

Estrategia de Implementación Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica: Recomendaciones de los Grupos de Trabajo para los genes TPMT y NUDT15 y la prescripción de tiopurinas

Fecha y versión del documento: 6 de octubre 2023; versión 4.1
15 de febrero 2024; versión 4.2

1. INTRODUCCIÓN

Hay tres tiopurinas utilizadas en la clínica: 6-mercaptopurina (6-MP), azatioprina (AZA) y 6-tioguanina (6-TG) (Figura 1). Son fármacos antimetabolitos que pueden actuar como antineoplásicos o inmunosupresores, para una amplia variedad de patologías^{1,2}.



Figura 1. Estructura molecular de las tiopurinas de uso clínico.

La 6-MP y la 6-TG se usan principalmente como parte de regímenes quimioterápicos en el tratamiento de las leucemias, mientras que la AZA se emplea fundamentalmente en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. En España, se encuentran comercializadas presentaciones orales de 6-MP y AZA. La AZA de uso intravenoso y la 6-TG oral pueden conseguirse como medicamentos extranjeros en situaciones especiales a través de la aplicación del Ministerio de Sanidad³. La Tabla 1 recoge las principales indicaciones y posologías recomendadas para estos fármacos.

Tabla 1. Indicaciones y posologías recomendadas para las tiopurinas

FÁRMACO	INDICACIÓN	POSOLOGÍA HABITUAL
Azatioprina (IR o IH dosis más bajas dentro del intervalo posológico habitual)	Trasplante	Dosis inicial 5 mg/kg/día. Dosis mantenimiento entre 1-4 mg/kg/día según necesidades y tolerancia hematológica
	Enfermedades Inmunomediadas	1-3 mg/kg día según condición tratada, respuesta clínica y tolerancia hematológica
6-Mercaptopurina	Leucemia aguda. Inducción y mantenimiento en leucemia linfoblástica aguda y leucemia mielógena aguda	2,5 mg/kg peso corporal al día, o 25-75 mg/m ² área de superficie corporal al día. La dosis deberá ser ajustada e individualizada cuidadosamente para cada paciente y tipo de esquema empleado.
6-Tioguanina	Leucemia aguda linfoblástica y mieloblástica y leucemia granulocítica crónica	60-200 mg/m ² o 2-3 mg/kg según condición tratada y tipo de esquema utilizado

Abreviaturas: IR, insuficiencia renal; IH, insuficiencia hepática

La 6-MP, la 6-TG y la AZA son profármacos, es decir, requieren de una activación intracelular, catalizada por múltiples enzimas, para ejercer su efecto farmacológico. Actúan como antimetabolitos de las purinas, con propiedades inmunosupresoras y citotóxicas, que se ejercen mediante la incorporación de nucleótidos de tioguanina a los ácidos nucleicos y la supresión de la síntesis *de novo* de purinas⁴. La AZA es metabolizada rápidamente a 6-MP por un proceso no enzimático. La 6-MP puede ser catabolizada intracelularmente para formar su metabolito inactivo 6-metilmercaptapurina y ácido 6-tiúrico o anabolizada para formar sus metabolitos activos nucleótidos de 6-tioguanina y 6-metilmercaptapurina ribonucleótidos (**Figura 2**). La 6-tioguanina también puede formar ácido tiúrico en un proceso de dos pasos de acción por parte de la guanina desaminasa (GDA), formando tioxantina seguida de una oxidación por parte de xantina deshidrogenasa⁵. La 6-tioguanina también puede convertirse en tioguanosina monofosfato. La formación de todos los metabolitos activos e inactivos a través de múltiples rutas multietapas, sin que exista una enzima predominante, es compleja, por lo que se ha simplificado para su representación en la **Figura 2**.

fármaco¹¹. Sin embargo, la mielotoxicidad y la hepatotoxicidad son más preocupantes, puesto que pueden continuar a pesar de la retirada del fármaco¹². La leucopenia/neutropenia es el efecto mielosupresor más frecuente, y el que más influye para cambiar el tratamiento¹³. Esta mielosupresión conlleva un mayor riesgo de infecciones, fundamentalmente por virus^{14,15}. La hepatotoxicidad puede carecer de consecuencias clínicas o bien forzar a la suspensión del tratamiento^{12,16,17}.

La tiopurina metiltransferasa (TPMT)¹⁸ y nudix hidrolasa 15 (NUDT15)¹⁹ son enzimas relevantes en el catabolismo de las tiopurinas, produciendo metabolitos inactivos. Su actividad está sujeta a una importante variabilidad interindividual asociada a variantes genéticas. Se estima que un 90% de los individuos de población caucásica tienen actividad completa; un 10% tienen actividad parcial y un bajo porcentaje (0.3%) tienen actividad nula. Para la enzima NUDT15¹⁹, la frecuencia de individuos con actividad reducida es muy baja (0.35%), siendo más frecuente en población asiática (6-10%). Los pacientes con deficiencia de TPMT y NUDT15, especialmente aquellos con una deficiencia completa, tienen un alto riesgo de desarrollar mielosupresión severa, que en ocasiones puede llegar a ser fatal^{13,20}. Por ello se recomienda realizar pruebas de genotipo y/o fenotipo de deficiencia de estas enzimas en pacientes candidatos a recibir tratamiento con tiopurinas^{21,22}, ya que es necesario reducir la dosis de aquellos pacientes que vayan a tolerar mal la dosis de inicio estándar (fenotipo metabolizador intermedio) y evitar el uso de estos fármacos o reducir drásticamente su dosis en aquellos pacientes que vayan a tolerar muy mal la terapia (fenotipo metabolizador lento). El propósito de esta guía del Grupo de Trabajo de Regulación (GdT_R) de la SEFF es proporcionar información para interpretar las pruebas del genotipo de *TPMT* y *NUDT15* y guiar la dosificación de tiopurinas.

