

En Busca de las Bases Genéticas de la Injuria Hepática inducida por Medicamentos Antituberculosos.

Ricardo Fujita (0000-0002-9617-5109), Ph.D., Oscar Acosta Conchucos, Ph.D. (c) (0000-0002-1912-0251), María Luisa Guevara Ph.D. (0000 0001 5457 231X) y Teodoro Oscanoa (0000-0001-9379-4767), M.D., Ph.D.

RESUMEN

La tuberculosis uno de los problemas de salud pública mas severos en el mundo incluyendo el Perú, tiene un tratamiento estándar que combina medicamentos de "primera línea" (Isoniazida, Rifampicina, Pirazinamida y Etambutol), que es eficaz para la mayor parte de casos. Pero un grupo de pacientes tratados (3-13%) tiene reacción adversa con *injuria hepática inducida por medicamentos antituberculosis* (IHIMA) cuya causa es multifactorial y poco entendida. Hay una base genética en procesos que conducen a IHIMA, incluyendo factores relacionados con el metabolismo de los medicamentos, así como factores inmunológicos. Las drogas mas estudiadas han sido la isoniazida y sus derivados tóxicos, un poco menos la rifampicina; mientras que el etambutol y estreptomycin no tienen estudios farmacogenéticos. Enzimas del hígado conocidas por metabolizar o transportar estos fármacos son: NAT2, las CYP450 y las GST, las UGT, la familia ABC, y otras que en diferentes reacciones que pueden producir intermediarios hepatotóxicos. Con respecto a la inmunogenética, aparte de los mecanismos de infección, hay la hipótesis de la "señal de peligro" que indica que los diferentes metabolitos derivados son haptenos que modifican la superficie celular gatillando las variantes de los sistemas inmunes innatos y adquiridos promoviendo inflamación y autoinmunidad. El bagaje genético de la población peruana, con 70-80% de bagaje genético nativo sudamericano, poco estudiado, amerita especial atención al descubrimiento de nuevas variantes para discernir entre las que son inocuas de las que tengan un impacto negativo o positivo en IHIMA.

ABSTRACT

Tuberculosis is globally one of the main health burden and it is also true in Peru, TB has a standard treatment consisting in the combination of so called "first line antiTB drugs" (Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamide and Ethambutol), that work for most cases. However a 3-13% of cases develop "Drug Induced Liver Injury" (DILI) secondary to anti-tuberculosis treatment that has a multifactorial origin and it is still little understood. There is a genetic basis in the processes conducting to DILI including the metabolism of drugs as well as immunological factors. Most Pharmacogenetics studies are on isoniazide and its derivatives, in a lesser extent rifampicin, whereas ethambutol and pyrazinamide had no studies. Liver enzymes metabolize or transport these drugs among them are NAT2, CYP450 family, GST and UGT families as well as transporters ABC and others. Concerning Immunogenetics, in addition to infection mechanisms, there is the "Danger Signals" hypothesis involving haptens that modify cell surfaces triggering innate and adaptive immunity promoting inflammation and autoimmunity. Peruvian's genetic background is around 70-80% native South American, a population poorly studied and needs special focus to elucidate new alleles between neutral in comparison with deleterious or protective ones for DILI.

1. INJURIA HEPÁTICA INDUCIDAS POR MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS (IHIMA)

Si bien la mayor parte de pacientes con tuberculosis responden favorablemente a los medicamentos, un grupo tiene una reacción adversa a este tratamiento que conlleva a *injuria hepática inducida por medicamentos antituberculosos* (IHIMA) y es la más severa de las reacciones adversas a tratamiento de la tuberculosis. Su frecuencia se calcula entre 3.4% a 13% dependiendo de las poblaciones estudiadas (Yee y cols., 2003, Gülbay y cols., 2006). La IHIMA operacionalmente se define por lesión hepática e ictericia conjuntamente con la elevación mayor de 3 veces sobre el límite superior normal de la bilirrubina; o la elevación de las transaminasas por encima de 5 veces el límite superior normal en ausencia de síntomas

