Colombres, 2008). En este sentido, la farmacogenética ha mostrado un nuevo horizonte en el tratamiento del cáncer, ya que busca identificar la respuesta farmacológica individualizada (farmacocinética y farmacodinamia) según el genotipo, antes de la administración de un fármaco, dando una guía para la individualización de la quimioterapia, reduciendo de esta forma la toxicidad y aumentando la eficacia del tratamiento (Cheok y Evans, 2006).

La presencia de polimorfismos genéticos en el gen que codifica la enzima TPMT entrega uno de los ejemplos más significativos en cuanto a la concentración de fármacos y sus efectos adversos. Se ha establecido que la enzima TPMT disminuye la cantidad disponible de 6-MP para la conversión a TGN, por lo que la actividad de TPMT está relacionada inversamente a los niveles de metabolitos activos de 6-MP. Esta relación inversa es importante para la eficacia y seguridad del tratamiento debido a que pacientes con una actividad funcional deficiente de TPMT convertirán una fracción de la 6-MP en 6-MMP con una producción aumentada de TGNs, debiendo disminuir la dosis de 6-MP, con respecto a pacientes que presenta una actividad normal de la enzima TPMT (Sahasranaman, 2008). En la actualidad, la enzima TPMT es considerada de actividad altamente variable y polimórfica, observándose que un 90% de la población tiene una actividad normal, el 10% una actividad intermedia y un 0,3% presenta una actividad baja o indetectable (Dong y cols., 2010).

La enzima TPMT está codificada por el gen *TPMT*1* localizado en el cromosoma 6p22.3. Consta de 10 exones y 9 intrones en un segmento de ADN de alrededor de 3000 pb. Esta enzima está compuesta de 245 aminoácidos con una masa molecular de 35 kDa (Zhou, 2006). Hasta la fecha, se han descrito 29 variantes polimórficas del gen *TPMT*1*, de ellas, los polimorfismos *TPMT*2*, *TPMT*3A* y *TPMT*3C*, son los más prevalentes, correspondiendo a cerca del 90% de los polimorfismos descritos para esta enzima (Evans y cols., 2001; Feng y cols., 2010).

La variante *TPMT*2* corresponde a una transversión $G^{238} \rightarrow C$, que causa la sustitución Ala80Pro. La variante *TPMT*3A* contiene dos transiciones, $G^{460} \rightarrow A$ y $A^{719} \rightarrow G$, que resultan en las sustituciones Ala154Thr y Tyr240Cys, respectivamente. Para el alelo *TPMT*3B* se observa sólo la transición $G^{460} \rightarrow A$ (Ala154Thr) (Alvares y cols.,2009).

Dado que el gen *TPMT*1* se hereda como un rasgo autosómico codominante, estos polimorfismos se traducen en enzimas TPMT con actividad normal, intermedia y baja. Las enzimas TPMT polimorfismórficas se someten rápidamente a proteólisis y como consecuencia de esto, los pacientes heterocigotos sólo tienen la mitad del pool enzimático disponible para una desintoxicación celular de 6-MP. Esto explica por qué los pacientes con un genotipo TPMT que presentan un polimorfismo producen altos niveles plasmáticos de TGNs al recibir terapia con 6-MP con respecto a los pacientes con un genotipo silvestre. La figura 2 representa esquemáticamente los polimorfismos más comunes en el gen *TPMT*1* y su efecto en la actividad de la enzima que codifica.

Polimorfismos de la enzima TPMT y el tratamiento de la LLA

Un estudio de Relling y cols. (1999) comparó la tolerancia a la 6-MP en 180 pacientes y mostró que los pacientes tratados con 6-MP que tienen una deficiencia homocigota o heterocigota en el gen *TPMT*1* generan toxicidades con el uso de este fármaco por resultado de las altas concentraciones de TGNs. Esto demostró que los polimorfismos en el gen *TPMT*1* tienen una influencia significativa en la tolerancia del tratamiento con 6-MP en la LLA. Comparando con las dosis usuales de 6-MP administradas a los pacientes con una actividad normal de la enzima TPMT, se demostró que los pacientes heterocigotos requieren dosis menores de 6-MP y que es necesaria una reducción de un 85 a 90% de la dosis de 6-MP en pacientes mutantes homocigotos comparados con pacientes con genotipo silvestre, debido a la toxicidad por los altos niveles de TGNs producidos por la actividad disminuida de TPMT en pacientes que presentan polimorfismos en el gen *TPMT*1* (Wall y cols. 2003).