2. Marco regulatorio

El Grupo de Trabajo de Regulación (GdT_R) de la SEFF tras evaluar la evidencia que relaciona genes y medicamentos, establece que las tiopurinas son fármacos prioritarios para realizar análisis farmacogenético

Las recomendaciones farmacogenéticas de las tiopurinas han sido recogidas por diversas agencias y entidades de regulación. La U.S. *Food and Drug Administration* (FDA) clasifica el fármaco con un nivel de "Test Recomendado" estableciendo la evaluación de los genes *TPMT* y *NUDT15*²³ por su asociación al riesgo de mielosupresión severa. El resto de agencias reguladoras, incluyendo la Agencia Europea del Medicamento (EMA)²⁴, la *Health Canada Santé Canada* (HCSC), la *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency* en Japón (PMDA) y la Agencia Suiza de Productos Terapéuticos (Swissmedic) clasifican el fármaco con un nivel "Test accionable" (test asociado a la posibilidad de realizar cambios en la prescripción médica). Se establece que aquellos individuos con variantes genéticas en *TPMT* y *NUDT15* que provocan una deficiencia en estas enzimas tienen un mayor riesgo de desarrollar mielosupresión y se recomienda, por tanto, una reducción en la dosis de inicio del tratamiento para aquellos pacientes portadores de estas variantes.

Por otra parte, la Agencia Española del Medicamento (AEMPS) presenta las siguientes recomendaciones para la 6-MP y AZA en sus fichas técnicas.

La ficha técnica de la 6-MP² recoge que: (1) Pacientes con ausencia o reducción de la actividad congénita de TPMT presentan un mayor riesgo de toxicidad grave con dosis convencionales de 6-MP y generalmente requieren reducciones considerables de la dosis; (2) Se puede recurrir a la genotipificación o fenotipificación de la *TPMT* para identificar a los pacientes con ausencia o reducción de la actividad de TPMT, pero no puede sustituir a la vigilancia hematológica en los pacientes tratados con 6-MP; (3) Se puede considerar el uso de la genotipificación para detectar variantes de *NUDT15* antes de iniciar el tratamiento con 6-MP.



Por otro lado, la ficha técnica de la AZA¹ recoge que: (1) En los pacientes con poca o sin actividad heredada de TPMT aumenta el riesgo de toxicidad grave por AZA a la dosis convencional de ésta y, generalmente, es necesaria una reducción sustancial de la dosis; (2) Se recomienda evaluar la actividad enzimática de la TPMT antes de iniciar el tratamiento con AZA, pero la monitorización estrecha de los recuentos sanguíneos todavía es necesaria.

Las tiopurinas aparecen asociadas a dos genes, *TPMT* y *NUDT15*, con el mayor nivel de evidencia (Nivel 1A) en las *Clinical Annotation* de PharmGKB²⁵.

Por último, existen ensayos clínicos que demuestran un mayor riesgo de aparición de mielosupresión en aquellos individuos portadores de alelos deficientes en *TPMT* y *NUDT15*²⁶⁻²⁹.

3. Fármacos incluidos en la guía

- 6-mercaptopurina (6-MP)
- Azatioprina (AZA)
- 6-tioguanina (6-TG)

4. Genes

Variación genética en los genes *TPMT* y *NUDT15* se ha relacionado con el riesgo a desarrollar toxicidades graves por el uso de tiopurinas.

TPMT: Thiopurine S-Methyltransferase

- HGNC: 12014
- NCBI Entrez Gene: 7172
- Ensembl: ENSG00000137364
- OMIM®: 187680
- UniProtKB/Swiss-Prot: P51580

NUDT15: Nudix Hydrolase 15

- HGNC: 23063
- NCBI Entrez Gene: 55270
- Ensembl: ENSG00000136159
- OMIM®: 615792
- UniProtKB/Swiss-Prot: Q9NV35

5. Genotipificado de *TPMT* Y *NUDT15*

Las [Tablas Suplementarias 1-4](#) muestran los alelos y variantes que el Grupo de Trabajo de Metodología e Interpretación Analítica (GdT_MIA) de la SEFF recomienda determinar para la inferencia de fenotipo metabólico de TPMT Y NUDT15 y su efecto en la capacidad metabólica de la enzima. También muestran su posición en el genoma, las alteraciones asociadas en cDNA y proteína, así como las frecuencias alélicas en distintas poblaciones, incluida la española. Por otra parte, es importante resaltar que la ausencia de estas variantes no garantiza una actividad enzimática de TPMT/ NUDT15 normal. Aunque las variantes



descritas en este documento son hasta la fecha las más relevantes para explicar el déficit de estas enzimas en la población, también se han detectado otras variantes de muy baja frecuencia asociadas a una actividad alterada³⁰⁻³², por lo que es importante resaltar que la ausencia de estas variantes no garantiza una capacidad metabólica normal de estas enzimas