Artículo Preprint

Financiamiento: Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concytec). Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (Fondecyt). Proyecto de investigación: Desarrollo de nuevas formas de dosificación conteniendo hierro hemo y antioxidantes naturales; fichas técnicas analíticas y funcionales preclínicas y clínicas. Número de contrato: CONV-000090-2014-FONDECYT-DE

Licencia Creative Commons: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

(Devarbhavi H 2011). . El IHIMA tienen un amplio espectro de presentación clínica que puede ir desde la forma asintomática (20%) solo detectada por test bioquímicos hasta la hepatitis aguda e insuficiencia hepática aguda (6%) (Steele MA, 1991). Actualmente existen dos instrumentos específicos para evaluar la causalidad de la Injuria hepática inducidas por medicamentos: *Roussel Uclaf Causality Assessment Method* (RUCAM) (Danan G1993) y el *Drug Induced Liver Injury Network* (DILIN). (Fontana RJ, 2009).

La IHIMA puede ser fatal si no es detectada a tiempo y al día de hoy no hay forma de prevenirla (Reto et al., 2005; Huiru, 2013). Todavía no se entiende bien sus causas primarias; pero ciertamente es multifactorial dependiendo de la edad, sexo, peso, estado de salud, interacción de varios medicamentos, condición socioeconómica, etc. Los cambios celulares en IHIMA tienen su base por al menos 2 vías: la intoxicación directa por los fármacos y modificaciones celulares que pueden provocar autoinmunidad. Los fármacos de primera línea con mas potencial hepatotóxico son la isoniazida, rifampicina y la pirazinamida, cuando se administran los 3 durante el tratamiento antituberculosos, es difícil cuantificar la contribución de cada fármaco al desarrollo del IHIMA.

2. COMPONENTES FARMACOGENÉTICO E INMUNOGENÉTICO DE IHIMA

Se sabe que existe un componente genético que hace que algunos individuos metabolicen los medicamentos mas eficientemente que otras personas y a distintas velocidades y es estudiada por la Farmacogenética (Ramachandran and Swaminathan, 2012). Por otro lado, los fármacos pueden inducir cambios estructurales (por ejemplo haptenos) en las células hepáticas que pueden responder anormalmente en procesos de autoinmunidad y también está determinada por componentes genéticos. Esto último, asociado con el sistema inmune encargado de la interacción con patógenos, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis* en cada individuo es determinado por la Inmunogenética.

La relevancia de la identificación del componente genético (genotipo) de la predisposición (o protección) a IHIMA permitirá prevenir la aparición de efectos adversos en pacientes susceptibles. Por ello es necesario explorar los componentes de farmacogenética por un lado, y la inmunogenética por el otro, tanto en la predisposición a tener o no infecciones como para reacciones autoinmunes. Es necesario un estudio que incluya este tipo de análisis en poblaciones susceptibles a TB y su tratamiento en nuestra población sobre todo dada las particularidades de la población peruana (Sandoval et al., 2013; Elhaik, 2013; Harris et al., 2018). Sus resultados contribuirán al diseño de protocolos y estrategias de prevención de la IHIMA en nuestro país adaptado a nuestra población. La aplicación de esta nueva tecnología servirá para el uso seguro de los fármacos antituberculosos y se podría extender a otros medicamentos que frecuentemente producen reacciones adversas.

2.1 Metabolismo hepático de los fármacos antituberculosos y variación farmacogenética y susceptibilidad a IHIMA

Los aspectos mas importantes del componente genético de la IHIMA son la farmacogenética de los medicamentos antituberculosos en sí mismos y los genes relacionados a procesos inflamatorios y autoinmunidad (Ramachandran y Swaminathan, 2012). De los medicamentos antituberculosos, de lejos el mas estudiado a nivel de farmacogenética es la isoniazida y en menor escala de la rifampicina; pero hay escasos estudios en etambutol y pirazinamida (Ramachandran & Swaminathan, 2012).

