

Actividad de la tiopurina metiltransferasa en la enfermedad inflamatoria intestinal. Un estudio en 7.046 pacientes españoles



Javier P. Gisbert^a, Fernando Gomollón^b, Carlos Cara^c, Marta Luna^a, Yago González-Lama^a, José María Pajares^a, José Maté^a y Luis G. Guijarro^d

^aServicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de la Princesa. Universidad Autónoma. Madrid.

^bServicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario. Zaragoza.

^cDepartamento Médico. UCB-Celltech Pharma. Madrid.

^dUnidad de Toxicología Molecular Hepática. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

FUNDAMENTO Y OBJETIVO: El objetivo del presente estudio es describir la actividad enzimática de la tiopurina metiltransferasa (TPMT) en un grupo muy numeroso de pacientes españoles con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), evaluar el efecto de algunas variables sobre dicha actividad y conocer la proporción de pacientes con baja actividad y, por tanto, mayor riesgo de mielotoxicidad por azatioprina/6-mercaptopurina.

PACIENTES Y MÉTODO: Se determinó la actividad de TPMT mediante un método radioquímico en pacientes con EII. La asociación entre diversas variables y la actividad de TPMT se estudió mediante regresión lineal múltiple.

RESULTADOS: Se incluyó a 7.046 pacientes, el 70% con enfermedad de Crohn, el 22% con colitis ulcerosa y un 8% con colitis indeterminada. El valor medio de TPMT fue de 20 U/ml (extremos: 0-46). La distribución de actividad de TPMT fue: un 0,5% con valores bajos (< 5 U/ml), un 11,1% con valores intermedios (5-13,7) y un 88,4% con valores altos (≥ 13,8). Los valores de TPMT no siguieron una distribución normal ($p < 0,001$). En el estudio univariante se demostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), aunque de dudosa relevancia clínica al ser mínimos, en los valores de TPMT en función de la edad, el sexo, el tipo de enfermedad y el tratamiento con azatioprina/6-mercaptopurina. En el estudio multivariante, el sexo y el tratamiento con 5-aminosalicilatos, glucocorticoides y azatioprina/6-mercaptopurina se asoció significativamente con la actividad de TPMT.

CONCLUSIONES: El 0,5% de los pacientes españoles con EII tiene una baja actividad enzimática de TPMT (< 5 U/ml, lo que indica un mayor riesgo de mielotoxicidad por azatioprina/6-mercaptopurina), una cifra similar a la descrita en otros países. Los diversos fármacos empleados en el tratamiento de la EII, como los 5-aminosalicilatos o la azatioprina/6-mercaptopurina, no parecen modificar de forma clínicamente relevante dicha actividad enzimática.

Palabras clave: Enfermedad de Crohn. Colitis ulcerosa. Enfermedad inflamatoria intestinal. Azatioprina. 6-mercaptopurina. Tiopurina metiltransferasa.

Thiopurine methyltransferase activity in the inflammatory bowel disease. A study on 7046 Spanish patients

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Our objective was to assess the activity of thiopurine methyltransferase (TPMT) in a very large number of Spanish patients with inflammatory bowel disease (IBD), to evaluate the influence of several variables (including azathioprine or 6-mercaptopurine) on that activity, and to know the proportion of patients with low TPMT activity and therefore high risk of myelotoxicity when treated with these drugs.

PATIENTS AND METHOD: TPMT activity in red blood cells (RBCs) was measured by a radiochemical method. The association between several variables and TPMT values was assessed by multiple linear regression.

RESULTS: 7046 patients were included (mean age: 37 years; 53% males): 70% with Crohn's disease, 22% with ulcerative colitis, and 8% with indeterminate colitis. Mean TPMT value was 20 (6) U/ml RBCs (minimum 0 and maximum 46). TPMT activity distribution was as follows: low levels (< 5 U/ml), 0.5%; intermediate (5-13.7), 11.1%; and high (≥ 13.8), 88.4%. TPMT values did not follow a normal distribution ($p < 0.001$). In the univariate study, statistically significant differences ($p < 0.001$), yet of doubtful clinical significance because its minimal magnitude, were demonstrated in TPMT values depending on age, sex, type of disease, and treatment with azathioprine/6-mercaptopurine. In the multivariate study, the variables associated with TPMT activity were: sex, treatment with 5-aminosalicylates, steroids and azathioprine/6-mercaptopurine.