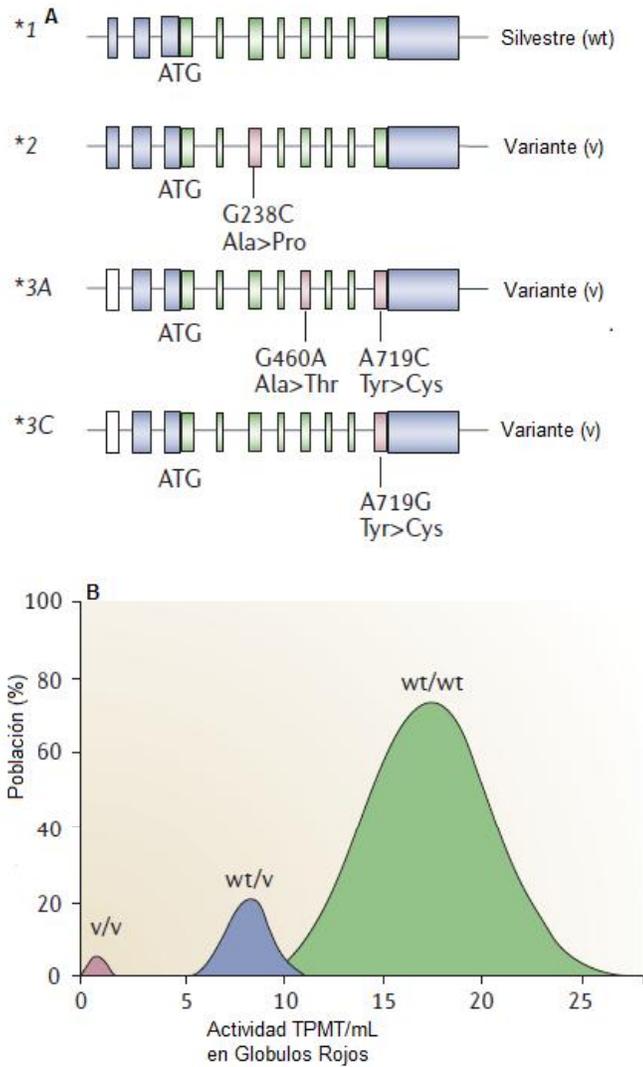


Figura 2: Polimorfismos en el gen *TPMT*1*. **A.** Gen *TPMT*1* silvestre y sus 3 polimorfismos predominantes (*TPMT*2*, *TPMT*3A*, *TPMT*3C*). **B.** Relación de los genotipos del gen *TPMT*1* con la actividad enzimática en la población (Adaptado de Cheek y Evans. 2006).

Complementariamente, los estudios de Evans y cols. (2001) demostraron que los pacientes que desarrollan toxicidad hematológica dosis-dependiente al tratamiento con 6-MP tienen una deficiencia significativa en la actividad de la enzima TPMT o una mutación del gen *TPMT*1*. Sin embargo, con un ajuste de dosis apropiado los pacientes con enzimas TPMT con actividad disminuida pueden ser tratados con 6-MP sin presentar esta toxicidad dosis-dependiente.

Previamente en nuestro laboratorio, se determinó la frecuencia de los polimorfismos más comunes del gen *TPMT*1* en 103 pacientes con LLA en tratamiento en los hospitales Dr. Luis Calvo Mackenna y Dr. Gustavo Fricke, encontrándose que un 8% (8/103) de los pacientes analizados presentan algunos de los polimorfismos más comunes para el gen *TPMT*1* (Salas, 2010). Específicamente, se encontraron variantes en condición heterocigota para *TPMT*3A* (7%) y *TPMT*3C* (1%), sin hallar variantes *TPMT*2*, *TPMT*3B* ni variantes polimórficas en condición homocigota.

Si bien se ha estudiado la influencia clínica de estos polimorfismos con los efectos adversos de la terapia con 6-MP tales como hepatotoxicidad, toxicidad hematológica o la disminución de dosis de 6-MP, en Chile aún no se establece una consecuencia clínica de los polimorfismos de la TPMT en la terapia de la LLA. Además, la determinación de los polimorfismos del gen *TPMT*1* en los protocolos de tratamiento de la LLA aún no se han estudiado. Este estudio pretende establecer una relación entre los polimorfismos previamente identificados con los efectos adversos hematológicos, hepáticos y las dosis de 6-MP utilizadas en pacientes con LLA, con el objetivo de apoyar el desarrollo e implementación de una farmacogenética efectiva a futuro para los pacientes con LLA. De este modo se podrán evitar o manejar los posibles efectos adversos asociados al tratamiento con 6-MP, optimizando las dosis de 6-MP y maximizando la calidad de vida de los niños con esta enfermedad durante el tratamiento.

IV. HIPOTESIS

Los polimorfismos en genes que codifican la enzima TPMT en niños con LLA, se asocian a hepatotoxicidad, hematotoxicidad y a una disminución de la dosis de 6-MP durante la terapia de mantención.

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo General

Analizar la asociación entre la presencia de polimorfismos en la enzima TPMT con la hepatotoxicidad, hematotoxicidad y las dosis de 6-MP en niños en tratamiento de LLA en el Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna bajo protocolo PINDA.

V.2. Objetivos Específicos

1. Determinar la dosis recibida de 6-MP y la duración de la terapia de mantención en niños con LLA en tratamiento bajo protocolo PINDA.
2. Determinar la toxicidad hematológica y hepática en la terapia de mantención.
3. Analizar la asociación entre la presencia de los polimorfismos en el gen *TPMT**1 con la dosis y toxicidad asociadas al tratamiento con 6-MP.

VI. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Diseño global del estudio.

Este es un estudio observacional y retrospectivo de una cohorte de niños chilenos con LLA de un estudio previo en el cual se les determinó la presencia de polimorfismos en el gen *TPMT*1*. Se obtuvo las dosis acumulada y diaria de 6-MP y las toxicidades hepáticas y hematológicas durante la etapa de mantención del tratamiento PINDA de las fichas clínicas de estos pacientes, de modo de estudiar la asociación entre los polimorfismos del gen *TPMT*1* y las dosis de 6-MP.

VI.2. Población de estudio.

En el estudio previo en nuestro laboratorio se enrolaron a 103 pacientes pediátricos con LLA diagnosticada que se encontraban en cualquiera de las etapas del tratamiento quimioterápico bajo protocolo PINDA en los Hospitales Dr. Luis Calvo Mackenna y Dr. Gustavo Fricke. Para el ingreso a este estudio la madre, el padre o el tutor del paciente firmaron un consentimiento y asentimiento informado aprobado por el Comité de ética científico pediátrico del Servicio de Salud Metropolitano Oriente y el Comité de ética científico del Hospital Dr. Gustavo Fricke.

Del total de 103 pacientes reclutados anteriormente, en este estudio se analizaron las fichas clínicas de pacientes pediátricos con diagnóstico de LLA de acuerdo a los siguientes criterios de selección.

Criterios de selección:

- Pacientes con LLA atendidos en el Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna
- Pacientes que terminaron la etapa de mantención del tratamiento de LLA
- Pacientes con acceso a fichas clínicas y datos de exámenes de laboratorio clínico
- Pacientes sin comorbilidad durante el tratamiento de LLA

VI.3. Obtención de datos clínicos.

Se obtuvieron los siguientes datos de las fichas clínicas de los pacientes incluidos en el estudio: género, edad, riesgo, inmunofenotipo, recaída/muerte, dosis diaria de 6-MP (mg/día/m²) y duración de la etapa de mantención (meses).