El hígado es el órgano donde tienen lugar la mayor parte de los procesos de biotransformación de fármacos, hormonas, toxinas y también de sustancia endógenos. Una de las funciones principales del hígado es encargarse del metabolismo y detoxificación de los medicamentos, por consiguiente, es también un órgano vulnerable a las reacciones adversas medicamentosas. Por ejemplo, la isoniazida, uno de los principales fármacos asociados a IHIMA, tiene diversos metabolitos que parecen estar asociados a su efecto hepatotóxico. La isoniazida a nivel hepático es metabolizada via N-acetyltransferase 2 (NAT2) e hidrolizado para formar la acetilhidracina. La acetilhidracina es oxidada por la enzima P4502E1 (CYP2E1) formando sustancias intermedias con capacidad hepatotóxica (acetildiazeno, ión

acetilonio, radical acetil y queteno). Estas sustancias hepatotóxicas pueden destruir hepatocitos, ya sea por interferencia con la homeostasis celular o por el desencadenamiento de reacciones autoinmunes porque dichos metabolitos al adherirse a los hepatocitos tienen funciones de haptenos. Otra forma para generar compuestos hepatotóxicos es vía la enzima amidasa, formando la hidracina (Huang YS. 2014). La enzima NAT2 también convierte la acetilhidracina (metabolito hepatotóxico) a diacetilhidracina (metabolito no tóxico). A nivel de la fase II de la función detoxificadora del hígado, la enzima Glutathion-S-transferase (GST), juega un rol muy importante, porque funciona como un depurador de radicales libres intracelular, especialmente de los metabolitos hepatotóxicos generados por la CYP2E1. La GST se encarga de una sulfidril-conjugación de dichos metabolitos tóxicos, propiciando su eliminación por la bilis. (Huang YS. 2014).

Los factores de riesgo para la IHIMA identificados actualmente son: Edad, malnutrición, alcoholismo crónico, compromiso sistémico o extensión de la tuberculosis, enfermedad hepática previa (hepatitis B, C), infección HIV y polimorfismos genéticos. (Devarbhavi H. 2011; Shakya R 2004). Recientes estudios farmacogenómicos han evidenciado que polimorfismos en las enzimas que metabolizan los medicamentos, especialmente a nivel hepático (Ejemplo: NAT2, CYP2E1 y GST), pueden influir en la capacidad de activación y generación de metabolitos a nivel hepático, por consiguiente, predispondrían a una especial susceptibilidad a la hepatotoxicidad inducida por medicamentos.

2.1.1 Familia de genes CYP450

Parte de la fase I del metabolismo. La familia citocromo P450 (CYP450) incluye casi 200 genes que tienen la función de diferentes formas de oxidación de sustratos en la fase I para la solubilización de los compuestos. La enzima CYP2E1, está implicada con la metabolización de productos secundarios de la isoniazida y su actividad también está modulada por polimorfismos en varios sitios del gen. Una actividad normal de esta enzima puede aumentar la síntesis de metabolitos tóxicos (acetildiazeno, ion acetilonio, radical acetil y ketene), convirtiéndose en un factor de riesgo de IHIMA, mientras que la mutación la disminuye. En otras palabras, la versión normal (común) predispone a IHIMA. En el estudio metaanalítico de Wang y cols, solo se encontró una relación significativa de riesgo para IHIMA en población asiática (Odd ratio=1.35; 95% CI: 1.01–1.81; p=0.04). (Wang PY. 2012). La frecuencia de los alelos mutantes varía según el país, por ejemplo en India llega hasta 36% mientras que en Brasil es 1%. No se ha investigado el comportamiento de la CYP2E1 y el riesgo de IHIMA en la población de América del Sur. Por otro lado estudios *in vitro* con cultivos de células o extractos se ha visto que la isoniazida o sus metabolitos con NAT2 interactúan también con las enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4, CYP2C9, CYP12, CYP2A6 (Castillejos-Lopez y cols., 2008).

