



Farmacogenética del tratamiento de la leucemia linfoide aguda pediátrica

Autores:

- Gaudin Celli, María Pia
- Jamil Othman, Mohammad
- Medina Claret, Gabriela Elizabeth
- Moreira Castro, Luis Gonzalo

Grupo: 77

Tutor: Da Luz, Julio

Salto, 2016

ÍNDICE

ÍNDICE	2
RESUMEN.....	3
MARCO TEÓRICO.....	4
Polimorfismos y farmacogenética.....	4
Cáncer y Leucemia	4
Leucemia linfóide aguda.....	5
Tratamiento	6
Fármacos utilizados en la etapa de mantenimiento.....	9
OBJETIVOS	13
RESULTADOS	14
Farmacogenética del Metotrexato.....	14
Farmacogenética de la 6-Mercaptopurina.....	17
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	25
REFERENCIAS	26
AGRADECIMIENTOS	30

RESUMEN

La presente revisión bibliográfica tiene como propósito establecer una relación entre los efectos adversos que se presentan en la etapa de mantenimiento de la terapia de la Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) y los polimorfismos de los genes que codifican las proteínas involucradas en el metabolismo del Metotrexato (MTX) y de la 6-Mercaptopurina (6-MP), que son los fármacos utilizados durante dicha etapa.

Se realizó una búsqueda bibliográfica en las siguientes bases de datos: PubMed, Medline, Cochrane y Scielo. Se buscaron estudios comprendidos entre enero del 2000 y junio de 2016 y se obtuvieron 41 estudios, siendo de utilidad 28 de ellos, los cuales hacen referencia a los polimorfismos genéticos y su relación con el riesgo de toxicidad, recaídas y abandono del tratamiento.

Algunos de estos polimorfismos han sido ampliamente estudiados, como por ejemplo los de la Tiopurin-S-metil transferasa (TPMT) y Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Variantes del gen TPMT han sido asociadas en diversos estudios a la toxicidad debido al tratamiento con 6-MP. Sin embargo, no todas las poblaciones presentan frecuencias relevantes de las mismas. Esto conlleva a la necesidad de la realización de nuevos estudios en búsqueda de otros genes involucrados y sus respectivos polimorfismos, como por ejemplo los que codifican la proteína Nudix hidrolasa 15 (NUDT15) la cual ha sido relacionada con la toxicidad en el tratamiento con la 6-MP.

Ante lo expuesto, se concluye que la farmacogenética es una herramienta fundamental para el tratamiento de la LLA ofreciendo la posibilidad de implementar dosis individualizadas de los fármacos según los genotipos identificados. Actualmente, en el mundo se está realizando el genotipado de TPMT previo al tratamiento.

Palabras clave:

Leucemia linfocítica aguda, Pediátrica, Toxicidad, Metotrexato, 6-Mercaptopurina, Farmacogenética.

MARCO TEÓRICO

Polimorfismos y farmacogenética

Se sabe que aproximadamente el 99.9% de la secuencia del Ácido desoxirribonucleico (ADN) de dos individuos diferentes es la misma. Una proporción significativa de las diferencias encontradas en los individuos, es decir, sus diferencias fenotípicas y/o susceptibilidades a ciertas enfermedades, radica en el 0.1% de variación; a este tipo de variaciones genéticas se les conoce como polimorfismos genéticos, los cuales representan diferentes formas en las secuencias de ADN. Un polimorfismo es considerado como tal cuando la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1%. Hay varios tipos de polimorfismos (inserciones, deleciones, cambios en el número de secuencias repetidas), pero los más frecuentes son los polimorfismos de nucleótido simple (SNP's). Su estudio ha servido de pauta para la creación de nuevas disciplinas como la ecogenética y la farmacogenética; la primera define las bases genéticas de las diferencias individuales en respuesta a los factores ambientales, mientras que la segunda se centra en la definición de las diferencias genéticas individuales para poder implementar un tratamiento farmacológico con dosis personalizadas de acuerdo al paciente, aumentando de esta manera las posibilidades de obtener un buen resultado, y disminuyendo en gran forma el riesgo de desarrollar toxicidad, evitando con esto la necesidad de interrumpir el tratamiento, o el abandono del mismo por parte del paciente. ^[1]

Los estudios realizados hasta el momento se han centrado principalmente en los polimorfismos ubicados en la región codificante de proteínas del genoma, la cual corresponde al 1,5% del mismo. Han comenzado a surgir investigaciones que abarcan a la región no codificante del genoma, en donde también asientan mutaciones del tipo SNP's. ^[2]

Los micro ARN (miARNs) son moléculas relacionadas con la región anteriormente comentada y se cree que podrían tener una importante función reguladora. En algunos estudios se los ha relacionado con la regulación de genes responsables de la respuesta a diferentes fármacos, por lo tanto, variaciones genéticas que alteren la función de los mismos podrían conducir a un aumento de la tolerancia o de la sensibilidad a los fármacos. ^[3]

Cáncer y Leucemia

El cáncer es una proliferación celular descontrolada por activación e incorrecta inhibición del ciclo celular. Estos procesos se dan como consecuencia de mutaciones que pueden ser heredadas o pueden surgir como resultado de exposición a carcinógenos ambientales o agentes infecciosos. El mecanismo responsable de la carcinogénesis son las mutaciones en los oncogenes, genes supresores tumorales y genes de estabilidad cromosómica. El cáncer se clasifica según el tipo de

célula normal que lo origina, por lo tanto se puede clasificar como carcinoma, sarcoma, linfoma, leucemia, mieloma, tumor de células germinales, melanoma, glioma y neuroblastoma. En los menores de 15 años de edad, se diagnostican con más frecuencia leucemias, linfomas y tumores del sistema nervioso central (SNC). ^[4]

El cáncer en niños comprende del 0,5 al 3% de todas las neoplasias en la mayoría de las poblaciones, estimándose una incidencia anual de alrededor de 200.000 casos en todo el mundo. Las leucemias son las más frecuentemente diagnosticadas y representan un 25 a 35% de las neoplasias malignas pediátricas. ^[4]

Las leucemias son enfermedades malignas clonales originadas en un precursor hematopoyético, de estirpe mieloide o linfoide, y caracterizadas por la infiltración de la médula ósea y la invasión de la sangre periférica y en algunos casos otros órganos. ^[5]

Leucemia linfoide aguda

Con respecto a la LLA, ésta se produce debido a la proliferación de precursores linfoides inmaduros, ya sea de estirpe B o T. Constituye el 77% de las leucemias infantiles y su incidencia máxima se da entre los 2-6 años de edad. Esta enfermedad suele presentarse con síntomas inespecíficos y de evolución relativamente rápida. Con frecuencia están presentes la falta de apetito, fatiga e irritabilidad, que se suelen asociar con febrícula intermitente. También puede aparecer dolor óseo o articular, sobre todo en las extremidades inferiores. Puede existir antecedente de infección respiratoria alta en el mes o dos meses previos. Con menor frecuencia, los síntomas pueden ser de varios meses de evolución, pueden localizarse predominantemente en los huesos y las articulaciones y pueden caracterizarse por tumefacción articular. El dolor óseo es importante, y puede despertar al paciente por las noches. A medida que la enfermedad progresa, aparecen signos y síntomas de insuficiencia medular, como palidez, fatiga, aparición de hematomas o epistaxis y fiebre, que puede deberse a la presencia de una infección. La LLA de células pre-B primitivas (CD10+ o CALLA+) es el inmunofenotipo más frecuente, con un inicio entre el año y los 10 años de edad. ^[4]

La clasificación de la LLA depende de la caracterización de las células malignas en la médula ósea con el objetivo de determinar su morfología, su inmunofenotipo, las características de sus marcadores de membrana y sus rasgos moleculares y citogenéticos. ^[5, 6,7]

Tratamiento

Antes de comenzar a realizar el tratamiento se debe clasificar al paciente, y asignarlo a una categoría. Éstas se dividen en tres grupos de riesgo según el Protocolo ALLIC 2010: ^[8]

Riesgo estándar (RE), (todos los siguientes criterios deben estar presentes):

