

Farmacogenética de la Tuberculosis: Nuevo modelo de predicción de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosis

J. Chamorro^a, J. Castagnino^a, O. Aidar^a, R. Musella^a, A. Frías^a, M. Visca^a, M. Nogueras^a, L. Costa^b, A. Perez^c,
F. Caradonna^c, S. Perés^a y G. de Larrañaga^a

Hospital de Infecciosas “Dr. F.J. Muñiz”, C.A.B.A. Unidad Bioestadística, Facultad de Ciencias Médicas de
la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina^b. Dep. de Ciencia y Tecnología, Biología, Química y
Farmacia, Universidad de Palermo, Italia^c.



Hospital de Infecciosas
Francisco J. Muñiz

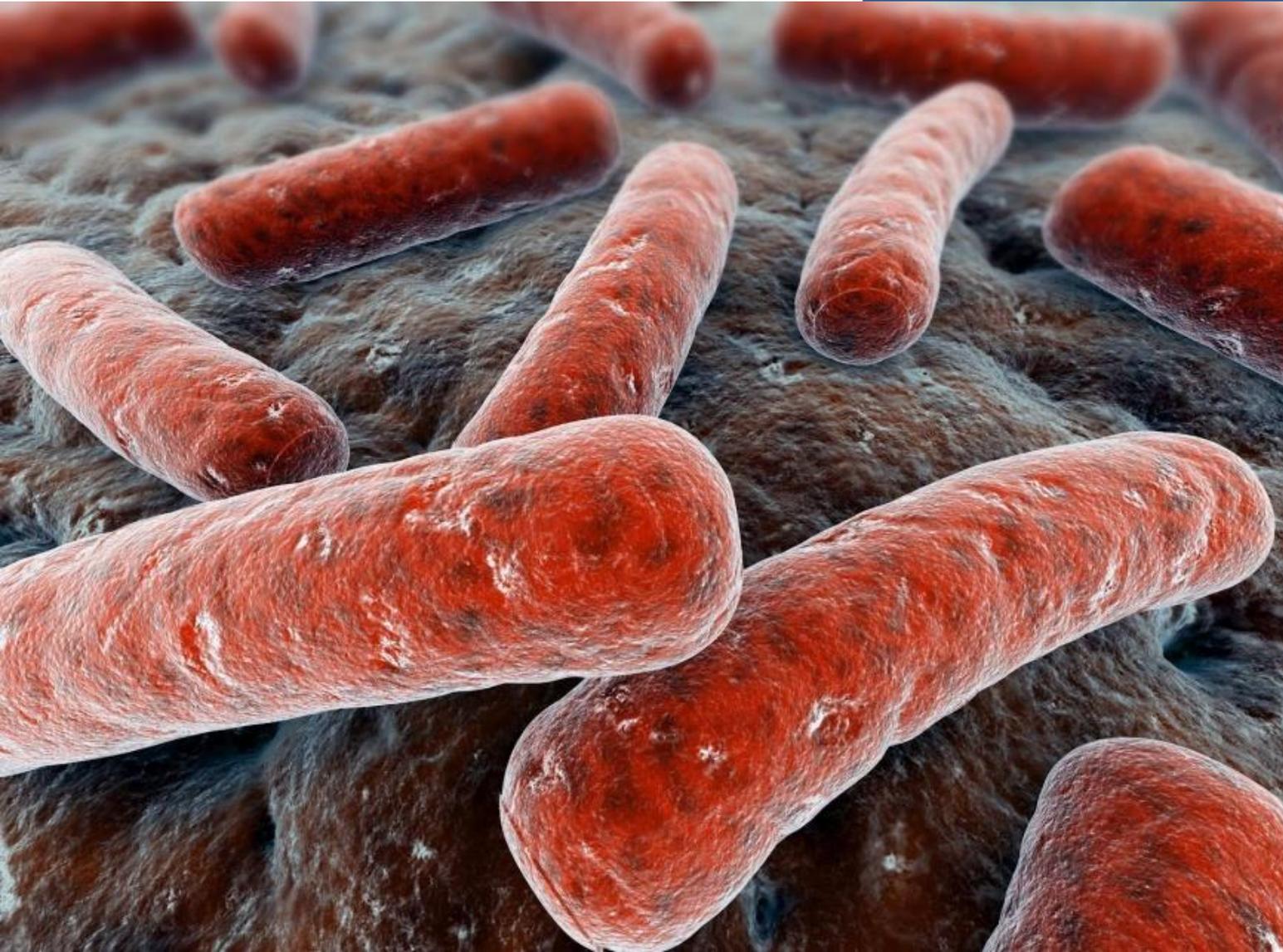
UNL

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
SANTA FE, ARGENTINA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PALERMO