CONCLUSIONS: This study shows that 0.5% of the Spanish patients with IBD have low TPMT activity (< 5 U/ml RBCs), a figure similar to that reported in other countries, these patients being at higher risk of myelotoxicity when treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. The drugs usually prescribed for the treatment of IBD, including 5-aminosalicylates and azathioprine/6-mercaptopurine, do not seem to modify in a clinically relevant manner TPMT activity.

Key words: Crohn's disease. Ulcerative colitis. Inflammatory bowel disease. Azathioprine. 6-mercaptopurine. Thiopurine methyltransferase.

Este estudio se ha financiado en parte con una beca concedida por el Instituto de Salud Carlos III (C03/02). Las determinaciones de la enzima TPMT se han realizado a través de un proyecto del Ministerio de Educación y Cultura (PM 98-0154), varios acuerdos Universidad-Empresa (60/2002, 7/2002) y un contrato de colaboración con la spin-off Cytochrome (64/2003), todos ellos financiados por UCB-Celltech Pharma.

Correspondencia: Dr. J.P. Gisbert.

Playa de Mojácar, 29. Urb. Bonanza. 28669 Boadilla del Monte. Madrid. España.

Correo electrónico: gisbert@meditex.es

Recibido el 8-11-2004; aceptado para su publicación el 8-2-2005.

La azatioprina (AZA) y su metabolito la 6-mercaptopurina (6-MP) son análogos de las purinas con actividad inmunomoduladora que se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades, entre las que se encuentra la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) crónica¹. La AZA se convierte en 6-MP, que puede ser metabolizada mediante metilación a través de la tiopurina metiltransferasa (TPMT), oxidada gracias a la xantina oxidasa a ácido tiourico, o catabolizada hacia nucleótidos de la 6-tioguanina (6-TGN) a través de la hipoxantina-guanina-fosforribosil transferasa. En suma, el efecto de la AZA y de la 6-MP es consecuencia de su conversión intracelular en 6-TGN, los cuales son los causantes fundamentales tanto de la actividad como de la toxicidad de estos fármacos, a través de su incorporación al ADN y ARN².

La dosis de AZA y 6-MP se ajusta habitualmente en función del peso del paciente, con lo que se pretende alcanzar la mayor eficacia terapéutica y, al mismo tiempo, reducir la incidencia de efectos adversos, aunque esto no siempre se consigue. Se han propuesto diversas estrategias para monitorizar de forma individualizada y de modo más fiable la dosis de AZA/6-MP con la intención, por una parte, de identificar a los pacientes con riesgo de toxicidad por estos fármacos y, por otro, a aquellos con dosis subterapéuticas e inmunodepresión inadecuada³. Entre estas estrategias se encuentra la determinación de los cambios en el volumen corpuscular medio, la confirmación de la inducción de una determinada leucopenia, la cuantificación de los 6-TGN y la monitorización de la actividad de la TPMT, habiéndose descrito esta última opción como la más prometedora³. Así, en los pacientes con baja actividad de la TPMT se observan elevadas concentraciones de estos metabolitos, mientras que en aquellos con actividad enzimática alta sus concentraciones son bajas³.

La farmacocinética de la AZA está sujeta a una importante variabilidad interindividual que se debe en gran parte a un significativo polimorfismo genético de la TPMT, habiéndose descrito 2 alelos que codifican 2 variantes enzimáticas, una de

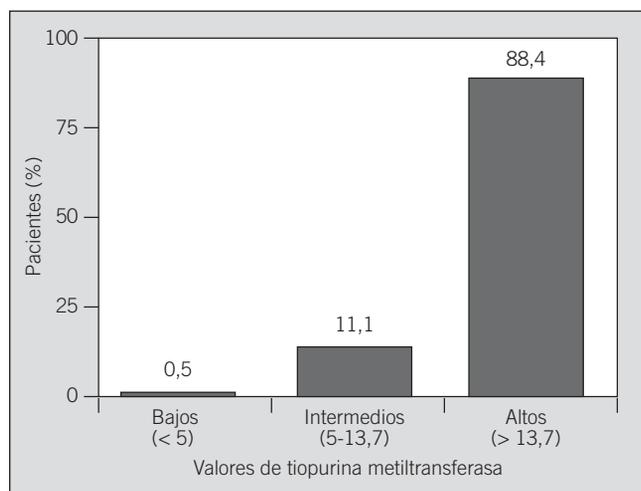


Fig. 1. Distribución de los pacientes en función de los valores de tiopurina metiltransferasa (U/ml) categorizados como bajos, intermedios y altos.