Para obtener la dosis diaria de 6-MP se consideró la duración de la etapa de mantención en días descontando los días de suspensión del tratamiento, y se dividió la dosis total acumulada de 6-MP por la cantidad de días que comprende este periodo.

VI.4. Obtención de datos de laboratorio.

Se obtuvieron los siguientes datos del sistema integrado de laboratorios clínicos Syslab®: Recuento de leucocitos (mil/mL), recuento de plaquetas (mil/mL), porcentaje de neutrófilos, recuento absoluto de neutrófilos (RAN), GOT (U/L), GPT (U/L), GGT (U/L), creatinina (mg/dL), bilirrubina total (mg/dL) y bilirrubina directa (mg/dL). Se determinó el promedio, desviación estándar y medianas de los resultados de los exámenes clínicos durante la etapa de mantención.

VI.5. Determinación de toxicidad hematológica y hepática.

Se confeccionó una tabla de datos con los promedios, desviación estándar y medianas de los datos clínicos y de laboratorio que se obtuvieron durante la fase de mantención de los pacientes integrados al estudio. Luego se identificaron los efectos adversos presentes durante la terapia asociados a toxicidad mediada por 6-MP en el periodo de mantención. Los criterios de toxicidad se evaluaron de acuerdo a la guía de la "National Cancer Institute common terminology criteria for adverse events v3.0" (NCI. 2006) y se confeccionó una tabla adaptada a la realidad de los pacientes. La tabla 2 muestra los criterios para determinar la toxicidad y efectos adversos clínicos incluidos en el estudio.

Tabla 1: Presencia de toxicidad en los pacientes incluidos en el estudio. *Adaptado de NCI 2006*

TOXICIDAD	EVENTO ADVERSO	CRITERIO
HEMATOLOGICA	Baja en el recuento de leucocitos	< 3000/ mm ³ BLN*
	Baja en cuenta absoluta de neutrófilos (RAN)	< 1500/ mm ³ BLN
	Baja en cuenta de plaquetas	<75.000/ mm ³ BLN
HEPÁTICA	Aumento de bilirrubina	>1.5 x SLN**
	Aumento de GOT y GPT	GOT>177 U/L + GPT>216 U/L GOT>295 U/L y/o GPT> 360 U/L

*BLN: Bajo el límite de la normalidad, **SLN: sobre el límite de la normalidad

VI.6. Correlación de la presencia de polimorfismos de la enzima TPMT y la disminución de dosis de 6-MP y toxicidades asociadas a su uso.

Los resultados de los polimorfismos genéticos se ingresaron a una planilla Excel ® confeccionada para este estudio y se asoció la presencia de los polimorfismos a la toxicidad hematológica, hepática y disminución de dosis de 6-MP o menor dosis acumulada de 6-MP durante la fase de mantención. Para comparar los parámetros o variables clínicas y de laboratorio entre los dos grupos estudiados se utilizó el test de Mann-Whitney, de acuerdo a la distribución no paramétrica de los datos. Se consideró un valor de $p < 0,05$ como diferencia estadística significativa. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SigmaPlot, bajo la supervisión de un profesional bioestadístico.

VII. RESULTADOS

VII.1. Pacientes incluidos en el estudio

De acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, de los 103 pacientes con LLA del estudio de prevalencia de polimorfismos en el gen *TPMT*1*, se pudo acceder a los datos clínicos de 89 pacientes pertenecientes del HLCM. De estos pacientes, 57 terminaron la etapa de mantención. Para analizar los datos clínicos y de laboratorio, se realizó la búsqueda de las fichas clínicas de estos pacientes, pudiendo analizar 35 pacientes. De los 22 pacientes a los que no fue posible acceder a los datos clínicos, en 18 pacientes no se tuvo acceso a las fichas clínicas y en 4 pacientes no se encontraron los resultados de exámenes de laboratorio clínico. La figura 3 resume lo descrito anteriormente y la tabla 3 muestra las características demográficas de los 35 pacientes incluidos en el estudio.

Tabla 2: Características demográficas de los pacientes integrados al estudio.

Característica	Valor
Edad al momento del diagnóstico (años)	6,88 ± 4,02 ¹ (1-16 años)
Género	
Femenino	14 (40%)
Masculino	21 (60%)

⁽¹⁾Valores representados como promedio, ±DS y %.

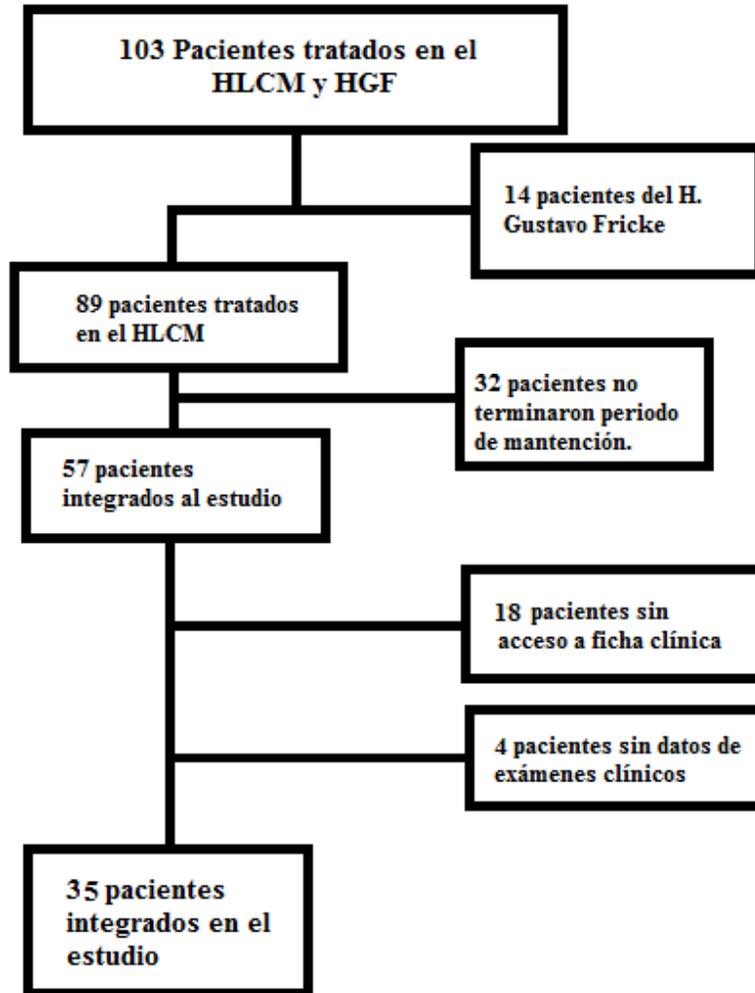


Figura 3. Pacientes integrados al estudio.