5.1. Definición de alelos y variantes a analizar en el gen TPMT

La [Tabla Suplementaria 1](#) muestra cómo a partir de las distintas variantes genéticas, se definen los alelos de *TPMT* asociados a un déficit de estas enzimas. Las distintas variantes genéticas, junto con sus frecuencias alélicas en distintas poblaciones, se recogen en la Tabla Suplementaria 2. El proceso de asignación de alelos y definición de fenotipos viene descrito en el [Tutorial para la definición de alelos, diplotipos y fenotipos](#).

El GdT_MIA de la SEFF considera **imprescindible** que para la correcta estimación de los distintos fenotipos metabólicos, inferidos a partir del genotipo de *TPMT* se determinen al menos los siguientes alelos del gen *TPMT*:

- **TPMT*2 – pérdida completa de función** (SNP asociado: rs1800462)
- **TPMT*3A - pérdida completa de función** (SNP asociados: rs1800460 y rs1142345. Ambas variantes presentes en el mismo alelo)
- **TPMT*3B - pérdida completa de función** (SNP asociado: rs1800460. Sólo éste SNP en ausencia de la variante rs1142345)
- **TPMT*3C - pérdida completa de función** (SNP asociado: rs1142345. Sólo éste SNP en ausencia de la variante rs1800460)
- **TPMT*4 - pérdida completa de función** (SNP asociado: rs1800584)

Es importante mencionar que la heterocigosis para rs1800460 y rs1142345 podría definir tanto a un individuo *1/*3A si ambas variantes se encontrasen en el mismo alelo, como a un individuo *3B/*3C en caso de encontrarse en distintos alelos. Considerando la prevalencia de los alelos *1 (95.31%), *3A (3.43%), *3B (0.27%) y *3C (0.47%), la probabilidad de encontrar un individuo *1/*3A es del 3.27% (1 de cada 31, aproximadamente) y de encontrar un *3B/*3C del 0.0013% (1 de cada 788, aproximadamente). En este caso se recomienda asignar el diplotipo *1/*3A por ser significativamente más prevalente que *3B/*3C.

Adicionalmente, de acuerdo con los datos de la literatura que describen el impacto funcional y frecuencia poblacional de los alelos, bases de datos genéticas y las propuestas de CPIC, PharmVar y PharmGKB, el GdT_MIA considera **recomendable** que, además de los 5 alelos arriba mencionados, se determinen los siguientes alelos de *TPMT* asociados a pérdida de función: *11, *14, *15, *23, *29 y *41. Estas variantes, aun siendo de baja frecuencia también contribuyen a explicar la variabilidad en la actividad enzimática de la población.

Existen diversos alelos de *TPMT* cuyo impacto en la función es aún indeterminado, entre ellos se encuentran, por ejemplo, el *5, *6 o *8. Estos alelos de función incierta no se muestran en la Tabla Suplementaria 3.



5.2. Definición de alelos y variantes a analizar en el gen *NUDT15*

Las [Tabla Suplementaria 3](#) muestra cómo a partir de las distintas variantes genéticas, se definen los alelos de *NUDT15* asociados a un déficit de esta enzima. Las distintas variantes genéticas, junto con sus frecuencias alélicas en distintas poblaciones, se recogen en la Tabla Suplementaria 4.

El GdT_MIA de la SEFF considera **imprescindible** que para la correcta estimación de los distintos fenotipos metabólicos, inferidos a partir del genotipo de *NUDT15* se determinen al menos los siguientes alelos del gen *NUDT15*:

- ***NUDT15**2 - pérdida completa de función** (SNP asociados: rs746071566-G(GAGTCG)4, rs116855232. Ambos han de estar presentes)
- ***NUDT15**3 - pérdida completa de función** (SNP asociado: rs116855232 (c.415C>T))

Adicionalmente, basándose en los datos de la literatura que describen el impacto funcional y frecuencia poblacional de los alelos, bases de datos genéticas y las propuestas de CPIC, PharmVar y PharmGKB, el GdT_MIA considera **recomendable** que, además de los 2 alelos arriba mencionados, también se determine el siguiente alelo de *NUDT15* de pérdida de función: *NUDT15**9 (rs746071566-G(GAGTCG)2). Esta variante, aun siendo de baja frecuencia también contribuye a explicar la variabilidad en la actividad enzimática de la población³³.

Existen diversos alelos de *NUDT15* cuyo impacto en la función es aún indeterminado, entre ellos se encuentran los alelos: *4, *5, *6, *7 y *8. Estos alelos de función incierta no se muestran en la Tabla Suplementaria 4.