alta y otra de baja actividad⁴. De este modo, desde el punto de vista genotípico, hace ya más de 2 décadas que Weinsilbourn y Sladek⁵ estudiaron una muestra aleatoria de población de aproximadamente 300 individuos y establecieron el siguiente modelo de distribución trimodal: el 88,6% eran homocigotos para el alelo de alta actividad (TPMT^{HH}), el 11,1% eran heterocigotos (TPMT^{HL}) y tan sólo el 0,3% eran homocigotos para el alelo de baja actividad (TPMT^{LL}). No obstante, la actividad de la TPMT se ha valorado habitualmente en pacientes con otras enfermedades distintas de la EII y se ha planteado que la referida distribución trimodal podría ser diferente según la enfermedad de base^{6,7}. Incluso entre los pacientes con EII la frecuencia con la que se encuentra el genotipo o el fenotipo de baja actividad no siempre ha sido la misma³. En concreto, la experiencia en España es muy limitada^{6,8}, por lo que se desconoce si la actividad de la TPMT en los pacientes con EII de nuestro medio es similar a la descrita (en otras áreas geográficas o en pacientes con otras enfermedades). Este aspecto es clínicamente relevante, pues se asume que de la referida distribución —en especial de la proporción de pacientes con baja actividad de la TPMT— dependerá la incidencia de efectos adversos hematológicos y la consiguiente rentabilidad de su determinación sistemática.

El objetivo de nuestro estudio ha sido describir la actividad de la TPMT en un grupo muy numeroso (7.046) de pacientes españoles con EII y evaluar el posible efecto de algunas variables, entre las que destaca el tratamiento con AZA o 6-MP, sobre dicha actividad enzimática.

Pacientes y método

Se determinó la actividad de la TPMT en 7.046 pacientes procedentes de diversos hospitales españoles con el diagnóstico de EII desde el año 1998 hasta 2003. La solicitud de determinación de la actividad

de la TPMT, a criterio de su médico, iba dirigida a un único laboratorio (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Alcalá) e iba acompañada de un formulario donde se incluía información sobre el hospital de procedencia del paciente, la edad, el sexo, el tipo de EII (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o colitis indeterminada), el hematocrito y si estaba recibiendo algún tratamiento para la EII (5-aminosalicilatos, glucocorticoides, AZA, 6-MP u otros). Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes.

La actividad de la TPMT en los eritrocitos se determinó mediante un método radioquímico descrito previamente⁹. Este procedimiento se basa en la conversión de 6-MP a 6-metilmercaptapurina utilizando ³H-S-adenosil-L-metionina (3H-SAM) como donador de metilos. El ensayo se realiza en un volumen total de 150 µl, mediante adición secuencial de 5 µl de 6-MP (90 mM) en dimetil sulfoxido o 5 µl de dimetil sulfoxido solo, 15 µl de una mezcla de ditiotreitolo (DTT)/alopurinol en tampón de fosfato potásico (150 mmol/l; pH de 7,5), 15 µl de SAM no radiactivo (a diferentes concentraciones finales), 15 ml de SAM radiactivo (concentración final de 50 nmol/l) y, finalmente, 100 µl de lisado de eritrocitos. Las concentraciones finales de DTT y alopurinol fueron de 5 mmol/l y 25 mmol/l, respectivamente. La actividad específica de ³H-SAM fue de 15 Ci/mmol. Los tubos con la reacción se incubaron durante 1 h a 37 °C y la reacción se interrumpió por adición de 200 µl (0,5 mol/l) de tampón borato (pH de 10). Para la extracción del producto final de la reacción se añadieron 2,5 ml de alcohol isoamílico al 20% en tolueno, los tubos se agitaron vigorosamente durante 10 s y finalmente se centrifugaron a 700 g durante 5 min. En un vial con 2 ml de cóctel de centelleo se añadió una alícuota de 1 ml de la fase orgánica y se midió la radiactividad del líquido en un contador de centelleo. Los resultados se corrigieron con respecto a la disminución de la señal y eficacia de recuento (50%), así como por el rendimiento de la extracción de los productos de la reacción por la fase orgánica (70%). La actividad enzimática se expresó en unidades internacionales (nmol de 6-metilmercaptapurina formados por hora) por mililitro de eritrocitos empaquetados (U/ml hematíes).