De los 35 pacientes, 5 presentan uno de los polimorfismos en el gen *TPMT*1*, específicamente el polimorfismo *TPMT*3A* de forma heterocigota (wt/mt). Los 30 pacientes restantes son homocigotos silvestres (wt/wt). La tabla 4 muestra en detalle el tipo de polimorfismo encontrado y la tabla 5 muestra la frecuencia alélica de las variantes del gen *TPMT*1*. De los 5 pacientes que presentan uno de los polimorfismos en el gen *TPMT*1*, 4 presentaron una actividad TPTM significativamente menor (Salas, datos no publicados), donde la mediana de la actividad de TPMT de los pacientes con genotipo polimórfico integrados en este estudio fue de $11,25 \pm 1,28$ (U/mL glóbulos rojos). La tabla 6 muestra en detalle la actividad de la TPMT en los pacientes que presentaron un polimorfismo en el gen *TPMT*1*.

Tabla 3: Frecuencias genotípicas de las variantes del gen *TPMT*1* de los pacientes integrados.

GENOTIPO	NÚMERO PACIENTES	FRECUENCIA (%)
	(n=35)	
<i>TPMT*1 / TPMT*1</i>	30	85 %
<i>TPMT*1 / TPMT*2</i>	0	0 %
<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	5	15 %
<i>TPMT*1 / TPMT*3B</i>	0	0 %
<i>TPMT*1 / TPMT*3C</i>	0	0 %

Tabla 4: Frecuencias alélicas para las variantes del gen *TPMT*1*

ALELO	NÚMERO DE ALELOS (n=70)	FRECUENCIA (%)
<i>TPMT*1</i>	65	93 %
<i>TPMT*2</i>	0	0 %
<i>TPMT*3A</i>	5	7 %
<i>TPMT*3B</i>	0	0 %
<i>TPMT*3C</i>	0	0 %

Tabla 5: Actividad TPMT en pacientes que presentan polimorfismo en el gen *TPMT*1*.

PACIENTES	GENOTIPO <i>TPMT*1</i>	ACTIVIDAD TPMT (U/mL)
P7	<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	9,2
P15	<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	11,5
P25	<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	11
P75	<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	NE
P83	<i>TPMT*1 / TPMT*3A</i>	12,2

NE: no estudiado.

VII.2. Análisis de toxicidad hematológica asociada a polimorfismos en el gen TPMT*1 y el uso de 6-MP.

Se evaluó la presencia de toxicidad hematológica asociada al uso de 6-MP y a los polimorfismos de la TPMT en los 35 pacientes incluidos en este estudio. Para esto, se determinó la mediana del recuento de leucocitos, RAN, recuento de plaquetas y % de neutrófilos de cada grupo. La tabla 7 muestra los resultados de los parámetros de laboratorio en estos pacientes, donde se puede apreciar que no existieron diferencias significativas en ambos grupos.

Tabla 6: Parámetros hematológicos durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen *TPMT*1*

Características	Pacientes con alelo mutante (n=5) ^a	Pacientes con alelo silvestre (n=35) ^a	<i>p</i>
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	2.7 (2.35 – 4.23) ^b	3.2 (2.56 – 4.14) ^b	0.597
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	265.4 (±105.8) ^c	227 (±70.3) ^c	0.286
% Neutrofilos	56.4 (±14.5) ^c	55.5 (±12.9) ^c	0.887

a: n° de pacientes; b: rango; c: D.S

VII.3. Análisis de toxicidad hepática asociada a polimorfismos en el gen *TPMT*1* y el uso de 6-MP.

Se determinó la presencia de toxicidad hepática asociada al uso de 6-MP y los polimorfismos de la TPMT por medio de los resultados de los exámenes de laboratorio efectuados durante el periodo de mantención. Esto se realizó por medio de la verificación de un alza de la concentración plasmática de las enzimas hepática GOT y GPT y/o un alza de los valores normales de bilirrubina.

Los resultados obtenidos en la tabla 8 muestran los datos de las pruebas hepáticas de los pacientes con o sin polimorfismo donde se aprecia que no existieron diferencias significativas al comparar ambos grupos de estudio.

Tabla 7: Parámetros hepáticos durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen *TPMT*1*

Características	Pacientes con alelo mutante (n=5) ^a	Pacientes con alelo silvestre (n=35) ^a	<i>p</i>
GOT (mg/dL)	35.0 (33.7 – 47.5) [*]	46.5 (30.5 – 54.0)	0.528
GPT (mg/dL)	28.5 (17.5 – 69.0)	61.0 (22.0 – 84.5)	0.159
Bilirrubina total (mg/dL)	0.43 (0.35 – 0.7)	0.59 (0.51 – 0.78)	0.141
Bilirrubina directa (mg/dL)	0.12 (0.11 – 0.22)	0.12 (0.09 – 0.15)	0.314

a: n° de pacientes, ^{*}: Valores representados como promedio y rango

VII.4. Asociación de la dosificación de 6-MP y polimorfismos en el gen TPMT*1.

Se relacionó la dosis total y diaria recibida de 6-MP durante el periodo de mantención y los polimorfismos en el gen *TPMT*1*. Para establecer la dosis diaria se determinó la cantidad de días de suspensión de tratamiento con 6-MP y se descontaron al tiempo total de mantención. Luego se calculó la dosis total recibida de 6-MP y se dividió por la cantidad de días reales de mantención. La dosis acumulada de 6-MP se obtuvo sumando las dosis recibidas de 6-MP durante todo el periodo de mantención.