Para más información sobre el proceso de definición de alelos e inferencia fenotípica, puede consultar el [Tutorial para la definición de alelos, diplotipos y fenotipos](#) (GdT_MIA de la SEFF).

Se pueden emplear diversas tecnologías para detectar las variantes en *TPMT* y *NUDT15* arriba descritas, éstas incluyen métodos basados en genotipificado (por ejemplo, paneles o arrays de SNPs) y métodos basados en secuenciación (por ejemplo, Sanger o secuenciación masiva). Puede consultar el documento [Tecnologías para la detección de variantes farmacogenéticas](#) donde se describen distintas formas para realizar las determinaciones genéticas.

Para variantes trialélicas (por ejemplo, rs1142345 en *TPMT*; c.719A>G; c.719A>C) hay que tener en cuenta si el tipo de ensayo utilizado para su determinación permite identificar todos los posibles alelos (por ejemplo, secuenciación Sanger) o sólo dos de las alternativas de acuerdo al diseño de las sondas empleadas (por ejemplo, ensayos de discriminación alélica tipo sondas Taqman®).

La [Tabla Suplementaria 5](#) proporciona secuencias de referencia y posibles *primers* para secuenciación por Sanger.

6. Fenotipos metabólicos inferidos a partir del genotipo de *TPMT* y *NUDT15*

Se establecen tres fenotipos metabólicos inferidos de la genotipificación tanto para *TPMT* como para *NUDT15*: metabolizador normal, intermedio y lento ([Tablas 2 y 3](#)). Estos grupos se establecen teniendo en

cuenta la funcionalidad de los distintos alelos de *TPMT* y *NUDT15* y sus posibles combinaciones en el individuo. Por tanto, los fenotipos se refieren al perfil metabolizador del paciente de acuerdo a la actividad enzimática final de las proteínas resultantes.

En el caso de los alelos con una funcionalidad indeterminada o sin suficiente evidencia científica para que en este momento se puedan asociar a un fenotipo accionable (aquellos asociados a un posible cambio en la prescripción médica) no se consideraran en este documento de recomendaciones. Podrán verse incluidos en próximas revisiones de esta guía de existir nuevas evidencias sobre su funcionalidad.

Tabla 2. Definición del fenotipo metabólico inferido a partir del genotipo de *TPMT*

Fenotipos farmacogenéticos accionables TPMT	Genotipo del gen <i>TPMT</i>
Metabolizador Normal (MN)	- Individuo con dos alelos de función normal
Metabolizador Intermedio (MI)	- Individuo con un alelo de función normal y uno de pérdida de función
Metabolizador Lento (ML)	- Individuo con 2 alelos de pérdida de función

Tabla 3. Definición del fenotipo metabólico inferido a partir del genotipo de *NUDT15*

Fenotipos farmacogenéticos accionables NUDT15	Genotipo del gen <i>NUDT15</i>
Metabolizador Normal (MN)	- Individuo con dos alelos de función normal
Metabolizador Intermedio (MI)	- Individuo con un alelo de función normal y uno de pérdida de función
Metabolizador Lento (ML)	- Individuo con dos alelos de pérdida de función

Asimismo, se debe tener en cuenta las combinaciones de los distintos genotipos de ambos genes. Con especial atención a los dobles metabolizadores intermedios (portadores de una copia de función normal en ambos genes), la combinación de metabolizador intermedio y lento (portador de una sola copia de función normal en uno de los dos genes) y los dobles metabolizadores lentos (ninguna copia de función normal en ninguno de los dos genes) ([Tabla 4](#)).

Tabla 4. Combinación de fenotipos metabólicos inferidos a partir del genotipo de TPMT y NUDT15

Fenotipo (Genotipo)	Metabolizador normal (MN) TPMT (Dos alelos de función normal)	Metabolizador intermedio (MI) TPMT (Un alelo de función normal y uno de pérdida de función)	Metabolizador lento (ML) TPMT (Dos alelos de pérdida de función)
Metabolizador normal (MN) NUDT15 (Dos alelos de función normal)	Metabolizador Normal	Metabolizador Intermedio TPMT	Metabolizador Lento TPMT
Metabolizador intermedio (MI) NUDT15 (Un alelo de función normal y uno de pérdida de función)	Metabolizador Intermedio NUDT15	Doble Metabolizador Intermedio	Doble Metabolizador Intermedio-Lento
Metabolizador lento (ML) NUDT15 (Dos alelos de pérdida de función)	Metabolizador Lento NUDT15	Doble Metabolizador Intermedio-Lento	Doble Metabolizador Lento

7. Recomendaciones clínicas para los fenotipos metabólicos inferidos del TPMT y NUDT15

Las recomendaciones de dosificación para prevenir la toxicidad hematológica grave asociada al tratamiento con tiopurinas, sin comprometer el efecto terapéutico deseado, se establecen de acuerdo con los diferentes fenotipos metabólicos inferidos a partir del genotipo de TPMT y NUDT15 o de la actividad enzimática de TPMT, realizados antes de iniciar el tratamiento.