- BRP (Buena Respuesta a la Prednisona) al día 8: <1000 blastos/ μ L
- Edad >1año y/o <6años
- Recuento de glóbulos blancos <20.000/ μ L
- ERM (Enfermedad Residual Mínima) en MO (Médula Ósea) al día 15 (d15) <0.1%
- MO d15 en fase M1 o M2
- MO día 33 (d33) en fase M1

Riesgo intermedio (RI):

- BRP al día 8 <1000 blastos/ μ L y edad <1 año y/o ≥ 6 años y/o recuento de glóbulos blancos $\geq 20.000/\mu$ L
- ERM en MO d15 <10% y MO d15 M1 o M2 y MO d33 M1 ó:
- Criterios para RE pero: ERM >0.1% y <10% o MO d15 M3 y MO d33 M1

Riesgo alto (RA), (como mínimo un criterio debe cumplirse):

- RI y MO al d15 M3
- RI con ERM >10%
- MRP (Mala Respuesta a la Prednisona) al día 8: >1000 blastos/ μ L
- MO d33 M2 o M3
- Translocación(9;22) (re-arreglo BCR/ABL) o Translocación(4;11) (re-arreglo MLL/AF4)
- Hipodiploidía ≤ 44 cromosomas

Para el tratamiento, se utilizan protocolos modernos, los cuales se constituyen de cinco grandes fases que son: inducción, intensificación, consolidación, reinducción y mantenimiento. También se realiza prevención de la leucemia en el SNC que incluye uso de quimioterapia intratecal y radioterapia de cráneo. Cada fase se detallará a continuación. ^[8, 9] (Ver figura 1)

Fase 1: Inducción (IA/IA')

La recibirán con variantes todos los grupos pronósticos. En lo posible el recuento absoluto de granulocitos no debe ser inferior a $100\text{-}200/\text{mm}^3$. Los fármacos utilizados son: Prednisona (P), Vincristina (VCR), Daunorubicina (DNM) y L-Asparaginasa de Escherichia coli (L-Asa).

La profilaxis o terapia de la leucemia del SNC se realiza mediante tratamiento intratecal (TIT), el cual se hará los días 1, 12 y 33. La primera punción lumbar será sólo con MTX y solución salina. Las dosis de MTX varían de acuerdo a la edad entre 6 y 12 mg.

Fase 2: Intensificación (IB)

Requisitos para comenzar con esta fase: buen estado general, ausencia de infecciones severas, niveles de creatinina dentro de rango normal. Valores hematológicos mínimos: leucocitos $2 \times 10^9/\text{L}$, neutrófilos $0,5 \times 10^9/\text{L}$, plaquetas $50 \times 10^9/\text{L}$.

Los fármacos utilizados son: Ciclofosfamida (CFM), Arabinósido de citosina (Ara-c) y 6-MP.

El TIT se realiza con MTX.

Fase 3: Consolidación (M)

Comienza dos semanas después de finalizar la fase anterior.

Las condiciones para comenzarla son: buen estado general, sin infecciones, perfiles hepáticos hasta cinco veces el valor normal de la Alanina Aminotransferasa (ALAT) para la edad, perfil renal normal de acuerdo a la edad, leucocitos $>1500 \times \text{mm}^3$, granulocitos $>500 \times \text{mm}^3$, plaquetas $>50000 \times \text{mm}^3$.

Con respecto a los pacientes RA, se realizan 6 pulsos de quimioterapia.

Los fármacos utilizados son: 6-MP, MTX, Leucovorina (de rescate).

TIT: dosis de acuerdo a la edad, 1 hora después de comenzar cada infusión de MTX.

Fase 4: Reinducción (II)

Comienza 2 semanas después de terminada la fase anterior.

Se utilizan los siguientes fármacos: Dexametasona (DMT), VCR, Doxorubicina (ADR), L-Asa, CPM, Ara-c, 6-TGN, MTX intratecal.

TIT: Los días 1 y 18 en los pacientes con compromiso inicial del SNC con dosis de acuerdo a la edad.

Fase 5: Mantenimiento

Comienza para todos los grupos de riesgo dos semanas después de finalizada la etapa de reinducción siempre que el estado general sea bueno y haya recuperación hematológica. La

duración total del tratamiento será de 104 semanas por lo que la duración del mantenimiento variará según el grupo de riesgo y la randomización en cada grupo.

- Riesgo estándar: 30 semanas (fase intensiva) y 74 semanas (fase de mantenimiento)
- Riesgo intermedio: 30 semanas (fase intensiva) y 74 semanas (fase de mantenimiento)
- Riesgo alto: 42 semanas (fase intensiva) y 62 semanas (fase de mantenimiento)

Las dosis en la etapa de mantenimiento son: 50 mg/m² vía oral por día de la 6-MP y 20 mg/m² vía oral de MTX una vez por semana siempre el mismo día. Ambos por la noche con el estómago vacío. También se utiliza profilaxis antibiótica con Trimetoprim-sulfametoxazol y radioterapia en casos de infiltración inicial del SNC.^[9]

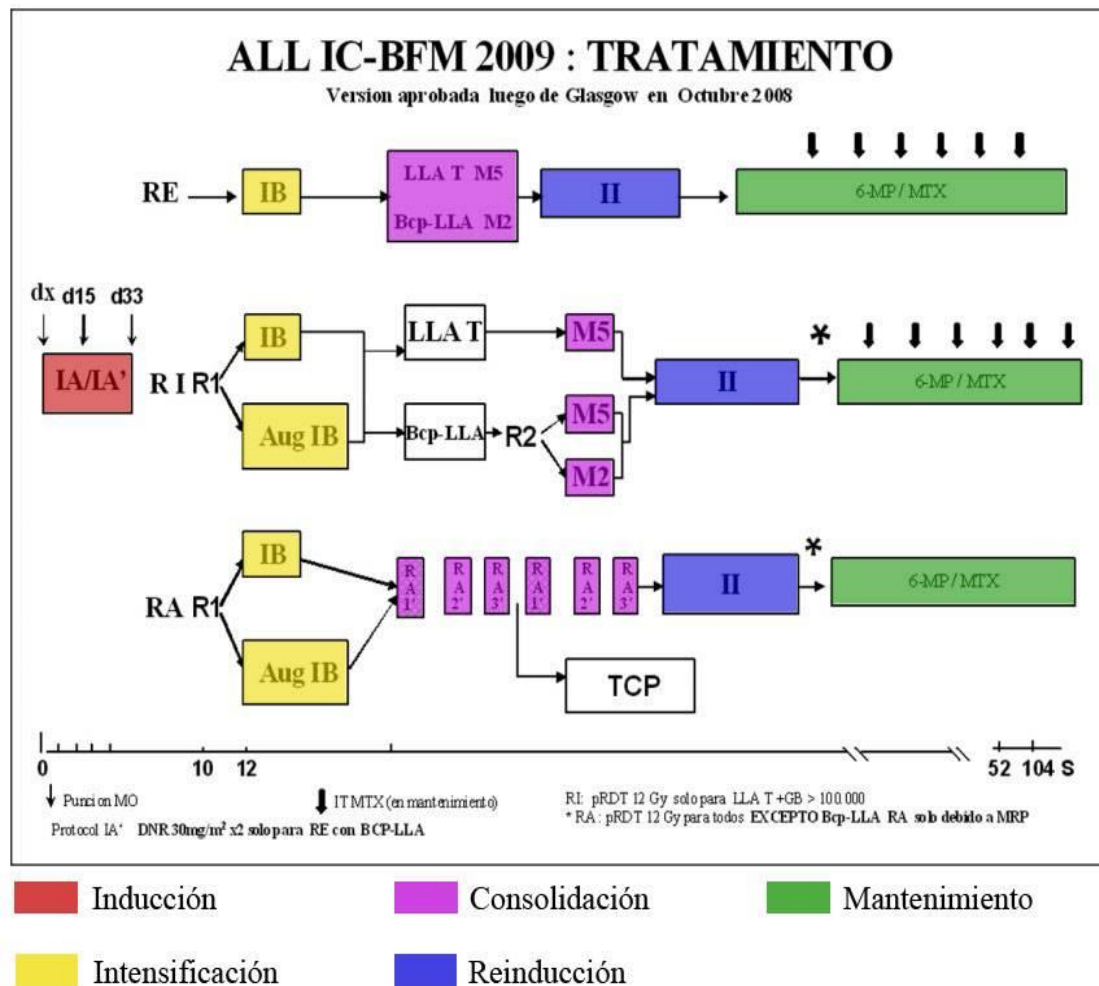


Figura 1. Esquema representativo del protocolo BFM 2009 del tratamiento para la LLA pediátrica. Modificado de Guía 2012 de la Sociedad Argentina de Hematología.^[8]