TUBERCULOSIS



2015

10.4 millones de casos nuevos de tuberculosis (TB)

1.8 millones de muertes asociadas a TB

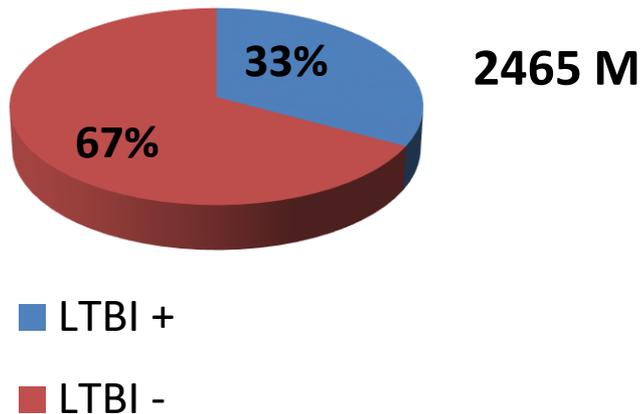
Se convierte en la **1° causa de muerte** por enfermedades infecciosas



World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. 20th ed. Geneva: World Health Organization; 2015.

INFECCIÓN LATENTE POR TB (LTBI)

Poblacion Mundial

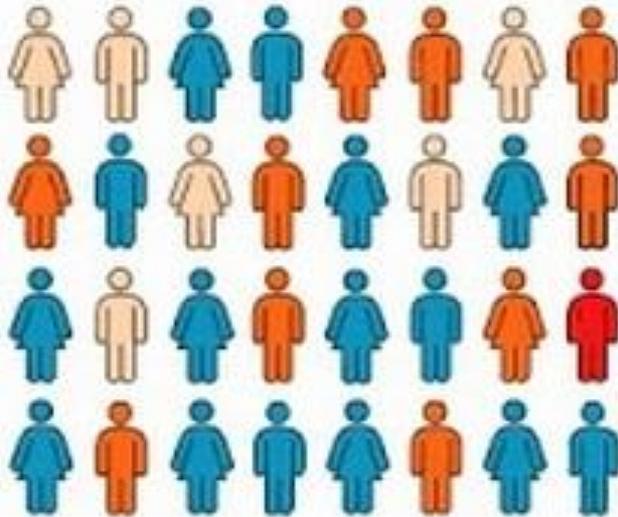


Aproximadamente **el 10%** de las personas con LTBI **desarrollan TB activa** durante su vida y la mayoría de las personas la desarrolla dentro de los cinco años posteriores a la infección inicial .

Tratamiento de la TB

**Isoniacida, Rifampicina,
Pirazinamida, Etambutol.**

-  Respuesta total
-  Respuesta parcial
-  Sin respuesta
-  Respuesta adversa severa



**Hepatotoxicidad
Inducida por
fármacos anti
TB
(HIFA)**

Tratamiento de la TB

**Isoniacida, Rifampicina,
Pirazinamida, Etambutol.**



Hospital de Infecciosas
Francisco J. Muñiz

En 2007, 11% de HIFA

(datos no publicados, Castagnino J. et al. 2007).