Las recomendaciones del Grupo de Trabajo de Recomendaciones Clínicas (GdT_RC) están en línea con las guías del CPIC²¹ y del *Dutch Pharmacogenetics Working Group* (DPWG). Las recomendaciones para AZA y 6-MP son las mismas, teniendo siempre en cuenta las diferentes dosis para cada fármaco, para los fenotipos de TPMT y NUDT15 (Tabla 5) y para la combinación de ambos (Tabla 6).

Tabla 5. Dosificación de 6-mercaptopurina y azatioprina basada en el fenotipo de TPMT y NUDT15.

Fenotipo TPMT/NUDT15	Genotipo TPMT/NUDT15	Implicaciones	Recomendación de dosis
Metabolizador normal (MN)	2 alelos de función normal	Actividad enzimática normal y riesgo normal de toxicidad por tiopurinas	De acuerdo con la ficha técnica
Metabolizador intermedio (MI)	1 alelo de función normal y 1 de pérdida de función	Disminución de la actividad de la enzima y aumento del riesgo de toxicidad grave por tiopurinas	Reducir en un 30-80% la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica
Metabolizador lento (ML)	2 alelos de pérdida de función	Pérdida total de la actividad enzimática y elevado riesgo de toxicidad grave por tiopurinas	Reducir en un 90% la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica o utilizar fármacos alternativos

Tabla 6. Dosificación de 6-mercaptopurina y azatioprina basada en la combinación de los fenotipos de TPMT y NUDT15.

Fenotipo	Metabolizador normal (MN) TPMT	Metabolizador intermedio (MI) TPMT	Metabolizador lento (ML) TPMT
Metabolizador normal (MN) NUDT15	De acuerdo con la ficha técnica	Reducir la dosis en un 30-80% de la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica	Reducir en un 90% la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica o utilizar fármacos alternativos
Metabolizador intermedio (MI) NUDT15	Reducir la dosis en un 30-80% de la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica	Reducir la dosis por debajo de la reducción correspondiente a los metabolizadores intermedios para TPMT o NUDT15, aunque no existen indicaciones específicas. Ajustar según la toxicidad hematológica	Utilizar fármacos alternativos
Metabolizador lento (ML) NUDT15	Reducir en un 90% la dosis convencional y ajustar según la toxicidad hematológica o utilizar fármacos alternativos	Utilizar fármacos alternativos	Utilizar fármacos alternativos

En un porcentaje elevado de individuos metabolizadores intermedios para TPMT se requiere una reducción de la dosis administrada de AZA o 6-MP (del 30-80% de la dosis convencional), especialmente si la



dosis de elección está en el extremo superior del intervalo posológico recomendado que, en concreto, el DPWG recomienda sea del 50%. En este subgrupo de pacientes, la toxicidad secundaria a las tiopurinas puede agravarse si se utilizan de forma concomitante fármacos con un perfil de toxicidad similar (p.e. metotrexato) o fármacos que inhiben la TPMT (p.e. derivados de aminosalicilatos) u otras enzimas relacionadas con el metabolismo de las tiopurinas (p.e. alopurinol)^{1,2}. Por otro lado, los individuos metabolizadores lentos para TPMT tienen un alto riesgo de sufrir mielosupresión si son tratados con dosis convencionales de tiopurinas, por lo que es necesario reducir sustancialmente la dosis inicial o considerar otras alternativas terapéuticas. Por su parte, la AEMPS recoge en ficha técnica que generalmente se requieren reducciones considerables de la dosis para estos pacientes, aunque no establece la dosis inicial óptima^{1,2}. El déficit de NUDT15 contribuye, junto con el de TPMT, a la mielosupresión por tiopurinas, y su determinación genotípica es de especial relevancia en individuos asiáticos e hispanos. Las indicaciones basadas en el fenotipo de NUDT15 son las mismas a las ya expuestas para TPMT (Tabla 5).

En esta guía del GdT_RC de la SEFF se recomienda la determinación de los fenotipos de TPMT y de NUDT15 antes de iniciar el tratamiento con tiopurinas y las dosificaciones indicadas se resumen en la Tabla 6. Cabe mencionar que, aunque se han descrito casos de metabolizadores intermedios para ambos genes, no hay evidencia suficiente para establecer cuál ha de ser la reducción de dosis en estos individuos.

Aunque la tioguanina no está comercializada en nuestro país, se puede importar como medicamento extranjero y en nuestros centros hospitalarios hay pacientes tratados con este fármaco. Los individuos metabolizadores normales han de ser tratados según las indicaciones de ficha técnica. En los individuos metabolizadores intermedios de TPMT es necesario reducir un 50-80% la dosis convencional y en los metabolizadores lentos reducir la dosis convencional diaria 10 veces y administrar tres veces por semana en vez de diaria, ajustando de acuerdo con la toxicidad hematológica. Asimismo, en los individuos metabolizadores intermedios de NUDT15 se recomienda reducir un 50-80% la dosis convencional y en los metabolizadores lentos administrar un 25% de la dosis convencional, ajustando basándose en la toxicidad hematológica²¹.