Fármacos utilizados en la etapa de mantenimiento

Metotrexato

El MTX es un antimetabolito de la familia de los folatos. Su mecanismo de acción es inhibir competitivamente la Dihidrofolato reductasa (DHFR), enzima responsable de convertir el ácido fólico a tetrahidrofolato, el cofactor necesario para la transferencia de un carbono en muchas reacciones metabólicas. Algunas de estas reacciones afectan la proliferación celular, incluyendo la síntesis de ácido timidílico y de los precursores de los nucleótidos del ácido ribonucleico (ARN) y ADN. Sus efectos inhibidores dependen de las concentraciones intracelulares y su mayor acción se produce en células con alta tasa de regeneración, como lo son las células neoplásicas, células de la médula ósea, de folículos capilares y las células epiteliales del tracto digestivo. Sabiendo esto se puede inferir que los efectos adversos relacionados con este fármaco van a darse principalmente en los tejidos anteriormente mencionados. Debemos destacar que la toxicidad y citotoxicidad dependerán de la duración de la exposición al fármaco, es decir que, una exposición prolongada incluso a dosis bajas puede producir efectos adversos. ^[2]

La inhibición que produce el MTX en la DHFR, afecta a otras enzimas por ejemplo a la MTHFR, que cataliza el paso de metilentetrahidrofolato a metiltetrahidrofolato. También es un precursor de nucleótidos, estando implicado en la vía de proliferación de las células, por lo que la inhibición de la MTHFR es también clave para el tratamiento antineoplásico. ^[2]

Existen también transportadores de aniones orgánicos, como por ejemplo los de la subfamilia Solute Carrier Organic Anion (SLCO), que actúan en la eliminación del MTX del organismo. Como ya fue mencionado, la duración de la exposición al fármaco es proporcional a los efectos adversos, por lo que la correcta funcionalidad de estos transportadores en el organismo que recibe el fármaco es de suma importancia para establecer un equilibrio y así lograr mantener concentraciones adecuadas de MTX, disminuyendo como resultado el riesgo de toxicidad. ^[2]

Dependiendo del tipo de célula podemos encontrar diferentes transportadores. En el hepatocito podemos encontrar SLCO1B1, SLC19A1, SLCO1B3, SLCO1A2, ABCC4, ABCC3 los cuales se encargan de la entrada del MTX a la célula; mientras que ABCC2 y ABCB1 se encargan del eflujo del fármaco hacia la bilis. En las células de los túbulos renales se encuentran los transportadores SLC22A8 y SLC22A6, que se encargan del flujo de entrada; por otra parte ABCC4 y ABCG2 se encargan del flujo de salida. En la célula blanco SLC19A1 se encarga de la entrada del MTX y los transportadores de la subfamilia ABC son los encargados de la eliminación hacia la sangre. ^[2] (Ver Figura 2)

6-Mercaptopurina

La 6-MP es un antineoplásico antimetabolito no nucleosídico de las bases púricas que se encuentra dentro de la familia de los fármacos llamados tiopurínicos. Este es absorbido por vía oral y su biodisponibilidad es de un 50%. Se une escasamente a proteínas y atraviesa mal la barrera hematoencefálica (BHE), y la vida media es de unos 20-60 minutos. Actúa como falso sustrato en el proceso de síntesis de los constituyentes esenciales de los ácidos nucleicos, provocando la síntesis de un ADN anómalo o incluso la detención del proceso y por lo tanto, favoreciendo la apoptosis de las células que lo incorporan a su ADN. ^[12]

Además la 6-MP tiene un efecto inmunosupresor directo mediante la inhibición de las células T citotóxicas y las células natural killer, e induce la apoptosis de las células T. Como efectos adversos se pueden producir: inmunodepresión, toxicidad hepática, toxicidad renal, riesgo de mielodepresión, aplasia medular y también tiene potencial mutagénico y cancerígeno. ^[12]

La 6-MP puede ser metabolizada mediante metilación a través de la TPMT que cataliza su s-metilación y se produce así un metabolito inactivo llamado 6-metilmercaptopurina (6-MMP) y en consecuencia reduce la transformación de las tiopurinas en nucleótidos de tioguanina citotóxicos. También, puede ser oxidada por la xantina oxidasa (XO) a ácido tioúrico (inactivo) o catabolizada a nucleótidos de la 6-tioguanina (6-TGN) a través de la hipoxantina-guanina-fosforribosil transferasa (HGFT o HPRT) como ser la 6-tioinosina monofosfato (6-TIMP). El efecto citotóxico de las tiopurinas es, finalmente, consecuencia de su conversión y acumulación intracelular en 6-TGN, especialmente en células hematopoyéticas. Los metabolitos de la 6-TGN son los responsables fundamentales de la actividad de estos fármacos, a través de su incorporación al ADN y ARN, y además ejercen un efecto antiproliferativo en la población de linfocitos mitóticamente activos. Además, la acumulación de metabolitos inactivos como la 6-MMP también está relacionada con efectos tóxicos. ^[13,14] Otra enzima importante participante del metabolismo de las tiopurinas es la Inosina trifosfato pirofosfatasa (ITPA), la cual cataboliza la transformación de 6-TIMP en 6-tioinosina trifosfato (6-tio ITP) el cual es un metabolito activo que también puede incorporarse al ADN. ^[15] (Ver figura 3)

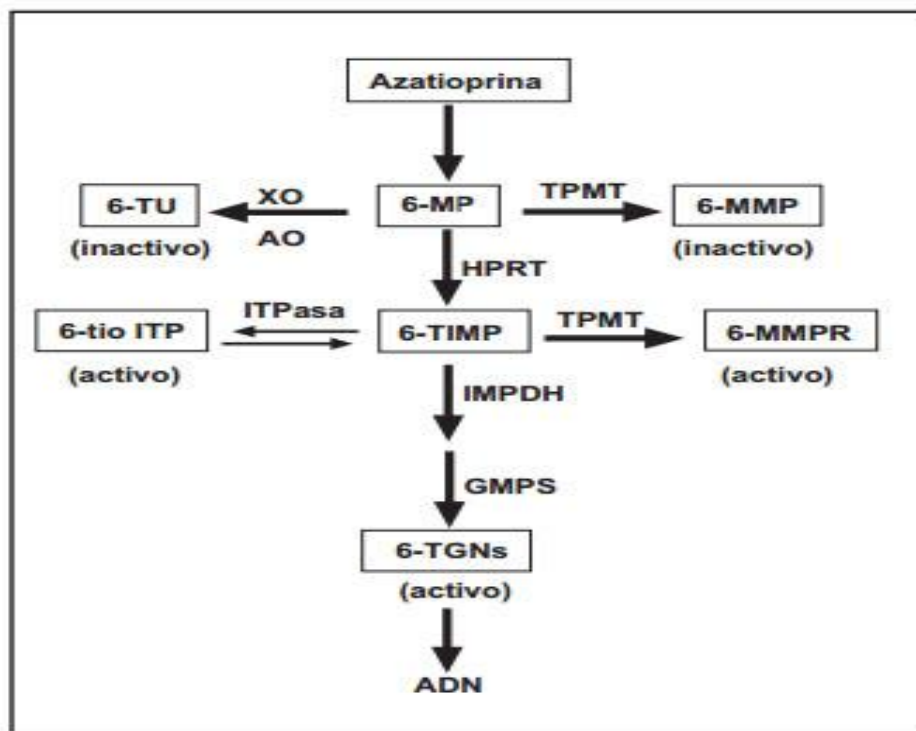


Figura 3. Metabolismo de la 6-MP. Extraída de Álvarez et al. ^[16]

Se ha descrito que las mutaciones de ambas enzimas, TPMT e ITPA, están asociadas con la variabilidad individual del metabolismo intracelular de la 6-MP. El balance entre la concentración intraeritrocitaria de 6-TGN y las concentraciones de 6-MMP tienen un importante impacto en la eficacia del tratamiento de la LLA en niños. ^[13]

Existe una familia de proteínas llamada NUDIX, que se encargan de eliminar nucleótidos anómalos y evitar que se incorporen al ADN. Ejemplos son la NUDT1 (también conocida como MTH1), la cual se encarga de eliminar el 8-oxo-dGTP, un nucleótido modificado, resultado de la acción de especies reactivas del oxígeno y de importancia en la supervivencia de células cancerígenas; otro ejemplo es la NUDT15, la cual se creía que tenía un rol similar a la MTH1, pero estudios recientes sugieren que su importancia radica en la neutralización de metabolitos de 6-TGN y por lo tanto se le atribuye una acción directa sobre la sensibilidad al tratamiento con tiopurinas. ^[17, 18]

OBJETIVOS

- **Objetivo General:**

- Conocer mediante revisión bibliográfica los polimorfismos de los genes que codifican las proteínas y enzimas que participan en el metabolismo del MTX y la 6-MP, y su relación con la toxicidad en respuesta a las dosis estándar utilizadas en el tratamiento de la LLA pediátrica.