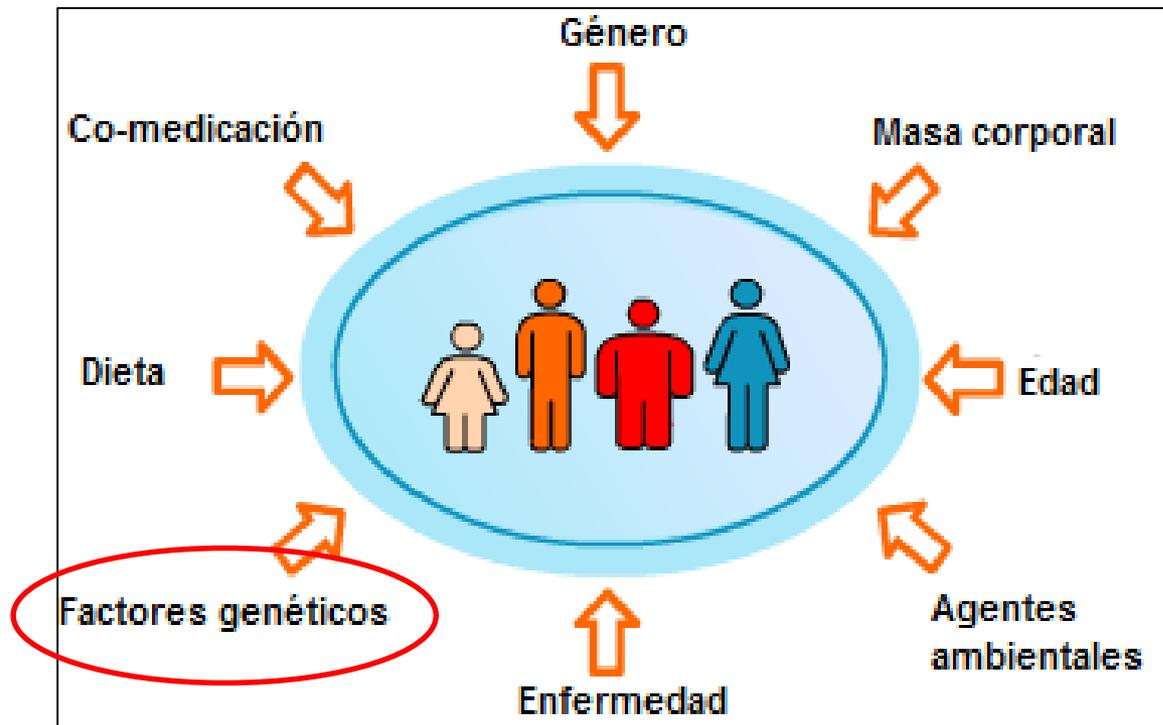
En 2013, 25,6% de las internaciones por TB desarrollan HIFA

Chamorro JG, et al. Sex, ethnicity, and slow acetylator profile are the major causes of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28(2):323-8.

Tratamiento de la TB

**Isoniacida, Rifampicina,
Pirazinamida, Etambutol.**

Factores influyentes en el efecto del fármaco



FARMACOGENÉTICA DE LA TUBERCULOSIS

Varios estudios han asociado a la isoniacida como la principal responsable de HIFA

Huang YS, et al. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA*. 2014;77(4):169-73.