8. Monitorización terapéutica y alternativas al genotipificado

Actualmente, no existe una técnica de referencia (*gold standard*); la elección de genotipificado y/o de ensayos enzimáticos se basa en las características particulares de cada laboratorio, de las preferencias del clínico o del presupuesto disponible. Las técnicas enzimáticas se basan en la determinación de los metabolitos de tiopurinas (por ejemplo, 6-tioguanina y de 6-metil mercaptopurina) en lisados de eritrocitos. Para ello, existen numerosas técnicas analíticas disponibles: ensayo radioquímico, HPLC, HPLC-MS/MS, entre otros³⁴.

Como ventaja, las técnicas enzimáticas permiten diferenciar algunos genotipos conflictivos: por ejemplo, a pacientes *TPMT*1/*3A* de pacientes *TPMT*3B/*3C*. Las técnicas tradicionales de genotipificado no permiten esta diferenciación (qPCR); para ello es necesario una PCR digital, normalmente poco disponible, que determine en qué hebra de ADN se localizan las variantes. Puede consultar el documento [Tecnologías para la detección de variantes farmacogenéticas](#) donde se describen distintas formas para realizar las determinaciones genéticas.

Como inconveniente, además de ser más laboriosas que las pruebas de genotipado, éstas deben interpretarse con cautela porque la actividad de TPMT aumenta tras la exposición a tiopurinas,

especialmente después de transfusiones de sangre³⁵⁻³⁷. Además, en pacientes con mielosupresión, la actividad de TPMT en eritrocitos se ve disminuida como consecuencia de una menor renovación de la serie roja³⁸. Por último, estas técnicas dependen de la toma previa de tiopurinas, lo que puede suponer un riesgo en pacientes metabolizadores intermedios o lentos.

9. Beneficios de la implementación clínica de la genotipificación de TPMT y NUDT15

Los ajustes basados en el genotipificación anticipado de *TPMT* y *NUDT15* reducen el riesgo de padecer reacciones adversas graves y han mostrado ser coste-efectivos en diversos estudios. Ya en 2015, Coenen y colaboradores²⁸ determinaron el impacto del genotipado de *TPMT* previo al tratamiento con tiopurinas y la dosificación en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (analizando entonces *TPMT**2, *3A, *3C). Hubo una reducción de 10 veces en el número de reacciones adversas graves hematológicas ocurridas entre portadores de variantes en *TPMT* que fueron identificados y que recibieron una reducción de dosis, en comparación con los portadores de las variantes cuyo tratamiento no fue ajustado. Años más tarde, en 2019 Sluiter y colaboradores²⁹ reportaron sobre el mismo grupo de estudio (TOPIC) que la adición del genotipado no había aumentado los costes generales de atención médica mientras que sí proporcionaba reducción en las reacciones adversas. En otros contextos de uso, como la leucemia linfoblástica aguda pediátrica, también se ha podido verificar el beneficio del genotipado tanto de *TPMT* como de *NUDT15* en la prevención de la mielotoxicidad severa en los pacientes^{39,40}.

10. Conclusiones

Aunque la mayoría de las recomendaciones posológicas se han generado a partir de estudios clínicos en unas pocas enfermedades, hemos extrapolado las dosis recomendadas a todas las indicaciones, dadas las características farmacocinéticas de las asociaciones genotipo / fenotipo.

De acuerdo con la información recogida en la presente guía, el GdT_RC de la SEFF recomienda que antes del inicio del tratamiento con 6-MP, 6-TP o AZA se determine el genotipo para inferir el fenotipo metabólico de TPMT y NUDT15 y se realice el ajuste de dosis de acuerdo a las recomendaciones incluidas.

11. Referencias

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) AE de M y PS. Ficha técnica de Azatioprina. 25 mayo 2021, https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/50043/FT_50043.html.pdf
2. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) AE de M y PS. Ficha técnica de Mercaptopurina. 25 mayo 2021, 2021. http://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/80570/80570_ft.pdf
3. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) AE de M y PS. Ficha técnica de Tioguanina. Accessed 26 mayo 2021. https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/52363/FT_52363.pdf
4. Karas-Kuzelicki N, Mlinaric-Rascan I. Individualization of thiopurine therapy: thiopurine S-methyltransferase and beyond. *Pharmacogenomics*. 2009;10(8):1309-1322. doi:10.2217/pgs.09.78
5. Kitchen BJ, Moser A, Lowe E, et al. Thioguanine administered as a continuous intravenous infusion to pediatric patients is metabolized to the novel metabolite 8-hydroxy-thioguanine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999;291(2):870-874.
6. Saiz-Rodríguez M, Ochoa D, Belmonte C, et al. Influence of thiopurine S-methyltransferase polymorphisms in mercaptopurine pharmacokinetics in healthy volunteers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2019;124(4):449-455. doi:10.1111/bcpt.13153



7. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut*. 2002;50(4):485-489. doi:10.1136/gut.50.4.485
8. Jagt JZ, Pothof CD, Buiters HJC, et al. Adverse Events of Thiopurine Therapy in Pediatric Inflammatory Bowel Disease and Correlations with Metabolites: A Cohort Study. *Digestive Diseases and Sciences*. Published online February 3, 2021. doi:10.1007/s10620-021-06836-3
9. Macaluso FS, Renna S, Maida M, et al. Tolerability profile of thiopurines in inflammatory bowel disease: a prospective experience. *Scand J Gastroenterol*. 2017;52(9):981-987. doi:10.1080/00365521.2017.1333626
10. Bermejo F, Aguas M, Chaparro M, et al. Recommendations of the Spanish Working Group on Crohn's Disease and Ulcerative Colitis (GETECCU) on the use of thiopurines in inflammatory bowel disease. *Gastroenterología y hepatología*. 2018;41(3):205-221. doi:10.1016/j.gastrohep.2017.11.007
11. Bermejo F, Lopez-Sanroman A, Taxonera C, et al. Acute pancreatitis in inflammatory bowel disease, with special reference to azathioprine-induced pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(5):623-628. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03746.x
12. Gisbert JP, González-Lama Y, Maté J. Thiopurine-induced liver injury in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(7):1518-1527. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01187.x
13. Gisbert JP, Gomollón F. Thiopurine-induced myelotoxicity in patients with inflammatory bowel disease: a review. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(7):1783-1800. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.01848.x
14. Kennedy NA, Rhatigan E, Arnott IDR, et al. A trial of mercaptopurine is a safe strategy in patients with inflammatory bowel disease intolerant to azathioprine: an observational study, systematic review and meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(10):1255-1266. doi:10.1111/apt.12511
15. Wisniewski A, Kirchgessner J, Seksik P, et al. Increased incidence of systemic serious viral infections in patients with inflammatory bowel disease associates with active disease and use of thiopurines. *United European Gastroenterol J*. 2020;8(3):303-313. doi:10.1177/2050640619889763
16. Romagnuolo J, Sadowski DC, Lalor E, Jewell L, Thomson AB. Cholestatic hepatocellular injury with azathioprine: a case report and review of the mechanisms of hepatotoxicity. *Can J Gastroenterol*. 1998;12(7):479-483. doi:10.1155/1998/294752
17. Calabrese E, Hanauer SB. Assessment of non-cirrhotic portal hypertension associated with thiopurine therapy in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2011;5(1):48-53. doi:10.1016/j.crohns.2010.08.007
18. Wang L, Weinshilboum R. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: insights, challenges and future directions. *Oncogene*. 2006;25(11):1629-1638. doi:10.1038/sj.onc.1209372
19. Yang SK, Hong M, Baek J, et al. A common missense variant in NUDT15 confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. *Nat Genet*. 2014;46(9):1017-1020. doi:10.1038/ng.3060
20. Slanar O, Chalupná P, Novotný A, Bortlík M, Krska Z, Lukás M. Fatal myelotoxicity after azathioprine treatment. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2008;27(6):661-665. doi:10.1080/15257770802143905
21. Relling M V, Schwab M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on TPMT and NUDT15 Genotypes: 2018 Update. *Clin Pharmacol Ther*. 2019;105(5):1095-1105. doi:10.1002/cpt.1304
22. Dean L. *Azathioprine Therapy and TPMT and NUDT15 Genotype*.; 2012.
23. (FDA) USF and DA. No Title. Accessed May 21, 2021. <https://www.fda.gov/>
24. European Medicines Agency (EMA). No Title. Accessed May 21, 2021. <https://www.ema.europa.eu/>
25. PharmGKB database. Accessed May 21, 2021. <https://www.pharmgkb.org/gene/PA356/overview>
26. von Ahnen N, Armstrong VW, Behrens C, et al. Association of inosine triphosphatase 94C>A and thiopurine S-methyltransferase deficiency with adverse events and study drop-outs under