- **Objetivos Específicos:**

- Realizar una búsqueda bibliográfica en las bases de datos científicos más importantes sobre estudios que abarquen el tema propuesto.

- Identificar cuáles son los principales genes involucrados en el metabolismo de los fármacos mencionados más investigados en la literatura actual.

- Buscar los polimorfismos más prevalentes que se relacionan con los diferentes niveles de respuesta al tratamiento en los distintos grupos poblacionales.

- Describir la asociación entre distintos genes, sus respectivos polimorfismos y el aumento en la probabilidad de intolerancia al tratamiento.

- Analizar los beneficios del genotipado previo como herramienta fundamental para la implementación de tratamientos individualizados de la LLA pediátrica.

RESULTADOS

A continuación se realiza un análisis de los resultados obtenidos en los diferentes estudios, con enfoque en los diferentes fármacos utilizados en la etapa de mantenimiento, durante el tratamiento de la LLA pediátrica.

Farmacogenética del Metotrexato

Con respecto a este fármaco existen varios estudios, los cuales describen su metabolismo, las proteínas involucradas en el mismo y como sus mutaciones generan diferentes respuestas interindividuales al tratamiento.

Transportadores

Una proteína importante en la eliminación del fármaco es SLCO1B1, perteneciente a la familia de transportadores de membrana, que se encuentra en la membrana de los hepatocitos. Se encarga de transportar al MTX desde la sangre hacia el hígado, para eliminarlo por vía biliar. ^[19]

Dos de los estudios analizados se enfocan en su función y la relacionan con la toxicidad en la terapia. El primero fue realizado en una población pediátrica española perteneciente al Hospital Cruces, Hospital Donostia y Hospital La Paz. Los polimorfismos estudiados fueron rs4149081 y rs11045879, para los cuales se encontró una relación de ambos con un menor índice de aclaramiento del fármaco. No llegó a ser estadísticamente significativa debido, probablemente, a un resultado sesgado ya que la frecuencia alélica de estas mutaciones es muy baja para las poblaciones estudiadas. ^[19]

El segundo estudio corresponde a una revisión bibliográfica, en la cual se abarcan poblaciones pediátricas de distintos orígenes y etnias. Se investigaron los mismos polimorfismos de SLCO1B1 (rs4149081 y rs11045879), se encontró una asociación con un menor índice de aclaramiento del fármaco debido a un transporte deficiente y con mayor toxicidad gastrointestinal. Su conclusión es que si bien no existen marcadores farmacogenéticos para el MTX por el momento, este transportador tiene un rol muy importante y los resultados son consistentes y prometedores en vistas al futuro. ^[2]

La misma revisión también se enfocó en otros transportadores como por ejemplo SLC19A1. Un polimorfismo en el mismo (G80A), se asoció a una mutación en la proteína que derivaba en un transporte celular menos eficiente. Se demostró que los niños con esta variante tienen peor

pronóstico y esto fue determinado por una supervivencia libre de efectos adversos disminuida. La homocigocidad se asoció con mayores niveles de MTX y también con interrupción del tratamiento, toxicidad gastrointestinal, hematológica y hepática. ^[2]

Otro transportador estudiado fue ABCB1, para el cual se analizaron tres alelos polimórficos en el gen multidroga resistente (MDR1) y se encontraron los siguientes genotipos: homocigoto para MDR1 2677GG, 3435CC, y 2677G – 3435C; se llegó a la conclusión de que están asociados con una reducción significativa en la supervivencia libre de eventos. ^[2]

Con los resultados obtenidos para estos transportadores surge el interés por estudiar otros transportadores de membrana. Algunos de los estudiados son SLCO1A2, ABCC4, ABCC2. En todos ellos se ha establecido una relación con la respuesta al MTX, una disminución del aclaramiento y toxicidad, aunque se sugiere realizar más estudios para confirmar los resultados ya que no han sido ampliamente estudiados. ^[2]

Metilentetrahidrofolato Reductasa

Existe una enzima fundamental en el metabolismo de los folatos, la MTHFR. Ha sido ampliamente estudiada y constituye uno de los blancos principales del MTX. ^[2]

De los estudios analizados, ocho de ellos se han enfocado en esta enzima. Los polimorfismos estudiados fueron C677T (rs1801133) y A1298C (rs1801131). ^[2]

En cuanto al C677T existen resultados contradictorios entre los diferentes estudios: si bien algunos afirman que hay una relación entre su mutación y la toxicidad, otros aseguran que dicha relación no existe y otros le atribuyen un rol protector. Se sugiere que estas diferencias se deben a un bajo poder estadístico debido a estudios llevados a cabo con poblaciones pequeñas, no homogéneas, utilización de diferentes protocolos de tratamiento y criterios de toxicidad. ^[2]

Se ha encontrado que esta variante codifica una enzima con un nivel de actividad menor y también se la ha asociado a concentraciones más elevadas de MTX en los individuos que presentan un genotipo TT y CT, en comparación con los CC (wild-type). ^[2, 4, 20, 21, 22]

Uno de los estudios que establecen dicha relación es un meta-análisis en el cual se incluyeron 14 estudios, los cuales fueron realizados en diferentes poblaciones (africanos, asiáticos y caucásicos). El mismo identificó que los polimorfismos se asociaban a un riesgo aumentado de toxicidad hepática en africanos y caucásicos, pero no en asiáticos. También se identificó una asociación entre los polimorfismos y el riesgo aumentado de desarrollar mucositis oral en africanos y asiáticos, pero no en caucásicos. Los resultados pueden haber sido sesgados debido

a la presencia de mucha heterogeneidad entre los diferentes estudios incluidos en el meta-análisis, ya que algunos fueron en población pediátrica y otros en adultos, también hubo una diferencia en las dosis de MTX utilizadas. Los criterios para referirse a la toxicidad en respuesta al tratamiento también variaron de un estudio a otro. ^[20]

Por otro lado, hay dos estudios que niegan la existencia de una relación entre este polimorfismo y la toxicidad. Uno de ellos se basa en un re-análisis sobre otro estudio, en el cual se llega a la conclusión de que la mutación en C677T no es un buen predictor de toxicidad, incluso demostrando en una pequeña proporción que podría ser un factor protector. ^[23]

El otro estudio que lo aborda, afirma que luego de realizar un análisis exhaustivo de la bibliografía y llevar a cabo un meta-análisis se llegó a la conclusión de que no es un buen marcador para predecir la toxicidad y no debería ser utilizado como un parámetro para modificar las dosis de MTX durante el tratamiento. ^[24]

En una revisión bibliográfica se menciona un meta-análisis llevado a cabo utilizando 24 artículos y en el mismo no se encontraron asociaciones entre C677T y los criterios de toxicidad. Estos resultados llevan a la conclusión de que no hay evidencia para apoyar el uso de la mutación C677T como un marcador de toxicidad para el MTX. ^[2]

Respecto a la A1298C los resultados también son contradictorios. Hay estudios que afirman que hay una relación significativa entre la toxicidad y la presencia de este polimorfismo. El riesgo de toxicidad aumenta por las concentraciones más elevadas de MTX, respecto a los individuos sin mutaciones. ^[4, 22]

Hay estudios que asocian dicho polimorfismo con niveles menores de MTX, afirmando que el mismo constituye un factor protector. Más específicamente, no se encontraron asociaciones significativas con toxicidad hepática, mielosupresión, mucositis oral, toxicidad gastrointestinal, toxicidad hematológica, neurotoxicidad ni neutropenia. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre este polimorfismo y el menor riesgo de desarrollar toxicidad cutánea. ^[19, 20]

Una revisión bibliográfica afirma que en un meta-análisis realizado recientemente utilizando 24 artículos no se encontró una relación con toxicidad, excepto por un posible factor protector del genotipo 1298CC ante la leucopenia. ^[2]

La variabilidad entre los diferentes resultados y conclusiones se deben probablemente a las mismas consideraciones tenidas en cuenta para la mutación C677T: muestras pequeñas, no homogéneas, diferentes criterios de toxicidad y diferentes protocolos de tratamiento y dosis de MTX.