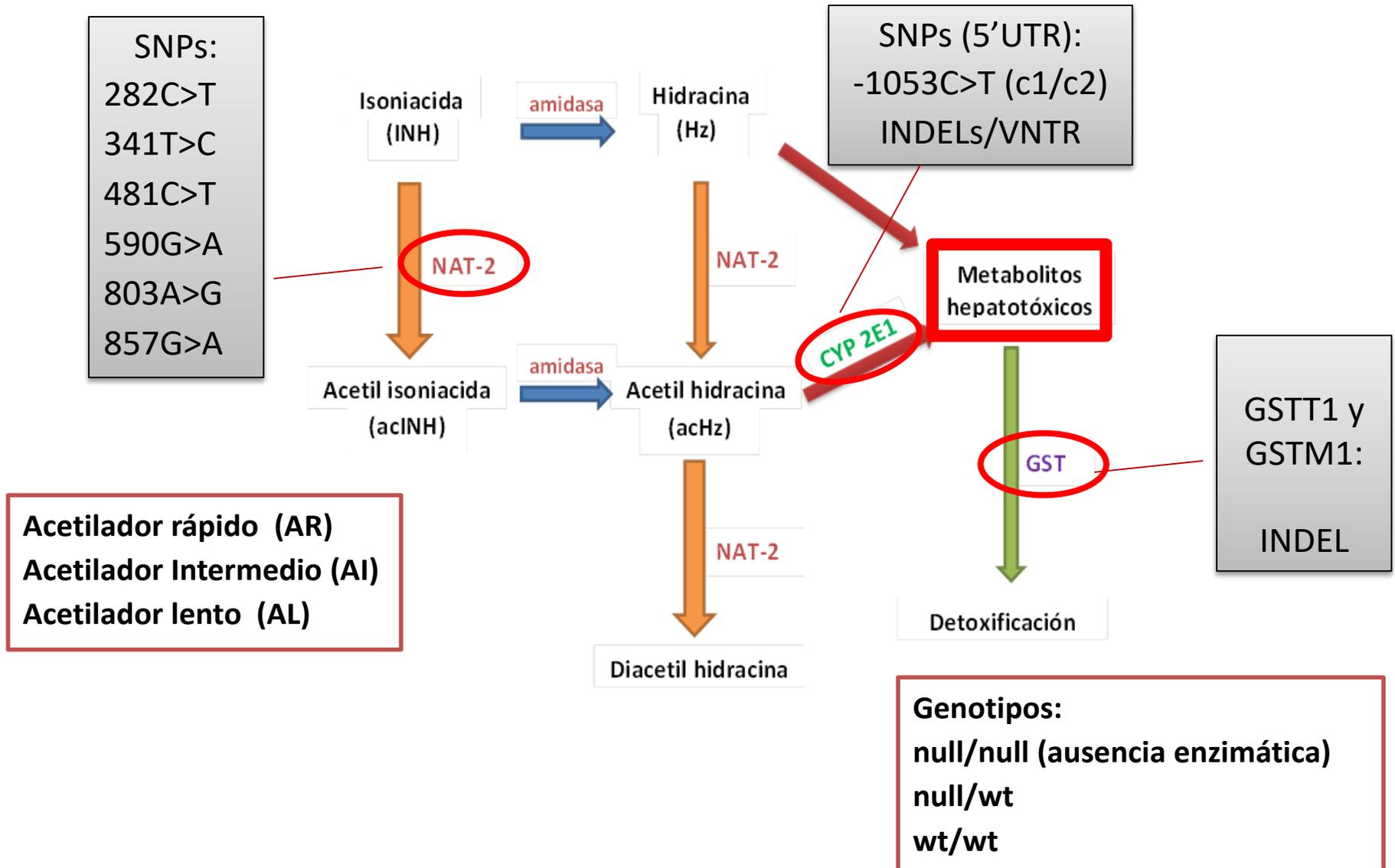
Saukkonen JJ, et al. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006;174(8):935-52

Higuchi N, et al. *NAT26A, a haplotype of the N-acetyltransferase 2 gene, is an important biomarker for risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Japanese patients with tuberculosis. World J Gastroenterol* 2007; 13: 6003-6008.

Cho HJ, et al. *Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. Tuberculosis (Edinb)* 2007; 87: 551-556.

Possuelo LG, et al. *Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 673-681.

Metabolismo de Isoniacida



Objetivos

- ✓ **Evaluar la posible asociación de factores ambientales y variantes genéticas en enzimas que metabolizan fármacos anti-TB con el desarrollo de HIFA.**
- ✓ **Investigar posibles interacciones gen-gen y gen-ambiente y su asociación con el desarrollo de HIFA.**
- ✓ **Obtener un modelo de predicción de HIFA.**

Materiales y Métodos

Criterios de inclusión

- Pacientes con TB >18 años
- Con referencias sobre su condición de VIH, HCV, HBV, alcoholismo y demás datos clínicos contenidos en una ficha.
- que comenzaron el esquema clásico los primeros dos meses con: INH: 5 mg/kg/d, máx. 300 mg/d, RMP: 10mg/kg/d, máx. 600 mg/d, PZA: 20 mg/kg/d, etambutol: 20 mg/kg/d y luego INH y RMP 4 meses o más.
- Hemodinámicamente estables.
- Función renal normal definida por un valor de creatinina dentro de los límites normales o con un valor de creatinina que sea normal para ese paciente individual basado en su historia clínica.
- Test de embarazo negativo

Criterios de exclusión

- Alergia a la Isoniazida
- Historia de fallas de tratamiento anti-TB.
- Multirresistencias
- Pacientes con otras patologías en estudio o conocidas que afectan directamente el hígado.
- Rechazo a la firma del CI o extracción de sangre.

Definición de hepatotoxicidad

- **ALT > 3 X** el límite superior de la normalidad (LSN) **con síntomas** de hepatitis (náuseas, vómitos, dolor abdominal y/o hiporexia) y/o ictericia.
- **ALT >5 X** el LSN sin síntomas.

Materiales y Métodos

Población: 346 pacientes con TB tratados con fármacos anti-TB
(250 controles y 96 casos con HIFA)

Materiales y Métodos

VARIABLES CLINICAS Y DEMOGRAFICAS

Sexo

Edad

Índice de masa corporal

Fumador,

Abuso de alcohol (>60 g/día en hombres y >40g/día en mujeres)

Enfermedades asociadas

Abuso de drogas ilegales

Desarrollo de HIFA.