Los resultados obtenidos muestran una disminución significativa de hasta un 38% de la dosis de 6-MP en los pacientes con un alelo mutado. Al comparar ambos grupos se observa que los pacientes con un alelo mutado recibieron una dosis promedio de 19 mg/m²/día de 6-MP mientras que los pacientes con ambos alelos silvestres reciben 50 mg/m²/día de 6-MP ($p=0,02$) y que las dosis acumuladas de 6-MP en pacientes con polimorfismos en la enzima TPMT fue de 3750 mg/m² mientras que los pacientes silvestres recibieron 23500 mg/m² de 6-MP ($p=0,007$). No se encontraron diferencias significativas entre los periodos de mantención de ambos grupos de pacientes. La tabla 9 y las figuras 4 y 5 muestran estos resultados en detalle.

Tabla 8: Dosis de 6-MP durante la etapa de mantención de los niños en estudio con o sin polimorfismo en el gen *TPMT*1*

Características	Pacientes con alelo mutante (n=5)^a	Pacientes con alelo silvestre (n=35)^a	p
Periodo de mantención (meses)	14 (11.5 – 20.5) ^b	14 (12-16) ^b	0.782
Dosis acumulada de 6-MP (mg/m²)	3750 (972 – 12203) ^b	23500 (12000 – 36000) ^b	0.007*
Dosis 6-MP (mg/m²/día)	19 (14.2 – 28.8) ^b	50 (37.1 – 75) ^b	0.002*

a: n° de pacientes, b: rango, *: $p < 0.05$, estadísticamente significativo.

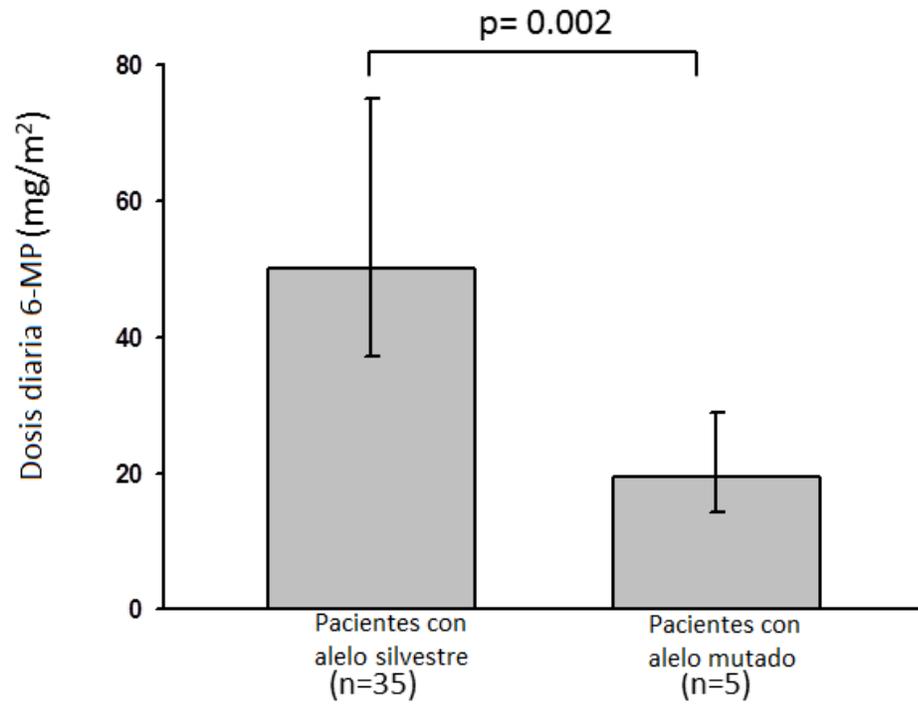


Figura 4: Dosis diaria de 6-MP durante el periodo de mantención en pacientes con y sin alelo mutado del gen *TPMT*1*.

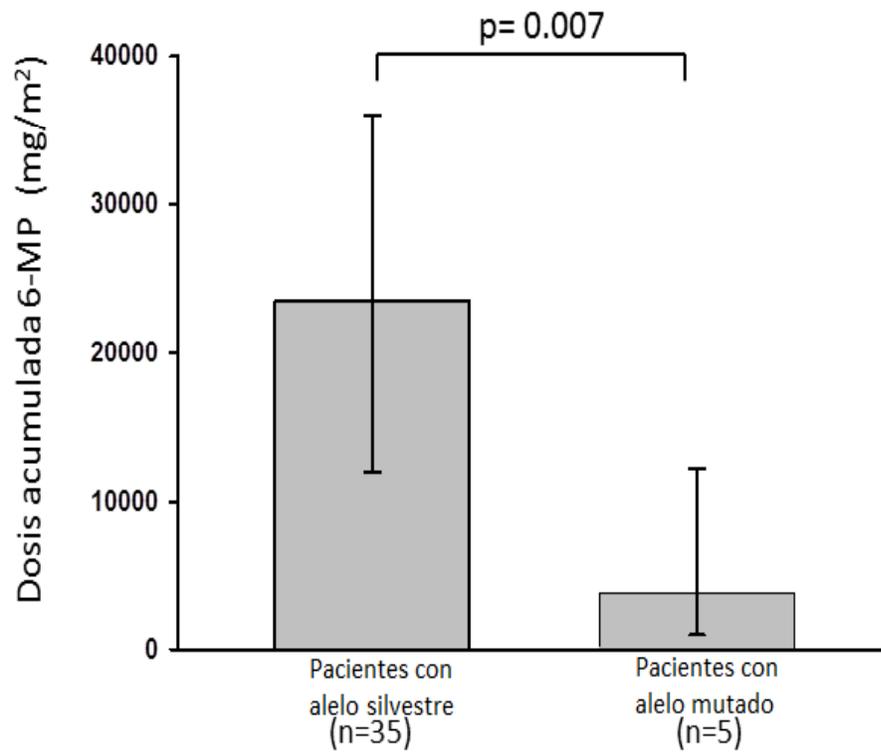


Figura 5: Dosis acumulada de 6-MP durante el periodo de mantención en pacientes con y sin alelo mutado del gen *TPMT*1*.