Análisis estadístico

En las variables cualitativas se calcularon los porcentajes y en las variables cuantitativas, la media aritmética y la desviación estándar. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p inferior a 0,05. Para estudiar si los valores de TPMT se ajustaban a una distribución normal se evaluó visualmente dicha distribución y se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las medias de los valores de TPMT en función de diversas variables se compararon mediante el test de Wilcoxon para muestras independientes. Se planteó un modelo de regresión lineal múltiple en el que la variable dependiente era la actividad (en U/ml hematíes) de la TPMT. Las variables independientes del modelo máximo fueron la edad (categorizada en

mayor o menor de 37 años, que era el valor de la mediana), el sexo, el tipo de EII (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o colitis indeterminada), el hematocrito (categorizado en mayor o menor de 0,39 µl, valor de la mediana) y el tratamiento con 5-aminosalicilatos, glucocorticoides y AZA o 6-MP. Se empleó una estrategia de modelización hacia atrás, y se usó un nivel de significación del 5%. Finalmente, se realizó un análisis de los residuos del modelo de regresión lineal para evaluar si éstos seguían una distribución normal.

Resultados

Se incluyó en el estudio a 7.046 pacientes, el 70% con el diagnóstico de enfermedad de Crohn, el 22% con colitis ulcerosa y el 8% restante con colitis indeterminada. La edad media (desviación estándar) fue de 37 (16) años (extremos: 16-90 años; mediana: 37) el 53% eran varones. El valor medio del hematocrito fue de 0,39 (0,5) l/l, significativamente mayor en los varones que en las mujeres (0,40 y 0,38 l/l, respectivamente; p < 0,001).

La actividad de la TPMT se comenzó a cuantificar en España en 1998 en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Alcalá, año en el que se solicitaron 120 determinaciones (el 1,7% del total). El número de solicitudes ha ido incrementándose progresivamente en los años sucesivos (en 1999 un 3,2%, en 2000 un 18,2%, en 2001 un 17,8% y en 2002 un 26,5%), hasta alcanzar la cifra máxima en el año 2003 (2.036 determinaciones, lo que representa el 28,9% del total).

Con respecto al tratamiento de la EII en el momento de llevarse a cabo la determinación de TPMT, el porcentaje de pacientes con cada uno de ellos fue el siguiente: con 5-aminosalicilatos el 6%, glucocorticoides el 30%, con AZA o 6-MP el 42% y con infliximab el 0,1%, mientras que el 22% no recibía tratamiento alguno para su enfermedad.

El valor medio de TPMT fue de 20,4 (6) U/ml hematíes, con un mínimo de 0 y un máximo de 46,2 U/ml. La distribución de los valores de TPMT en 3 categorías (bajos, intermedios y elevados, según una clasificación propuesta previamente¹⁰) se representa gráficamente en la figura 1, en la que se puede observar que el 0,5% de los pacientes tuvo valores inferiores a 5 (bajos), el 11,1% entre 5 y 13,7 (intermedios), y la mayoría (88,4%) fueron mayores o iguales a 13,8 U/ml hematíes (altos). Al evaluar visualmente los valores de TPMT en la población estudiada, representados gráficamente en la figura 2, se observó que seguían una distribución normal, aunque estadísticamente no se ajustaron a dicha distribución (p < 0,001; Z de Kolmogorov-Smirnov = 1,95).

Como se resume en la figura 3, en el estudio univariante se demostraron diferencias estadísticamente significativas (p < 0,001) al comparar los valores de TPMT en función de las siguientes variables

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9297228>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9297228>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)