Materiales y Métodos

VARIACIONES GENÉTICAS

Enzima	Método
NAT2	Secuenciación
CYP2E1	PCR-RFLP
GSTT1	PCR
GSTM1	PCR

Materiales y Métodos

ANÁLISIS ESTADÍSTICO SPSS (VERSIÓN 23.0)

Exploración de variables

Chi cuadrado ($p < 0.1$)

Regresión logística binaria para examinar la asociación entre HIFA y las variables independientes.

Se estimó el Odds Ratio (OR) con sus IC 95% para evaluar la fuerza de esta asociación.

Interacciones genéticas y ambientales en asociación con HIFA se realizó el método de Reducción de la Dimensionalidad Multifactorial (MDR).

Se consideró un valor de p inferior a 0,05 estadísticamente significativo.

Resultados - 1

VARIABLES CLINICAS Y DEMOGRAFICAS

Sexo: 128 (46,9%) mujeres

Edad: 29 (23-36) años

IMC medio: 20,8 (18,7-22,4) kg/m²

Fumador: 24.2%

Abuso de alcohol: 34.6%

Enfermedades asociadas: VIH (5,8%) y diabetes (3,2%)

Abuso de drogas ilegales: 14.1%

Resultados - 2

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de pacientes con y sin HIFA.

Variables	Sin HIFA (n=249)	Con HIFA (n=96)	Valor p ^a
Edad (años)	28 (23.0-36.8)	30 (23.3-35.8)	0.279
Mujeres	32.1 (80)	47.9 (46)	0.006
IMC (Kg/m ²)	20.8 (18.8-22.2)	20.5 (18.4-23.4)	0.734
Bajo peso severo	6.1 (15)	4.5 (4)	0.790
Enfermedades Asociadas	21.8 (54)	15.8 (15)	0.216
Fumadores	26.1 (65)	18.8 (18)	0.152
Alcoholismo	39.4 (98)	21.9 (21)	0.002
Drogas	16.1 (40)	8.3 (8)	0.063

Mujeres: Odds Ratio (IC95%) = **1,94** (1,20-3,14);
 $p=0,006$

Frecuencias genotípicas de *CYP2E1* y el perfil acetilador de NAT2 en casos con HIFA y controles.

	Muestras Total (n=345) %(n)	Sin HIFA (n=249) %(n)	Con HIFA (n=96) %(n)	Valor p	OR (IC95%, Valor p)	OR ajustado por sexo (IC95%, Valor p)
NAT2						
RA	12.8 (44)	12.5 (31)	13.5 (13)	<0.001	AL vs. otros: 2.93 (1.78-4.82, $p < 0.001$)	AL vs. otros: 3.02 (1.82-5.0, $p < 0.001$)
IA	38.8 (133)	46.2 (114)	19.8 (19)			
SA	48.4(166)	41.3 (102)	66.7 (64)			
<i>CYP2E1</i>						
C-1053T						
<i>c1/c1</i>	63.5 (219)	68.7 (171)	50 (48)	0.004	Portadores c2 vs. <i>c1/c1</i> :	Portadores c2 vs. <i>c1/c1</i> :
<i>c1/c2</i>	31.6 (109)	26.5 (66)	44.8 (43)		2.19 (1.36-3.55, $p=0.001$)	2.16 (1.33-3.51, $p=0.002$)
<i>c2/c2</i>	4.9 (17)	4.8 (12)	5.2 (5)			
VNTR						
<i>A2/A2</i>	88.7 (305)	90.8 (226)	83.2 (79)	0.047	Portadores A4 vs. otros:	Portadores A4 vs. otros:
<i>A2/A4</i>	11 (38)	8.8 (22)	16.8 (16)		2 (1.0-3.96, $p=0.048$)	2.13 (1.06-4.29, $p=0.047$)
<i>A4/A4</i>	0.3 (1)	0.4 (1)	0			

Frecuencias genotípicas de *GSTs* en casos con HIFA y controles.