2.1.2 N-acetyl transferase 2 (NAT2)

Enzima de conjugación de fase II. Se ha observado que el grado de actividad de la enzima hepática N-acetyltransferase (NAT), afecta el proceso de detoxificación, por lo tanto estaría asociado con la susceptibilidad a la AHIMA. Existen dos métodos para la tipificación del "estado acetilador" de un paciente, la fenotipificación indirecta y la genotipificación. Fenotipificación indirecta consiste en la medición de los metabolitos del NAT en la sangre del paciente, presenta el inconveniente de ser influenciado por muchos factores intrínsecos. Actualmente la forma de diferenciar metabolizadores rápidos y lentos es mediante la genotipificación de variantes del NAT2. La NAT es codificado por genes NAT1 (embrionario) y NAT2; en el ser humano el NAT2 es el principal gen que controla la acetilación durante la vida del individuo. Los seres humanos tienen una gran variabilidad genética en NAT2, los cuales influyen en la actividad de esta enzima hepática. El "alelo normal, silvestre o salvaje" (wild type), es el más extendido de una población, denominado NAT2*4, y posee la más alta actividad NAT comparada con las variantes (mutantes NAT2*5, NAT*6, NAT*7, etc.). (Huang 2002). Se define acetilador lento cuando hay 2 versiones de cualquiera de los alelos variantes, acetilador intermedio cuando hay una variante y un alelo normal; acetilador rápido es cuando existe dos alelos normales. De manera simplificada se considera que existen solamente acetiladores rápidos (incluye a los intermedios) y lentos. (Huang 2014). Otras enzimas de fase II con relevancia a IHIMA son MnSOD2 (manganeso superóxido mutasa) y

la SOD2 (superoxidasa mutasa 2), cuyas variantes genéticas han sido asociadas a IHIMA probablemente por el incremento de radicales oxidantes (Huang et al., 2002; Lucena et al., 2010).

De acuerdo a dos estudios metanalíticos recientes los NAT2 acetiladores lentos tienen más riesgo de hacer AHIMA. (Wang PY. et al., 2012; Cai Y et al., 2012). Hay diferencias poblacionales de acuerdo al origen geográfico de los individuos para la frecuencia de acetiladores lentos, por ejemplo 13% en Japón, 31.2% en Polonia, 45.7% en Marruecos y 61.8% en Túnez (Castillejos-Lopez et al, 2008). En el metanálisis de Wang y col que incluyó 14 estudios (la población estudiada no incluyó ningún país de América del sur) y se encontró un Odds ratio de 4.697 (95%CI 3.291–6.705, $P < 0.001$) para los NAT2 acetiladores lentos, comparado con los acetiladores rápidos (Wang PY. 2012). El metanálisis de Cai y col incluyó 38 estudios (el único país de América del sur incluido fue Brasil) evidenció un Odds ratio de 3.18 (95% CI 2.49-4.07, $p < 0.029$) para los NAT2 acetiladores lentos, comparado con los acetiladores rápidos. (Cai Y, 2012). Otras enzimas No se ha investigado el comportamiento del NAT2 y el riesgo de AHIMA en población peruana u otra población sudamericana de los Andes o del Pacífico.

2.1.3 Glutation-S-transferase (GST),

GST es una superfamilia de enzimas hepáticas de fase II muy importante, porque cataliza la conjugación de glutatión con compuestos para ser excretados en la bilis. La superfamilia de genes *GST* que codifica esta enzima tiene variaciones genéticas funcionales, las cuales se han correlacionado con la susceptibilidad de enfermedad hepática alcohólica y muchas neoplasias. Los individuos con genotipos mutantes "nulos" homocigóticos de *GSTM1* o *GSTT1*, se caracterizan por la pérdida de la función de esta enzima, también se sabe que el gen *GTSP1* interviene en la eliminación de productos tóxicos del hígado y podría ser relevante para detoxificar de productos de la isoniazida. Por lo tanto dichos individuos pueden tener riesgo de IHIMA. En el estudio metaanalítico de Cai y col se ha observado que la población de la India, son los que más riesgo tienen de AHIMA en relación con la ausencia de actividad del GST (Odds ratio: 1.7 IC: 0.53-5.46; $p=0.059$). El único país de América del Sur donde se ha investigado este gen es en Brasil, con resultados no significativos (Texeira 2011). Otras proteínas de la fase II inducida por la droga rifampicina son la familia UGT (glucuronosil transferasa) y las asociadas a IHIMA son la UGT A1, A3, A9 y 2B7; siendo UGT A1 y A3 asociadas específicamente con tratamiento antituberculoso.