VIII. DISCUSION

El estudio de los polimorfismos en el gen *TPMT*1* involucrados en la farmacoterapia del tratamiento de la LLA con 6-MP es uno de los ejemplos más claros de la aplicación clínica de una farmacogenética efectiva (Cheok y Evans, 2006). La importancia de estos estudios radica en la asociación de los efectos adversos presentes durante la terapia con 6-MP con la presencia de polimorfismos en el gen *TPMT*1*, permitiendo una aplicación clínica inmediata, como la disminución de las dosis usadas de 6-MP en pacientes que presenten estos polimorfismos. Si bien se han descrito más de 20 variantes genéticas de la enzima TPMT, las más estudiadas son las variantes *TPMT*2*, *TPMT*3A* y *TPMT*3C* alcanzando cerca del 90% de las mutaciones descritas con una influencia directa en el cambio de la actividad de la enzima TPMT. Existen diversos estudios sobre las frecuencias genotípicas de la enzima TPMT realizados en diferentes poblaciones (Sahasranaman y cols.,2008). La variante genética *TPMT*3A* es la más abundante en la población caucásica con baja prevalencia de los polimorfismos *TPMT*2* y *TPMT*3C* (Sahasranaman y cols.,2008). La tabla 10 muestra la gran heterogeneidad de las variantes alélicas presentes en los distintos grupos, los que presentan más de un polimorfismo exceptuando las poblaciones china, japonesa y tailandesa donde se encontró sólo un tipo de polimorfismo, el *TPMT*3C*. En las poblaciones sudamericanas se observa un predominio del polimorfismo *TPMT*3A*, excluyendo a la población brasileña, que presenta un predominio del polimorfismo *TPMT*2A*, posiblemente atribuido a la composición de esta población.

Diversas publicaciones han demostrado un alto grado de correlación entre el genotipo y el fenotipo de la TPMT en la población caucásica (Yates y cols., 1997). Jorquera y cols., (2006) encontraron que los individuos homocigotos silvestres tuvieron una actividad enzimática significativamente mayor que los heterocigotos, confirmando la correlación que existe entre genotipo y fenotipo. Estos datos se correlacionan con los resultados de la medición de la actividad de la enzima TPMT en pacientes que presentaron polimorfismo del gen *TPMT*1* realizados anteriormente en nuestro laboratorio (Salas, datos no publicados).

Tabla 9: Frecuencias alélicas para las variantes del gen *TPMT*1* en distintos grupos étnicos o poblaciones (adaptado de Sahasranaman y cols., 2008)

Grupo étnico/ población	N° de alelos	<i>TPMT*2</i>	<i>TPMT*3A</i>	<i>TPMT*3B</i>	<i>TPMT*3C</i>
Caucásica americana	282	0,2	3,2	ND	0,2
Caucásica Británica	398	0,5	4,5	ND	0,3
Caucásica Francesa	938	0,7	3	0	0,4
Caucásica Alemana	2428	0,5	8,6	0	0,8
Caucásica polaca	716	0,4	2,7	0	0,1
Caucásica sueca	1600	0,06	3,75	0,13	0,44
Caucásica noruega	132	0	3,4	0	0,3
Caucásica bulgaria	626	0,16	2,24	0	0,16
Afro americana	248	0,4	0	ND	2,4
Argentina	294	0,7	2,1	0	0
Gana	434	0	0	ND	7,6
Keniana	202	0	0	ND	5,4
China	384	0	0	ND	2,3
China	206	0	0	0	1,0
China niños	426	0	0	0	0,2
Japonesa	1044	0	0	0	1,6
Thailandes	400	0	0	0	4,75
Suroeste asiática	198	0	1	ND	0
Brasileña	408	2,2	1,5	0,2	1
Colombiana	280	0,4	3,6	0	0
Egiptia	400	0	0,003	0	0,013
Chilena	420	0,24	2,86	0	0,71
Chilena niños PINDA	206	0	3	0	1

En este estudio, los valores de actividad de TPMT obtenidos para los pacientes con un alelo mutado concuerdan con los algoritmos utilizados en el St. Jude Children`s Research Hospital (SJCRH) para clasificar la actividad TPMT de acuerdo al polimorfismo en el gen *TPMT*1*, asignándoles actividades ≤ 5 U/mL GR, entre 5 y 13,5 U/mL GR y $\geq 13,5$ U/mL GR para los genotipos homocigoto mutante, heterocigoto y silvestre, respectivamente (Relling y cols., 1999).

Es conocido que los pacientes que muestran una deficiencia total en la enzima TPMT (homocigotos mutados) presentan un alto riesgo de desarrollar toxicidad hematológica si se les administran dosis completas de 6-MP. En los pacientes que muestran una actividad disminuida en la enzima TPMT, resultante de una mutación heterocigota en el gen *TPMT*1*, también se ha descrito un riesgo de desarrollar toxicidad hematológica, aunque en menor medida que los homocigotos mutados (Evans y cols., 2001).

Aunque los resultados de esta investigación no muestran una asociación significativa de la presencia de la toxicidad hematológica en los pacientes heterocigotos, esto puede deberse a que los pacientes con polimorfismo se les administraban dosis previamente ajustadas de 6-MP en el periodo de mantención estudiado, sugiriendo la presencia de toxicidad hematológica relacionada al uso de dosis completas de 6-MP anteriores a este periodo. Esta situación podría evaluarse al investigar los datos clínicos de los pacientes incluidos en este estudio durante todas las etapas de tratamiento en las que se administró 6-MP anteriores a la mantención. Actualmente, el protocolo PINDA para LLA, la dosis de 6-MP se ajusta a la mitad en caso de toxicidad hematológica. Específicamente al momento de obtener un recuento de leucocitos $\leq 1500/uL$, RAN $\leq 500 /uL$ o recuento de plaquetas $\leq 50000/uL$ (PINDA, 2005). En relación a la hepatotoxicidad, a pesar de no encontrarse evidencias de toxicidad hepática en los grupos analizados, existen estudios que sugieren que la 6-MP y sus metabolitos se correlacionan con episodios de hepatotoxicidad durante el periodo de mantención (Nygaard y cols. 2004), incluso podría llegar a ser más frecuente en pacientes homocigotos silvestres con una actividad de TPMT normal ya que es posible que los metabolitos metilados de 6-MP contribuyan a la toxicidad hepática.