	Muestras Total (n=345) %(n)	Sin HIFA (n=249) %(n)	Con HIFA (n=96) %(n)	Valor <i>p</i>	OR (IC95%, Valor <i>p</i>)	OR ajustado por sexo (IC95%, Valor <i>p</i>)
<i>GSTT1</i>						
<i>salvaje</i>	80.9 (279)	80.7 (201)	81.3 (78)	0.911		
<i>nulo</i>	19.1 (66)	19.3 (48)	18.8 (18)			
<i>GSTM1</i>						
<i>salvaje</i>	53.3 (184)	54.2 (135)	51 (49)	0.596		
<i>nulo</i>	46.7 (161)	45.8 (114)	49 (47)			
<i>GSTT1 y GSTM1</i>						
<i>salvaje / salvaje</i>	41.2 (142)	42.2 (105)	38.5 (37)	0.741		
<i>salvaje / nulo</i>	51.9 (179)	50.6 (126)	55.2 (53)			
<i>Nulo/nulo</i>	7 (24)	7.2 (18)	6.3 (6)			

Resultados - 3

Los OR estimados relacionados con las variables genéticas fueron ajustados por la variable sexo, que fue la única variable ambiental asociada con un mayor riesgo de desarrollo de HIFA, para evitar factores ambientales como potenciales factores de confusión.

NAT2

Acetilador lento:

OR(IC95%) = **3,02** (1,82-5,00);
 $p < 0,001$

CYP2E1

Variante c2 (-1053):

OR(IC95%) = **2,16** (1,33-3,51);
 $p = 0,002$

Variante A4 de VNTR:

OR(IC95%) = **2,13** (1,06-4,29);
 $p = 0,047$

Resultados - 3

Ser acetilador lento y portador de la variante c2 de CYP2E1:

OR (IC95%) ajustado x sexo = **7.07** (3.34-14.95); $p < 0,001$

Interacciones Gen-Gen y Gen-Ambiente

Para mejorar nuestra comprensión de las interacciones gen-gen y gen-medio ambiente: MDR

DENDROGRAMA DE INTERACCIÓN

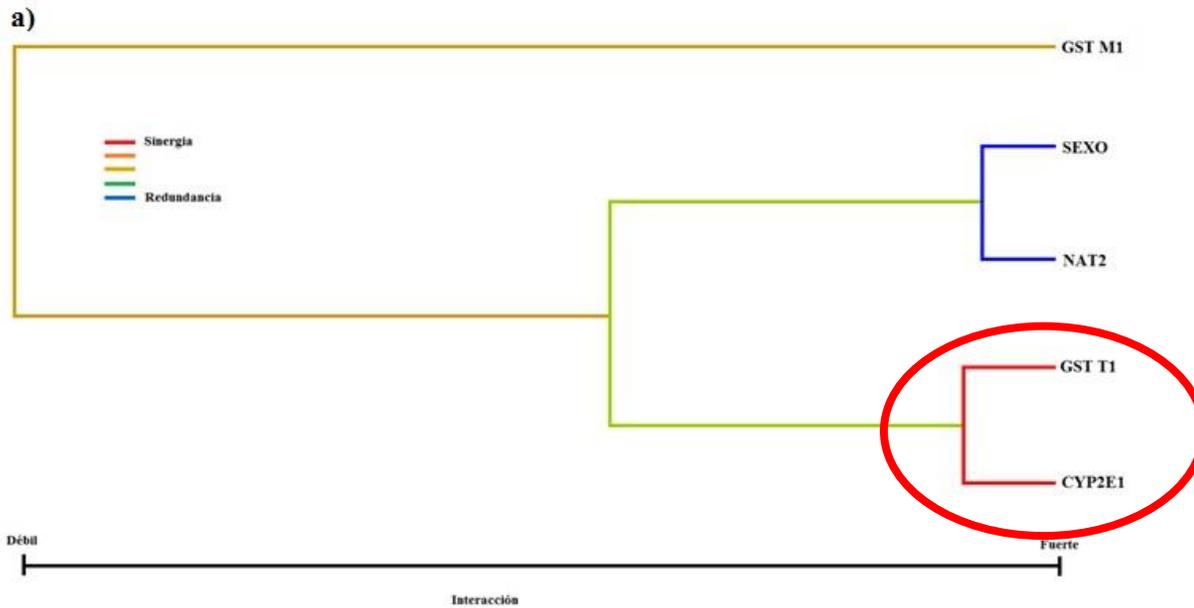
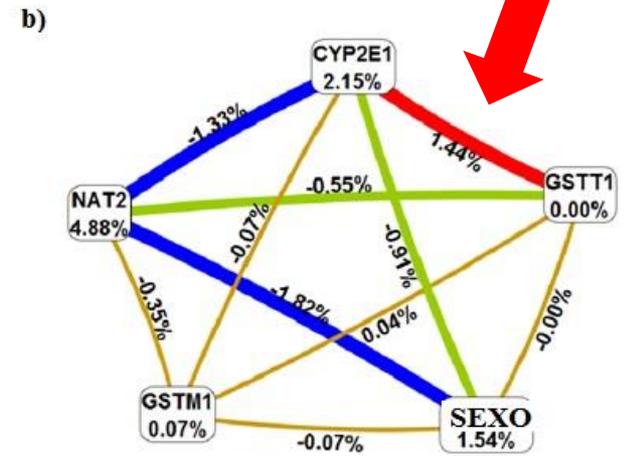