2.1.4 Transportadores

La lesión colestásica, se produce por la detención del flujo de la bilis al duodeno y daña al hígado causando además el color amarillento de la piel y mucosas (ictericia). La etapa de transporte fuera del órgano, en este caso la excreción del hígado es considerado como fase III. Los transportadores ABC (ATP-binding cassette) constituyen una familia de proteínas involucradas en el transporte de grandes moléculas y detoxificación usando energía (ATP). Su importancia evolutiva es evidenciada por la gran cantidad de genes y la falla de algunos transportadores ABC ha sido relacionada con la multirresistencia a fármacos. Variantes genéticas de transportadores ABC relacionados con IHIMA son ABCB11 (BSEP), ABCC2 (MRP2) y ABC1 (MDR) (Lucena et al., 2010). También se encuentra la familia de polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (OATP) que facilitan el transporte sales biliares. Por otro lado se sabe que la rifampicina induce los transportadores ABCB1 y SLCO1B1.

2.2 INMUNOGENÉTICA

Para explicar la hepatotoxicidad hay la "*Hipótesis de la señal peligro*" que propone que haptenos formados por metabolitos secundarios se adosan a diferentes partes de las células (hepatocitos) para formar moléculas que van a ser mal reconocidas por el sistema inmune (Huang et al., 2002). En contraste con la lógica de asociación farmacogenética entre deficiencias de enzimas del metabolismo de medicamentos y la toxicidad previa a la injuria hepática; la inmunogenética en IHIMA ha sido históricamente evidenciada empíricamente por

asociación de ciertos marcadores de inmunidad como variantes genéticas de HLA o proteínas del sistema inmune innato.

2.2.1 Sistema inmune innato

Un mecanismo importante para la defensa celular al stress son los mecanismos de inflamación, reparación y regeneración celular que involucra proteínas de defensa inmediata que son codificadas por genes del sistema inmune innato. Estos comprenden una batería de genes regulados colectivamente por factores de transcripción como Nrf-2, también involucrada en la regulación de glutatión y otras enzimas detoxificantes. Se producen también cascadas proinflamatorias con producción de citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral (TNF α), INF, FasL y el grupo de interleuquinas protectoras como IL-6 e IL-6, al igual que MCP1 y MCP2.

2.2.2 Sistema inmune adquirido

Se han determinado variantes genéticas del sistema MHC que están relacionados con la IHIMA producido por diferentes tipos de medicamentos. Entre los más activos se encuentran los genes de MHC clase II DQB, DQA y DRB1, 3 y 5. Las proteínas del sistema inmune adquirido constituyen el grupo de mayor variabilidad genética y se diferencian mucho entre poblaciones de diferente origen geográfico probablemente como reflejo de su importancia adaptativa y selectiva a través de la historia de los pueblos. La importancia del sistema inmune adquirido en la "hipótesis de la señal peligro" reside en su capacidad para identificar proteínas y células que tienen haptenos o moléculas de procesos inflamatorios que podrían (o no) hacerlas inmunoreactivas. Aquí es donde entra la genética con algunos genotipos que son más inmunoreactivos que otros.

3. DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Ésta es una propuesta nueva para el país, diversos grupos clínicos (incluyendo el Hospital Almenara) vienen observando y registrando pacientes que en el tratamiento estándar de medicación antituberculosa producen una reacción adversa que incluye hepatotoxicidad y subsecuentemente injuria hepática. En la literatura se encuentran de trabajos de docenas de diversos genes involucrados a metabolismo de fármacos, procesos celulares inflamatorios y de reacción autoinmune. La posibilidad de la nueva tecnología genómica de secuenciamiento masivo (New Generation Sequencing) permitirá el estudio de genes en pacientes con IHIMA y sus controles. Cabe mencionar que debido a la variación de genes y alelos en los estudios a través del mundo es muy grande y depende de la población por lo que es muy posible encontrar variantes propias de la población peruana que sea relevante a IHIMA y que no haya sido descubierta todavía en otros grupos.