Dihidrofolato Reductasa

Otra de las enzimas estudiadas es la DHFR. Solamente uno de los estudios analizados se refirió a la relación de ésta con toxicidad por MTX. Los polimorfismos analizados correspondían a la región promotora del gen. Una menor supervivencia libre de eventos se asoció con homocigocidad para el alelo A-317 y el C-1619, y para el haplotipo *1 dado por C-1610 y A-317. El haplotipo *1 generó más actividad transcripcional y en análisis cuantitativos se detectaron mayores niveles de DHFR para este haplotipo en particular. En conclusión, los polimorfismos en los promotores de DHFR están asociados con un peor resultado, debido a una expresión aumentada de la enzima. ^[2]

También se encontró un polimorfismo que se encuentra en el nucleótido 223 en la región downstream (C829T) que se relaciona con la estabilización del ARNm y esto lleva a una expresión aumentada de la DHFR y por lo tanto una menor supervivencia libre de eventos. Estos resultados se deben a que la sobreexpresión de DHFR conlleva a que las dosis normales establecidas en el tratamiento no sean suficientes para inhibir la acción de ésta enzima. Como opción terapéutica sería planteable un aumento en la dosis de MTX, pero esto llevaría a un riesgo aumentado de generar toxicidad por otras vías metabólicas. ^[2] (Ver figura 2)

Farmacogenética de la 6-Mercaptopurina

Tiopurin-S-metil Transferasa

Hay múltiples estudios relacionados con los diferentes polimorfismos, sus frecuencias poblacionales, y su relación con las respuestas al fármaco.

La variabilidad interindividual de la respuesta a las dosis estándar del tratamiento con 6-MP se explica en gran parte por diferencias en la actividad enzimática de la TPMT en cada paciente, dada por los diferentes polimorfismos de la misma. ^[2, 22, 25]

En una revisión bibliográfica basada en diferentes estudios realizados en distintas etnias, se describen las siguientes variables alélicas: TPMT*2 (G238C), TPMT*3A (G460A y A719G que representan la asociación de TPMT*3B y TPMT*3C) y TPMT*3C (A719G). Las anteriores son las mutaciones más prevalentes y están asociadas a pérdida de actividad catalítica de la TPMT, es decir, son alelos disfuncionales (aunque se han descrito más de 20 variantes de TPMT menos activos). Representan un 95% de la variabilidad hereditaria de la enzima. [2]

Otro estudio identifica además de los alelos mencionados anteriormente, otra variable frecuente: TPMT*3B (G460A). También se presenta una tabla de frecuencias de las variaciones alélicas y su prevalencia en diferentes poblaciones con potencial impacto terapéutico. [22]

De los estudios analizados, tres de ellos hacen referencia a una distribución trimodal de la actividad enzimática de la TPMT (alta, intermedia o baja). Aproximadamente 90% de la población tiene dos alelos activos de la TPMT (TPMT*1, wild type) y actividad alta de la proteína. Un 5 a 10% de las personas tienen un alelo no funcional de TPMT (son heterocigotos para la enzima) y actividad intermedia, y solo 0,3% de las personas tienen actividad deficiente de la enzima, con ambos alelos no funcionales, es decir, son homocigotos para alguna de las mutaciones. [2, 22, 25]

En Chile, según un estudio realizado con 103 pacientes pediátricos con diagnóstico confirmado de LLA, la frecuencia total de variantes alélicas de la TPMT fue del 8%. Los alelos TPMT*2, TPMT*3A y TPMT*3B fueron encontrados en 0%, 7% y 1% de los pacientes, respectivamente. [26] (Ver tabla 1)

Tabla 1.
Frecuencias genotípicas de TPMT en 103 niños chilenos con LLA

<i>Genotipos</i>	n = 103	%
TPMT		
TPMT*1/ TPMT*1	95	92
TPMT*2/ TPMT*1	0	0
TPMT*3A/ TPMT*1	7	7
TPMT*3B/ TPMT*1	0	0
TPMT*3C/ TPMT*1	1	1

Modificado de Farfan et al. [26]

La frecuencia y distribución de estos alelos en Chile son similares a las cifras en hispanos y en otros países de América Latina. ^[26]

Se encontró una significativa disminución de la actividad enzimática en pacientes portadores de polimorfismos comparados con los pacientes con genotipo wild type. ^[26] (Ver figura 4)

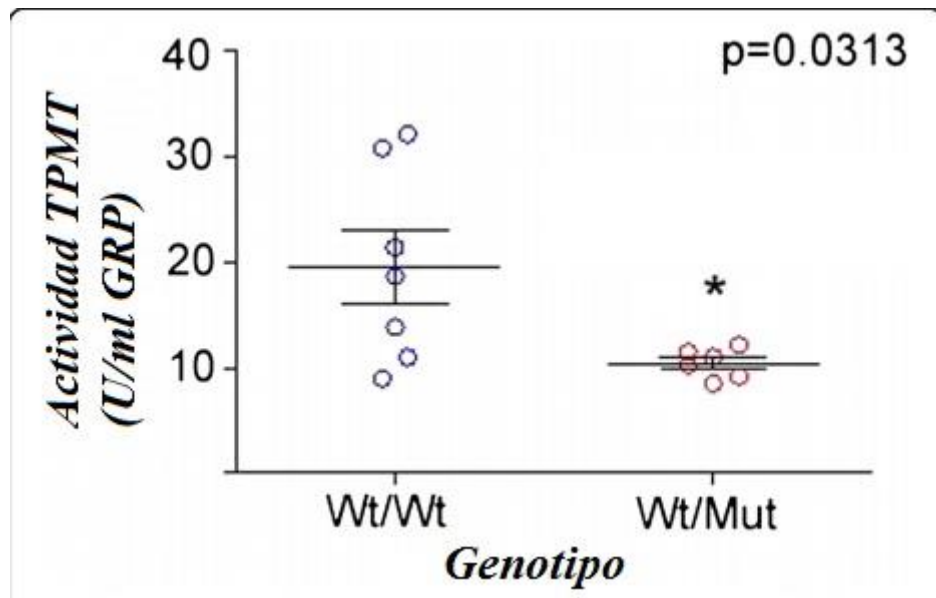


Figura 4. Actividad de TPMT según genotipo. Actividad enzimática medida en glóbulos rojos (GRP) en distintos genotipos. Wt/Wt- homocigoto wild type; Wt/Mut – Heterocigoto con un alelo mutado. Modificada de Farfan et al. ^[26]

A su vez, se realizó un análisis con un subgrupo de 40 pacientes que completaron la fase de mantenimiento. De estos, un 88% eran portadores de alelos wild type y un 12% presentaban una variante alélica de TPMT. Se demostró que las dosis medias diarias y las dosis acumulativas requeridas por ambos grupos son diferentes, siendo estas dosis menores para los pacientes con genotipo variante. ^[26] (Ver figura 5)