GRÁFICO DE ENTROPÍA DE INTERACCIÓN



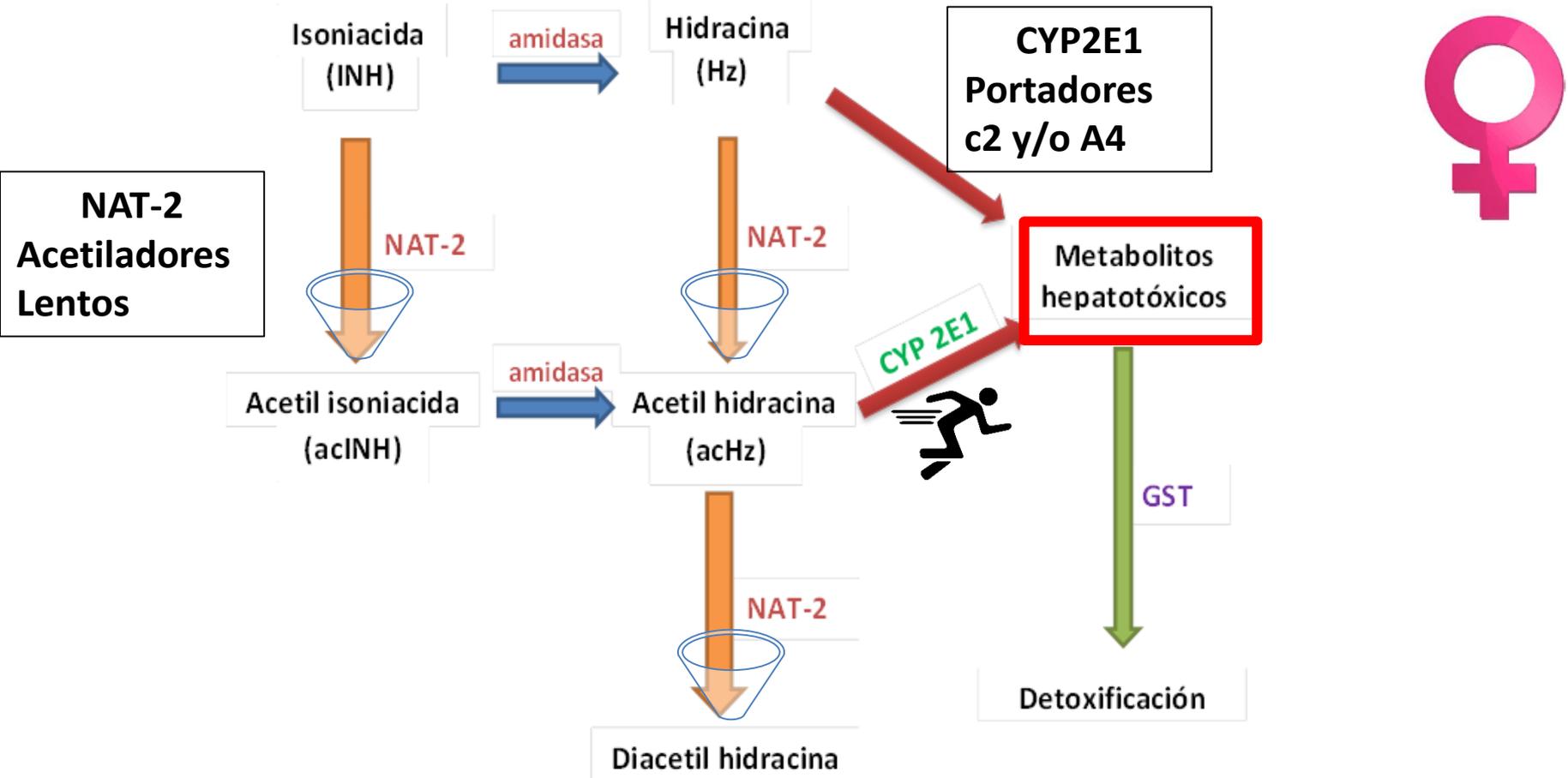
Reducción Dimensional de Multifactores (MDR): Modelos detectados y su desempeño.