- azathioprine therapy in a prospective Crohn disease study. *Clin Chem*. 2005;51(12):2282-2288. doi:10.1373/clinchem.2005.057158
27. Ansari A, Arenas M, Greenfield SM, et al. Prospective evaluation of the pharmacogenetics of azathioprine in the treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(8):973-983. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03788.x
 28. Coenen MJH, de Jong DJ, van Marrewijk CJ, et al. Identification of Patients With Variants in TPMT and Dose Reduction Reduces Hematologic Events During Thiopurine Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(4):907-17.e7. doi:10.1053/j.gastro.2015.06.002
 29. Sluiter RL, Van Marrewijk C, De Jong D, et al. Genotype-Guided Thiopurine Dosing Does not Lead to Additional Costs in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2019;13(7):838-845. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz009
 30. Hamdan-Khalil R, Gala JL, Allorge D, et al. Identification and functional analysis of two rare allelic variants of the thiopurine S-methyltransferase gene, TPMT*16 and TPMT*19. *Biochem Pharmacol*. 2005;69(3):525-529. doi:10.1016/j.bcp.2004.10.011
 31. Lindqvist M, Skoglund K, Karlgren A, et al. Explaining TPMT genotype/phenotype discrepancy by haplotyping of TPMT*3A and identification of a novel sequence variant, TPMT*23. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17(10):891-895. doi:10.1097/FPC.0b013e3282ef642b
 32. Schaeffeler E, Eichelbaum M, Reinisch W, Zanger UM, Schwab M. Three novel thiopurine S-methyltransferase allelic variants (TPMT*20, *21, *22) - association with decreased enzyme function. *Hum Mutat*. 2006;27(9):976. doi:10.1002/humu.9450
 33. Yu CH, Chang YH, Wang DS, et al. Determination of NUDT15 variants by targeted sequencing can identify compound heterozygosity in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. *Scientific Reports*. 2020;10(1):14400. doi:10.1038/s41598-020-71468-y
 34. Donnan JR, Ungar WJ, Mathews M, Rahman P. Systematic Review of Thiopurine Methyltransferase Genotype and Enzymatic Testing Strategies. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2011;33(2):192-199. doi:10.1097/FTD.0b013e31820810cd
 35. Evans WE. Pharmacogenetics of Thiopurine S-Methyltransferase and Thiopurine Therapy. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2004;26(2):186-191. doi:10.1097/00007691-200404000-00018
 36. Ford LT, Berg JD. Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) assessment prior to starting thiopurine drug treatment; a pharmacogenomic test whose time has come. *Journal of Clinical Pathology*. 2010;63(4):288-295. doi:10.1136/jcp.2009.069252
 37. Cheung ST, Allan RN. Mistaken identity: misclassification of TPMT phenotype following blood transfusion. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15(11):1245-1247. doi:10.1097/01.meg.0000085479.12407.b8
 38. Lennard L, Chew TS, Lilleyman JS. Human thiopurine methyltransferase activity varies with red blood cell age. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2001;52(5):539-546. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01497.x
 39. Tanaka Y, Kato M, Hasegawa D, et al. Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a NUDT15 variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2015;171(1):109-115. doi:10.1111/bjh.13518
 40. Chiengthong K, Ittiwut C, Muensri S, et al. NUDT15 c.415C>T increases risk of 6-mercaptopurine induced myelosuppression during maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2016;101(1):e24-6. doi:10.3324/haematol.2015.134775

12. Páginas web de referencia

Agencia Española del Medicamento (AEMPS):



- Ficha técnica de Mercaptopurina:
https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/80570/FT_80570.pdf,
- Ficha técnica de Azatioprina:
https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/50043/FT_50043.html.pdf

Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC): <https://cpicpgx.org/guidelines/guideline-for-thiopurines-and-tpmt/>

European Medicines Agency (EMA): <https://www.ema.europa.eu/>

PharmVar: <https://www.pharmvar.org/>

PharmGKB: <https://www.pharmgkb.org/gene/PA356/overview>

PharmGKB: <https://www.pharmgkb.org/gene/PA356/clinicalAnnotation>

Royal Dutch Pharmacists Association - Pharmacogenetics Working Group (DPWG):

- Guía TPMT: <https://www.g-standaard.nl/risicoanalyse/B0001905.PDF>;
- Guía NUDT15: <https://www.knmp.nl/downloads/g-standaard/farmacogenetica/english-background-information/nudt15-english.pdf>.

U.S. Food and Drug Administration (FDA): <https://www.fda.gov/>

13. Datos suplementarios

Tabla Suplementaria 1. Definición de los alelos que recomienda testar la SEFF para una correcta asignación de los fenotipos farmacogenéticos de TPMT.

https://seff.es/download/48/tiopurinas/3196/tabla-suplementaria-1_tpmt-alelos.xlsx

Tabla Suplementaria 2. Variantes asociadas a los alelos que recomienda testar la SEFF para una correcta asignación de los fenotipos farmacogenéticos de TPMT. Se muestran la localización de las variantes en distintos genomas de referencia, alteraciones a nivel de transcrito y proteína y frecuencias alélicas en distintas poblaciones.

https://seff.es/download/48/tiopurinas/3197/tabla-suplementaria-2_tpmt-variantes.xlsx

Tabla Suplementaria 3. Definición de los alelos que recomienda testar la SEFF para una correcta asignación de los fenotipos farmacogenéticos de NUDT15.

https://seff.es/download/48/tiopurinas/3194/tabla-suplementaria-3_nudt15-alelos.xlsx

Tabla Suplementaria 4. Variantes asociadas a los alelos que recomienda testar la SEFF para una correcta asignación de los fenotipos farmacogenéticos de NUDT15. Se muestran la localización de las variantes en distintos genomas de referencia, alteraciones a nivel de transcrito y proteína y frecuencias alélicas en distintas poblaciones.

https://seff.es/download/48/tiopurinas/3199/tabla-suplementaria-4_nudt15-variantes.xlsx

Tabla Suplementaria 5. a) Secuencias del contexto genómico de las variantes recomendadas; b) Posibles *primers* o cebadores para secuenciación Sanger de *TPMT* y *NUDT15*.

<https://seff.es/download/48/tiopurinas/3195/tabla-suplementaria-5.docx>

Tutorial para la definición de alelos, diplotipos y fenotipos

https://seff.es/download/52/documentos-comunes/3306/tutorial-para-la-definicion-de-alelos-diplotipos-y-fenotipos_v2.pdf



Tecnologías para la detección de variantes farmacogenéticas

https://seff.es/download/52/documentos-comunes/3204/tecnologias-para-la-deteccion-de-variantes-farmacogeneticas_v5.pdf