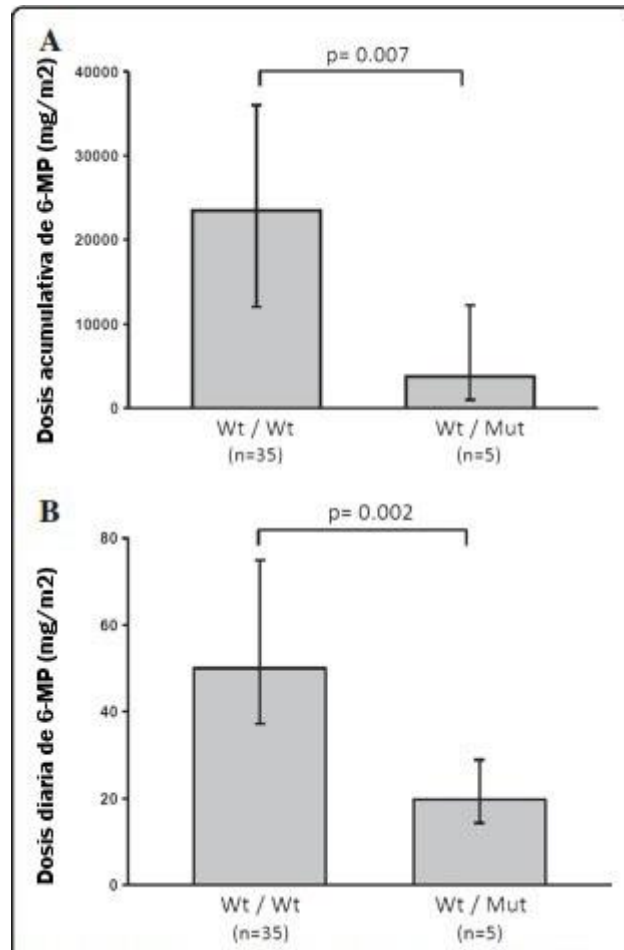


Figura 5. Dosis del fármaco requeridas según el genotipo. A-Dosis acumulativa de 6-MP. B-Dosis diaria de 6-MP.

Wt/Wt- homocigoto wild-type. Wt/Mut – Heterocigoto con un alelo mutado. Modificada de Farfan et al. [26]

A pesar de que otros estudios indican que los polimorfismos de la TPMT están asociados a toxicidad por 6-MP, este estudio no encontró resultados significativos. [26]

Existen múltiples estudios realizados en Brasil que arrojan diferentes resultados. En una investigación realizada en este país con 116 individuos, 12 de ellos portaban alelos mutados: TPMT*2, TPMT*3C y TPMT*3A, con frecuencias de 8%, 16% y 75% respectivamente. Todas las mutaciones fueron heterocigotas con un alelo normal. En 104 pacientes no se encontraron mutaciones (TPMT*1, wild type). [27] A pesar de que en este estudio la mutación más frecuente es la TPMT*3A, en otro estudio realizado en Brasil, llevado a cabo por Reis et al (2003), el más frecuente fue TPMT*3C (más frecuente en africanos, asiáticos, afro-americanos, chinos y japoneses). [28] Por otro lado Boson et al (2003) encontraron una mayor frecuencia del TPMT*2, estudio que también fue realizado en población brasileña. La explicación posible para estos diferentes resultados podría ser la heterogeneidad de dicha población. [29]

En el estudio de Silva et al (2008), no se registraron resultados significativos con respecto a la relación entre la presencia de mutación con el sexo, con el conteo de leucocitos, de neutrófilos y porcentaje de interrupción de la quimioterapia al compararse con el grupo sin mutación. En relación a las complicaciones, 28 de los pacientes tuvieron enfermedad recurrente (5 de ellos presentaban una mutación) y 20 de ellos fallecieron. ^[27]

Ha sido comprobado en diferentes publicaciones que los pacientes con deficiencia de la TPMT tienen concentraciones intraeritrocitarias de 6-TGN aumentadas y concentraciones menores de 6-MMP, al compararlos con pacientes con actividad enzimática alta. Pacientes con deficiencia homocigota de TPMT pueden ser satisfactoriamente tratados con aproximadamente 10-20% de la dosis convencional de 6-MP. Sin embargo, en este estudio no existieron resultados congruentes con lo antedicho. ^[27]

Se esperaban interrupciones de la quimioterapia más frecuentes o más largas en los pacientes con los alelos mutados, ya que el protocolo no se acomodó según sus necesidades. Sin embargo, dicha relación no se observó. La intensidad del tratamiento quimioterápico utilizado en este estudio (protocolo GBTLI LLA-93 y GBTLI LLA-99) puede no haber sido suficiente para alcanzar el nivel de mielosupresión esperado, sobre todo en pacientes con mutación en el gen TPMT. Esto podría explicar la ausencia de diferencias significativas en el pronóstico de los pacientes con y sin polimorfismos. ^[27]

Los homocigotos para los alelos mutados de la enzima, es decir, los que presentan una baja actividad de la TPMT, tienen mayor riesgo de toxicidad que las dos anteriores, particularmente mielotoxicidad, ya que existe una acumulación mayor de metabolitos activos de la 6-MP en las células sanguíneas (6-TGN). Estos individuos son los que se benefician de una reducción de la dosis estándar del fármaco, debiéndose utilizar un 10% de la misma para el tratamiento en la etapa de mantenimiento. ^[2]

La actividad intermedia de la enzima podría estar relacionada con un aumento en la incidencia de cánceres secundarios (leucemia mieloide aguda, síndromes mielodisplásicos, tumores cerebrales) y una toxicidad relacionada con la 6-MP moderada. ^[22]

La disminución de las dosis estándar en pacientes heterocigotos es motivo de discusión, siendo que un grupo de investigadores indica que los pacientes se beneficiarían de dicha reducción, sin embargo otro grupo sostiene que la mencionada heterocigosis no aumenta la probabilidad de toxicidad. Los grupos que defienden la reducción han propuesto que los heterocigotos para

TPMT tratados con dosis más altas (75 mg/m²/día) son los más beneficiados, mientras que los tratados con dosis menores no presentan riesgo mayor de toxicidad hematológica. ^[2]

Otra investigación analizada informa que el principal riesgo de la reducción de la dosis en pacientes heterocigotos es la utilización de dosis más bajas de tiopurinas de las tolerables por el individuo, sin embargo hay estudios que demuestran que el estado estacionario se alcanza entre 2-4 semanas, lo que significa que el periodo infradosis será de corta duración, y por lo tanto el resultado no se ve modificado. ^[30]

Con respecto a la TPMT de alta actividad, se concluye que se relaciona con efectos adversos menos expresivos. Sin embargo, al desviarse la metabolización hacia la producción de 6-MMP, con concentraciones más altas de este metabolito inactivo, aumenta el riesgo de hepatotoxicidad. Además, se producen menores concentraciones de 6-TGN citotóxicos, relacionándose con efectividad reducida del tratamiento y aumento del riesgo de recaída. ^[22]

Se concluye que, al existir múltiples estudios que demuestran la importancia del genotipo en la variabilidad de la actividad enzimática, y ésta a su vez en la producción de diferentes efectos adversos mediados por las diferentes concentraciones de los metabolitos, es importante y está altamente recomendado realizar estudios de genotipado para individualizar la dosis a utilizar en cada paciente. Actualmente existen guías en las cuales se indican las directivas del tratamiento con 6-MP según la actividad enzimática. ^[2] Éstas incluyen información sobre las frecuencias alélicas de las variantes de la enzima en diferentes grupos étnicos y los diferentes planes del tratamiento individualizado. ^[31]

NUDT 15

En un estudio realizado con 270 niños de diferentes etnias se investigó sobre las variantes codificantes del gen de la proteína NUDT15, y en este se identificaron cuatro de las mismas en los exones 1 y 3. Las variantes c.415C>T y c.416G>A codificaban un cambio de la arginina en la posición 139, por una cisteína y por una histidina respectivamente. Las otras 2 variantes fueron c.52G>A y c.36_37insGGAGTC ambas afectaron un residuo de valina, el primero tenía un cambio por isoleucina y el segundo una adición de glicina y valina (p.Val18_Val19insGlyVal). Se estudió la velocidad de catalización de las reacciones de la enzima y se constató que en las cuatro variantes había una pérdida de la actividad catalítica de un 74,4% a un 100%. Por lo tanto se concluyó, que a mayor actividad enzimática, mayor tolerancia a la 6-MP. ^[32]