No. ⁺	Mejores modelos candidatos	CVC ^a	TBA ^b	Valor <i>p</i> [*]
Interacción gen-gen				
1	NAT2	10/10	0.614	0.008
2	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR)	10/10	0.653	0.001
3	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR), GSTT1	9/10	0.606	0.014
4	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR), GSTM1, GSTT1	10/10	0.603	0.026
Interacción gen-ambiente (sexo)				
1	NAT2	10/10	0.614	0.020
2	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR)	10/10	0.653	0.001
3	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR), sexo	10/10	0.675	0.001
4	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR), sexo, GSTT1	9/10	0.625	0.008
5	NAT2, CYP2E1(C-1053T+VNTR), sexo, GSTT1, GSTM1	10/10	0.613	0.020

^aCVC (consistencia de validación cruzada): medida de cuántas veces de cada diez divisiones de los datos, MDR encontró el mismo mejor modelo. ^bTBA (prueba de precisión equilibrada): medida del desempeño predictivo del modelo, el que tiene la mayor TBA representa el mejor modelo general. *Valor *p* basado en 1000 permutaciones: muestra la significancia estadística del modelo. La fuente en negrita indica el mejor modelo MDR global. ⁺No. de los marcadores considerados.

TRADUCCIÓN:

El mejor modelo de predicción (67,5%) de HIFA contempla las variables:
NAT2, CYP2E1 Y SEXO.



Conclusiones

Nuestro principal hallazgo fue :

- Un modelo de predicción que identificó adecuadamente el **67,5% de los pacientes con TB** en su riesgo de desarrollar **HIFA**.
- Efecto sinérgico entre **CYP2E1** y **GSTT1**, lo que sugiere una posible interacción gen-gen (epistasia) asociado con un mayor riesgo de HIFA.

Estos representan **datos inéditos** relacionados a HIFA.

The distribution of allelic and genotypic frequencies of N-Acetyltransferase-2 variants in an Argentine population.

Chamorro JG, Castagnino JP, Musella RM, Frías A, Aranda FM, De Larrañaga GF.

Hospital of Infectious Diseases "F. J. Muñiz", Buenos Aires, Argentina. juliangch@hotmail.com.

HEPATOLOGY

Sex, ethnicity, and slow acetylator profile are the major causes of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs

Julián G Chamorro,* Jorge P Castagnino,† Rosa M Musella,† Mabel Nogueras,† Federico M Aranda,* Ana Frías,† Mabel Visca,† Omar Aidar,† Silvia Perés* and Gabriela F de Larrañaga*

Original article 357

tagSNP rs1495741 as a useful molecular marker to predict antituberculosis drug-induced hepatotoxicity

Julián G. Chamorro^a, Jorge P. Castagnino^b, Rosa M. Musella^b, Mabel Nogueras^c, Ana Frías^b, Mabel Visca^b, Omar Aidar^b, Lucas Costa^d and Gabriela F. de Larrañaga^a

Pharmacogenetics and Genomics 2016, 26:357–361

Effect of gene-gene and gene-environment interactions associated with anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity.

Julián G. Chamorro, Jorge P. Castagnino, Omar Aidar, Rosa M. Musella, Ana Frías, Mabel Visca, Mabel Nogueras, Lucas Costa, Alessandro Perez, Fabio Caradonna and Gabriela F. de Larrañaga.

Pharmacogenetics and Genomics. (2017- aceptado para su publicación)

Futuro

Para lograr una mejor comprensión de los mecanismos de HIFA y un mejor modelo de predicción, serán necesarios futuros estudios farmacogenéticos de PZA y RMP



Transferencia tecnológica

- Generar un *score* de predicción clínica
- Desarrollar kit de detección rápida (24-48hs)