Sería necesario aumentar el número de pacientes y estudiarlos en todas las etapas del tratamiento con 6-MP, y de esta forma lograr una relación entre la toxicidad hepática y el uso de 6-MP ya que según el actual protocolo PINDA para el tratamiento de la LLA en casos de aumento de los valores de las enzimas hepáticas (GOT y GPT) la dosis de 6-MP es ajustada a la mitad.

A pesar del número limitado de pacientes incluidos en este estudio, debido a que las fichas clínicas de 22 pacientes de un total de 57 no se encontraban disponibles en su totalidad y que 4 pacientes no poseían datos registrados de exámenes clínicos, los hallazgos de este trabajo indican que el polimorfismo genético de la *TPMT* tiene una influencia considerable en la tolerancia a la quimioterapia de la LLA con 6-MP, y que este rasgo heredado es determinante en la tolerancia a la quimioterapia antileucémica que contiene 6-MP. Los datos de dosis acumuladas y diarias de 6-MP indican que los pacientes heterocigotos requirieron reducciones significativas en las dosis de 6-MP comparado a las dosis recibidas por los pacientes que no presentaban polimorfismo en el gen *TPMT*1*. Por otro lado, nuestros resultados muestran que con la disminución dosis apropiada de 6-MP en los pacientes heterocigotos es posible el tratamiento con todos los componentes de la quimioterapia, incluyendo a la 6-MP. Tal como se mencionó anteriormente, sería interesante evaluar las toxicidades que influenciaron la toma de decisiones que involucraron una disminución de dosis de 6-MP en los pacientes que presentan un polimorfismo en el gen *TPMT*1* en un estudio que involucre todas etapas del tratamiento donde se utiliza 6-MP ya que permitiría encontrar o asociar los cambios de dosificación a toxicidades hematológicas y/o hepáticas y de esta forma evitar la aparición de toxicidades que pudieran afectar el tratamiento de esta neoplasia.

Los estudios de prevalencia del polimorfismo en el gen *TPMT*1*, sugieren que actualmente cerca de un 10% de los pacientes con LLA tienen riesgo de presentar una toxicidad frente al tratamiento con 6-MP. Estos antecedentes han llevado a analizar la presencia de estos polimorfismos en los pacientes al comenzar su terapia con el fin de optimizar su tratamiento con 6-MP y basar la dosis inicial de 6-MP en el genotipo *TPMT* de cada paciente. Dado que las dosis de 6-MP en el tratamiento de la LLA es alta, se recomienda la utilización de dosis más bajas en pacientes heterocigotos y una

disminución marcada de la dosis en pacientes homocigotos mutados que va de un 50 a 67% de la dosificación estándar (Ford, 2012).

Actualmente, los protocolos utilizados para tratar la LLA infantil son los del grupo St. Jude Children`s Research Hospital (SJCRH) y el de Berlin-Frankfurt-Münster (BFM). La diferencia fundamental entre ambos protocolos, es que el protocolo del grupo SJCRH utiliza la genotipificación como herramienta en el tratamiento de la LLA lo que les permite individualizar la terapia con 6-MP y disminuir el riesgo de toxicidad aguda sin comprometer las tasas de recaídas en la LLA (Rellings y cols. 2011). Sin embargo, los pacientes con actividad intermedia de la enzima TPMT tratados con dosis convencionales de 6-MP del protocolo BFM presentan una respuesta más temprana al tratamiento antileucémico, lo que se explica por el bajo metabolismo de la droga y una consecuente alta concentración sistémica de 6-MP y TGNs.

A pesar de ser un tema muy estudiado, la importancia de este estudio radica en mostrar la relación de los polimorfismos del gen *TPMT*1* con las toxicidades y dosis en los niños chilenos. Además, estos resultados permiten presentar los cambios que se deben esperar al momento de incorporar la determinación del genotipo *TPMT* en los nuevos protocolos PINDA en los pacientes que inician el tratamiento quimioterápico, ya que esta acción ha demostrado beneficios directos para el paciente, como la disminución de la probabilidad de toxicidad hematológica aguda sin comprometer el control de la enfermedad ya que las concentraciones de TGNs permanecerían iguales en los pacientes con o sin polimorfismo, reduciendo de esta forma la suspensión del tratamiento quimioterápico debido a estas toxicidades.

Es así como el polimorfismo genético del gen *TPMT*1* ilustra la utilidad de la farmacogenómica en la optimización de todas las terapias sobre la base de la capacidad heredada de cada paciente para metabolizar y responder a los agentes antileucémicos.

En conclusión, el presente estudio contribuye a clarificar la relación farmacogenética entre la enzima TPMT y las dosis administradas de 6-MP en niños con LLA. De esta manera, la presencia de marcadores genéticos de la toxicidad en conjunto con una vigilancia cuidadosa de la respuesta al tratamiento por medio de los

exámenes de laboratorio clínico puede alertar al equipo tratante con respecto al riesgo de intolerancia de ciertos pacientes y proporcionarles un seguimiento y asesoramiento más estrecho. En consideración a estos antecedentes, se propone incluir en los siguientes protocolos de tratamiento de LLA la determinación de los polimorfismos más frecuentes en la población chilena y luego la determinación de la actividad enzimática de la TPMT en los pacientes polimórficos para conseguir un correcto ajuste de dosis de 6-MP antes de observar alguna toxicidad asociada al uso de esta droga.