Existe un análisis retrospectivo sobre la asociación entre la ITPA, NUDT15, la mielosupresión asociada a 6-MP y su mediana de dosis acumulativa. Tomando un cohorte de pacientes de 1 a 15 años de edad que recibieron tratamiento de mantenimiento y que fueron estudiados desde enero del 2014 a enero del 2015 en el King Chulalongkorn Memorial Hospital (Tailandia). Describe que la variante c.415C>T se asoció fuertemente con mielosupresión temprana inducida por 6-MP. Además, los pacientes con variables de NUDT15 CT o TT tenían un riesgo significativo de neutropenia dos meses después del comienzo de la administración del fármaco e incluso, un seguimiento más extendido a los cuatro a seis meses demostró mayores riesgos.^[33]

También se demostró que la variante c.415C>T es un factor determinante para la leucopenia producida por 6-MP. Los homocigotos para TT podían tolerar sólo el 8,3% de la dosis estándar del fármaco, comparado con los genotipos TC y CC que toleraban 63% y 83,5% de la dosis estándar respectivamente.^[33, 34]

ITPA

Existen polimorfismos genéticos que se relacionan con variabilidad en la actividad de la ITPA.
^[15, 35]

Se realizó un análisis que incluía a 246 niños en tratamiento de LLA, de los cuales se tomaron en cuenta los resultados de 244 de ellos. Los 2 no incluidos no pudieron ser evaluados. De los estudiados, 4,5% presentaban una variante alélica para TPMT y un alelo wild type para la ITPA. Un 13,5% presentaban una variante alélica para ITPA y un alelo wild type para la TPMT. Un paciente (0,41%) presentaba variantes alélicas para ambos genes. El resto de los individuos eran homocigotos wild-type (81,6%). Se estudió la frecuencia de la funcionalidad de la enzima y se observó que en individuos caucásicos hay una distribución bimodal en la cual un 5 a 10 % tienen actividad residual, en un rango que va desde 0 a 85% de actividad.^[35]

En otro estudio con 66 niños padecientes de LLA en terapia de mantenimiento se determinaron también los polimorfismos de TPMT y de ITPA presentes, su asociación y luego las concentraciones de los metabolitos de la 6-MP. Se describió que la mutación ITPA IVS2 + 21 A>C (rs 7270101) tiene consecuencias funcionales en la enzima, pero no ha tenido relación con las concentraciones de metabolitos de la 6-MP y que, por el contrario, el polimorfismo ITPA 94 C>A (rs41320251) sí es un determinante significativo del metabolismo del fármaco y por ende de las concentraciones de sus metabolitos.^[15]

La actividad de la ITPA es de 10% del total en heterocigotos con ambos alelos variantes (ITPA IVS2 + 21 A>C / ITPA 94 C>A).^[15]

En relación a la variante ITPA 94 C>A, la mutación no tuvo influencia en las concentraciones de 6-TGN citotóxicos pero si en las concentraciones de 6-MMP, ya que se demostró que esta concentración era mayor para los heterocigotos con uno de sus alelos mutados, que para los genotipos wild type. En este análisis se concluyó que las concentraciones intraeritrocitarias de 6-TGN son dependientes del genotipo de TPMT y de la edad del paciente, mientras que las concentraciones de 6-MMP dependen de los polimorfismos de ITPA y de los de TPMT. Niños con edades de 6 años o menos presentaban menores concentraciones intracelulares de 6-TGN que los de mayor edad, quedando demostrada la influencia de la misma en el metabolismo intracelular. Se demostró que la hepatotoxicidad es una complicación frecuente en el tratamiento con 6-MP y MTX, como se ha mencionado anteriormente. ^[15]

El polimorfismo ITPA 94 C>A, además de ser un determinante importante del metabolismo de la 6-MP, es un determinante de la neutropenia febril severa durante el tratamiento de pacientes con LLA tratados con quimioterapia de combinación con dosis individualizadas según el genotipo de TPMT y la concentración de 6-TGN. ^[35]

Según una revisión bibliográfica, al centrarse en la variabilidad de las concentraciones de la 6-MMP existe una participación mixta dada por la variante ITPA 94 C>A y el genotipo variante de la TPMT:

- Variante TPMT/ Wild type ITPA: tienen la menor concentración de 6-MMP.
- Wild type TPMT / Wild type ITPA: concentraciones intermedias de 6-MMP.
- Wild type TPMT / Variante ITPA: tienen las concentraciones más altas de 6-MMP.

Este estudio afirma que los niveles altos de 6-MMP están relacionados con toxicidad hepática.

^[22]

El polimorfismo ITPA 94 C>A no mostró diferencias significativas con los demás genotipos con respecto a mielosupresión inducida por 6-MP. ^[2]

Otro polimorfismo estudiado es el rs1127354, que también provoca deficiencia en la actividad de la enzima. Esta variante alélica es más frecuente en la población asiática (0,11%) que en europeos y africanos (0,08% y 0,03% respectivamente). Un estudio con 244 pacientes de diferentes etnias demostró que los individuos que eran portadores de la mutación tenían mayor riesgo de neutropenia febril severa durante la etapa de mantenimiento con 6-MP. En los asiáticos también se asoció fiebre, hematotoxicidad y toxicidad hepática. ^[2]

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Existe una amplia cantidad de estudios que se centran en la farmacogenética de la LLA pediátrica. Los mismos presentan diferentes enfoques: algunos investigan frecuencias poblacionales de los polimorfismos genéticos de proteínas involucradas en el metabolismo del MTX y la 6-MP, mientras que otros relacionan estas mutaciones con diferentes grados de funcionalidad de las mismas y el riesgo de toxicidad resultante.

A pesar de la existencia de múltiples investigaciones, la mayoría de los resultados carecen de replicabilidad e incluso muchos de ellos arrojan conclusiones contradictorias. Probablemente estas diferencias se deban a sesgos dados por muestras pequeñas, no homogéneas, utilización de diferentes protocolos de tratamiento, dosis de los fármacos y criterios de toxicidad.

En la actualidad los únicos marcadores farmacogenéticos para los cuales existe suficiente evidencia, son los polimorfismos de la TPMT. Ya han sido implementadas en la práctica clínica guías en las cuales se realiza un genotipado previo al inicio del tratamiento y el posterior ajuste de dosis de 6-MP, con el objetivo de lograr un tratamiento individualizado, efectivo y con la menor cantidad de efectos adversos posibles.

Debido a la existencia de poblaciones en las cuales los polimorfismos de TPMT son infrecuentes, ha surgido el interés por buscar nuevos marcadores farmacogenéticos como por ejemplo NUDT15, cuyos polimorfismos se relacionaron con pérdida de la actividad catalítica de la enzima y menor tolerancia a la 6-MP. Si bien estas conclusiones son importantes, se requiere la realización de nuevas investigaciones para confirmarlas.

Se han obtenido resultados prometedores en cuanto a los transportadores de MTX en estudios recientes. El más estudiado ha sido el SLCO1B1 y se lo ha asociado a una disminución en el índice de aclaramiento del fármaco. De estos avances surge el interés por estudiar otros transportadores involucrados en el metabolismo del MTX, pudiendo estos ser de gran relevancia pero aún se requieren más estudios.

Todos los estudios mencionados anteriormente se enfocan en la región codificante de proteínas del genoma, la cual corresponde a un 1,5% del mismo. Debido a esto surge el interés por estudiar el resto del genoma, lo cual podría tener relevancia en el tema, un ejemplo de esto son los miARNs, los cuales constituyen un nuevo campo de estudio en vistas al futuro.

En Uruguay aún no existen publicaciones en las que se haya estudiado la farmacogenética de la LLA, por lo que sería de gran importancia el desarrollo de investigaciones en vistas a determinar las características genéticas de nuestra población y así lograr una individualización del tratamiento.