IX. CONCLUSIONES

Se determinó la dosis administrada de 6-MP en todos los pacientes incluidos en este estudio.

Se asoció la presencia de toxicidad hematológica y hepática en los pacientes que presentaron polimorfismos en el gen *TPMT*1* y los homocigotos silvestres sin encontrar una asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos.

La dosis diaria y acumulada de 6-MP recibida por los pacientes con polimorfismo en el gen *TPMT*1* fue significativamente menor en comparación con los pacientes homocigotos silvestres en niños con LLA atendidos en el Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna.

En resumen, se comprobó que la presencia de polimorfismos en el gen *TPMT*1* se asocia a una disminución de la dosis recibida de 6-MP y a una disminución de la actividad enzimática TPMT clarificando la relación farmacogenética entre la TPMT y las dosis administradas de 6-MP.

X. BIBLIOGRAFIA

- Alvarez L, Venegas S, Larrondo M. (2009).**
Polimorfismo del gen de la tiopurina S-metiltransferasa en donantes de sangre de un hospital universitario.
Revista Médica de Chile 137:185-192.
- Beaumais T, Fakhoury M, Medard Y. (2011).**
Determinants of mercaptopurine toxicity in paediatric acute lymphoblastic leukemia maintenance therapy.
British Journal of Clinical Pharmacology 71(4):575–584.
- Campbell M. (2005).**
Desarrollo de la Oncología Pediátrica en Chile.
Revista Pediátrica Electrónica 2 (2):1-4
- Colombres S. (2008).**
Variabilidad en la respuesta a fármacos debido a polimorfismos en enzimas de la familia CYP450.
Infármate. Disponible en
http://www.infarmate.org/pdfs/marzo_abril08/respuesta_farmacos18.pdf
- Check M, Evans W. (2006).**
Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy.
Nature Review Cancer 6:117-129.
- Dong X, Zheng Q, Zhu M. (2010).**
Thiopurine S-methyltransferase polymorphisms and thiopurine toxicity in treatment of inflammatory bowel disease.
World Journal Gastroenterology 16(25):3187-3195.
- Evans W, Yi Hon Y, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M. (2001).**
Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine.
Journal of Clinical Oncology 19(8):2293-2301.
- Feng Q, Vannaprasaht S, Pengc Y, Angsuthumb S. (2010).**
Thiopurine S-Methyltransferase Pharmacogenetics: Functional Characterization of a Novel Rapidly Degraded Variant Allozyme.
Biochemical Pharmacology Journal. 79(7):1053-1073.
- Ford L, Berg J. (2012).**
Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) assessment prior to starting thiopurine drug treatment; a pharmacogenomic test whose time has come. *J ournal of Clinical Pathology.* 3:288-295.

Guía clínica Leucemia en personas menores de 15 años. (2010)
Ministerio de Salud- Chile.

Hawwa A, Millership J, Collier P. (2008).
Pharmacogenomic studies of the anticancer and immunosuppressive thiopurines mercaptopurine and azathioprine.
British Journal of Clinical Pharmacology 66(4):517–528.

Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico.
Editorial Universidad de Talca, Editores: Iván Palomo G., Jaime Pereira G., Julia Palma B. Colección E-Book, Serie de libros electrónicos.
Talca- Chile, julio de 2009. Edición soporte papel: 2005. Cap. 12, pág. 300-310.

Jorquera A, Selman C, Vollrath V. (2006).
Fenotipo y genotipo de la tiopurina metiltransferasa (TPMT) en población chilena.
Gastroenterología Latinoamericana 17:447 (Abstract).

National Cancer Institute common terminology criteria for adverse events v3.0.
(2006).
Disponibile en <http://ctep.cancer.gov>

Noronha E, Marinho H, Fonseca E. (2011).
Immunophenotypic characterization of acute leukemia at a public oncology reference center in Maranhão, northeastern Brazil.
Sao Paulo Medical Journal. 129(6):392-401.

Nygaard U, Toft N, Schmiegelow K. (2004).
Methylated metabolites of 6-mercaptopurine are associated with hepatotoxicity.
Clinical Pharmacology and Therapeutics 75:274-281 (Abstract).

Piller G. (2001).
Historical Review. Leukaemia - A brief historical review from ancient times to 1950.
British Journal of Haematology 112:282-292.

Protocolo PINDA. (2005).
Protocolo Cancer Infantil. Ministerio de Salud- Chile.

Relling M, Gardner E, Sandborn W, Schmiegelow K. (2011).
Clinical pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Thiopurine Methyltransferase Genotype and Thiopurine Dosing.
American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics 89 (3):387-391.

Sahasranaman S, Howard D, Roy S. (2008).
Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines.
European Journal Clinical Pharmacology 64:753-767.

- Salas C.** (2010).
Prevalencia de polimorfismos en genes que codifican para enzimas metabolizadoras de fármacos utilizados en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.
Tesis para optar al grado de Magíster en Bioquímica, área de Especialización en Bioquímica Clínica.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- Stocco G, Check M, Crews K.** (2009).
Genetic Polymorphism of Inosine Triphosphate Pyrophosphatase is a Determinant of Mercaptopurine Metabolism and Toxicity during Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia.
Clinical Pharmacology Therapy. 85(2):164–172.
- Tomalik-Scharte D, Lazar A, Fuhr U, Kirchheiner J.** (2008).
The clinical role of genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes.
The Pharmacogenomics Journal 8:4–15
- Wall A, Rubnitz J.** (2003).
Pharmacogenomics effects on therapy for acute lymphoblastic leukemia in children.
The Pharmacogenomics Journal 3:128-135.
- Yates C, Eugene B, Krynetski Y.** (1997).
Molecular Diagnosis of Thiopurine S-Methyltransferase Deficiency: Genetic Basis for Azathioprine and Mercaptopurine Intolerance.
Annals of Internal Medicine. 126(8):608-614.
- Zhou S.** (2006). Clinical Pharmacogenomics of Thiopurine S-methyltransferase.
Current Clinical Pharmacology. 1:119-128.