REFERENCIAS

- 1- Checa MA. Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2007; Vol 20 (Num 3): p. 213-221
- 2- López-López E, Gutiérrez-Camino A, Bilbao-Aldaiturriaga N, Pombar-Gomez M, Martín-Guerrero I, García-Orad A. Pharmacogenetics of childhood acute lymphoblastic leukemia. Pharmacogenomics. 2014; 15 (10): 1383-1398.
- 3- López-López E, Gutiérrez-Camino A, Piñán M, Sánchez-Toledo J, Uriz J, Ballesteros J, et al. Pharmacogenetics of MicroRNAs and MicroRNAs Biogenesis Machinery in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. PLoS One. 2014; 9(3).
- 4- Ferrari OA. Aspectos farmacogenéticos no tratamento da leucemia linfoblástica aguda. Porto Alegre, Brasil. 2010. Disponible en <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/70069/000777792.pdf?sequence=1>
- 5- Reyner J, E, Ribera Santana J.M, Gil J. S. Leucemias Agudas. En: Rozman C/ Cardellach F. Medicina Interna. 17ª edición. Barcelona, España: Elsevier; 2012. 1577-1591.
- 6- Tubergen DG, Bleyer A. Leucemias. En: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editores. Nelson Tratado de Pediatría Vol 1. 18ª edición. México: Elsevier; 2008. p. 2116-2122.
- 7- Hernández C. Leucemia Linfóide Aguda Diagnóstico, Estudio y Tratamiento. Manual de Prácticas Médicas- Hospital Hermanos Ameijeiras. Disponible en <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/llaarreglado.pdf>
- 8- Sociedad Argentina de Hematología. Leucemia Linfoblástica Aguda. 2012. Disponible en http://sah.org.ar/docs/83-116.2A.SAH_GUIA2012_LeucemiaLinfoblasticaAg.pdf.
- 9- Grupo BFM Intercontinental. Normas del tratamiento de la Leucemia Linfóide Aguda con el protocolo IC-BFM2002 Instituto de hematología e Inmunología. Disponible en http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/lla_pediatria.pdf

- 10- Iqb.es [Internet]. Madrid: Instituto Químico Biológico; 2014 [actualizado 14 Feb 2014; citado 10 jul 2016]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/m035.htm>.
- 11- Vademecum.es [Internet]. Madrid: Vidal Vademecum Spain; 2010 [actualizado 2 Jun 2016; citado 10 jul 2016]. Disponible en: <http://www.vademecum.es/principios-activos-metotrexato-L01BA01>.
- 12- Florez J. Quimioterapia antineoplásica. En: Florez J. Farmacología Humana. 5ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008. Masson. p. 1135-1142.
- 13- Vademecum.es [Internet]. Madrid: Vidal Vademecum Spain; 2010 [actualizado 5 May 2016; citado 10 jul 2016]. Disponible en: <http://www.vademecum.es/principios-activos-mercaptopurina-l01bb02>.
- 14- Gastal GR, Moreira S, Noble CF, Ferreira LE, de Franca P, Pinho M. TOXICITY OF AZATHIOPRINE: why and when? Analysis of the prevalence of polymorphism in Joinville, SC, Brazil. *Arq. Gastroenterol.* 2012; 49 (2): 130-134.
- 15- Adam de Beaumais T, Fakhoury M, Medard Y, Azougagh S, Zhang D, Yakouben K, et al. Determinants of mercaptopurine toxicity in paediatric acute lymphoblastic leukemia maintenance therapy. *Br J Clin Pharmacol.* 2011; 71(4):575-584.
- 16- Álvarez L, Venegas M, Larrondo M, Becerra N, Castro A, Quera R. Polimorfismo del gen de la tiopurina-S-metiltransferasa en donantes de sangre de un hospital universitario. *Rev Med Chile.* 2009; 137: 185-192.
- 17- Cai JP, Ishibashi T, Takagi Y, Hayakawa H, Sekiguchi M. Mouse MTH2 which prevents mutations caused by 8-oxoguanine nucleotides. *BBRC.* 2003; 305: 1073-1077.
- 18- Carter M, Jemth AS, Hagenkort A, Page B, Gustafsson R, Griese J, et al. Crystal structure, biochemical and cellular activities demonstrate separate functions of MTH1 and MTH2. *Nature Communications.* 2015; 6:7871.

- 19- López-López E, Martín-Guerrero I, Ballesteros J, Piñán A, García-Miguel P, Navajas A, et al. Polymorphisms of the SLC01B1 Gene Predict Methotrexate-Related Toxicity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2011; 57: 612-619.
- 20- Yang L, Hu X, Xu L. Impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms on methotrexate-induced toxicities in acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Tumor Biol*. 2012; 33: 1445-1454.
- 21- Wang S, Sun L, Zeng W, Wu W, Zhang W. Influence of genetic polymorphisms of FGPS, GGH, and MTHFR on serum methotrexate levels in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemoter Pharmacology*. 2014; 74 (2): 283-289.
- 22- Adam de Beaumais T, Jacqz Argain E. Pharmacogenetic determinants of mercaptopurine disposition in children with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Clin Pharmacol*. 2012; 68: 1233-1242.
- 23- López-López E, Ballesteros J, García Orad A. MTHFR 677TT genotype and toxicity of methotrexate: controversial results. *Cancer Chemoter Pharmacol*. 2011; 68: 1369-1370.
- 24- Euskonews.com [Internet]. España: Euskonews; 2014 [actualizado 13 Set 2014; citado 10 Jul 2016]. Disponible en: <http://www.euskonews.com/0655zbnk/gaia65501es.html>.
- 25- Evans WE. Pharmacogenetics of Thiopurine S-Methyltransferase and Thiopurine Therapy. *Ther Drug Monit*. 2004; 26(2): 186-191.
- 26- Farfan MJ, Salas C, Canales C, Silva F, Villarroel M, Kopp K, et al. Prevalence of TPMT and ITPA gene polymorphisms and effect on mercaptopurine dosage in Chilean children with acute lymphoblastic leukemia. *BMC Cancer*. 2014; 28: 14-299.
- 27- Rezende Silva M, de Oliveira BM, Borato Viana M, Murao M, Romanha J. Thiopurine S Methyltransferase (TPMT) Gene Polymorphism in Brazilian Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: Association With Clinical and Laboratory Data. *Ther Drug Monit*. 2008; 30(6):700-704.

- 28- Reis M, Santoro A, Suarez-Kurtz G. Thiopurine methyltransferase phenotypes and genotypes in Brazilians. *Pharmacogenetics*. 2003; 13: 371–373.
- 29- Boson WL, Romano-Silva MA, Correa F, et al. Thiopurine methyltransferase polymorphisms in a Brazilian population. *Pharmacogenomics J*. 2003;3: 178–182.
- 30- Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui C-H, Yee SW, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Thiopurine Methyltransferase Genotype and Thiopurine Dosing. *Clinical Pharmacology Therapeutics*. 2011; 89(3): 387-391.
- 31- Pharmgkb.org [Internet]. San Francisco: Pharmacogenomics. Knowledge. Implementation; 2016 [actualizado 15 Set 2016; citado 10 Oct 2016] Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/guideline/PA166104945>.
- 32- Moriyama T, Nishii R, Perez Andreu V, Yang W, Antillon Klusmann F, Zhao X, et al. NUDT15 polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. *Nature genetics*. 2016; 48 (4):367-373.
- 33- Chiengthong K, Ittiwut C, Muensri S, Sophonphan J, Sosothikul D, Seksan P, Suppipat K, Suphapeetiporn K, and Shotelersuk V. NUDT15 c.415C>T increases risk of 6-mercaptopurine induced myelosuppression during maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2016; 101(1): 24-26.
- 34- Yang J, Landier W, Yang W, Liu C, Hageman L, Cheng C, et al. Inherited NUDT15 Variant Is a Genetic Determinant of Mercaptopurine Intolerance in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2015; 33(11):1235-1242.
- 35- Stocco G, Cheok MH, Crews KR, Dervieux T, French D, Pei D, et al. Genetic Polymorphism of Inosine Triphosphate Pyrophosphatase Is a Determinant of Mercaptopurine Metabolism and Toxicity During Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Pharmacol Ther*. 2009; 85(2): 164–172.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal del Hospital Regional Salto y del Centro Universitario Región Litoral Norte (CENUR) sede Salto por permitirnos el ingreso a sus instalaciones para realizar el presente trabajo.

Así mismo a nuestro tutor Lic. Julio Da Luz y a Ana Soler por su apoyo en la elaboración de nuestra monografía y brindarnos datos no publicados sobre su investigación en curso.