El tipo de estudio de aplicación de la genómica para estudiar problemas de salud en humanos no se aplica todavía en nuestro país y en el caso de la afección IHIMA, ésta sería la primera vez que se realizaría el análisis "Targeted Sequencing" para IHIMA en el mundo. A diferencia al "whole genome sequencing" que secuencia todo el genoma del individuo, o "exome sequencing" que se centra a las secuencias de los exones (135,000 de los 25,000 genes humanos), nuestra estrategia de "Targeted Sequencing" se basa en genes selectos (50) que ya tienen relevancia o son candidatos para estar relacionados con IHIMA. La "Targeted Sequencing" es una versión más económica en la serie de estudios genómicos y la lectura de secuencia puede ser realizada por encargo en una compañía extranjera y el resultado transferido electrónicamente para ser evaluado con nuestro equipo de bioinformática local. El centro (CGBM-USMP) tiene como misión transferir la tecnología de punta para resolver problemas locales y se ha implementado diferentes tecnologías para estudios genéticos en poblaciones peruanas. El problema presentado en esta ocasión la injuria hepática inducida por medicamentos tuberculosos (IHIMA) es una ocasión para introducir esta tecnología (Targeted Sequencing) que está teniendo un gran impacto en el estudio de la identificación de marcadores de predisposición a enfermedades multifactoriales y que no se podría estudiar con la tecnología reciente.

Según la OMS, el *Mycobacterium tuberculosis* infecta a 1/3 de los seres humanos de los cuales solo un 10% llega a tener la TBC, riesgo que aumenta en personas con problema en el sistema inmune. De esas personas un gran porcentaje, entre 5-20 % muere por esta causa (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>). Las condiciones socioeconómicas, nutricionales, seguimiento del tratamiento determinan la infección, desarrollo de tuberculosis y la muerte. Una de las causas importantes de abandono del tratamiento es la intoxicación con las drogas antituberculosas que producen hepatotoxicidad y conllevan a IHIMA. Se han descrito variantes genéticas en diferentes genes de metabolismo de fármacos o de inmunidad que están correlacionados con predisposición a IHIMA. Debido a que las variantes genéticas se encuentran repartidas en diferentes proporciones en los diferentes países, estudios de Europa o África no van a tener la misma validez en países sudamericanos. Entonces determinar las variantes predisponentes en las poblaciones peruanas tendrá validez para pacientes con nuestro background genético que en Lima tiene un promedio de 70% de ancestría nativa peruana y casi 100% en las zonas rurales del interior (Sandoval et al, 2013). Debido a que parte de la tendencia a hacer IHIMA tiene un componente genético, es posible identificar las mutaciones predisponentes antes de iniciar el tratamiento para así prevenir la reacción adversa que puede dañar irreversiblemente el hígado o causar la muerte. Esto es importante si tenemos en cuenta que ancestralmente el hombre sudamericano es el que tuvo mayor desplazamiento desde nuestro origen africano y que estuvo expuesto a diferentes patógenos y xenobióticos que de todos modos han influenciado en su supervivencia. El día de hoy estos genes son los que responden a fármacos e infecciones y seguramente el acervo genético sudamericano tiene nuevas variantes a ser descubiertas y descritas.

La tuberculosis en nuestro país está sesgada en la clase socioeconómica mas pobre y desgraciadamente también sesgada con respecto a su origen étnico. La prevención de IHIMA con marcadores genéticos permitiría en muchos casos preservar la salud del individuo y probablemente salvar su vida. La determinación de genotipos a riesgo de IHIMA evitará tratamientos que pueden ser inútiles o a veces adversos, que además puede tardar varios meses para manifestarse. Evidentemente habrá una merma en la economía en el paciente y su familia ya no solo por la TBC (que no será curada) sino por los efectos de de la IHIMA que puede llegar a ser fatal. La determinación de la predisposición a IHIMA permitirá la

Los resultados aplicados a IHIMA servirán para prevenir la medicación adversa en ese grupo de pacientes; pero la posibilidad del uso de marcadores genéticos en la predisposición de enfermedades será mejor aceptado por los médicos tratantes.

La propuesta novedosa para nuestro medio por la utilización de la tecnología genómica para descubrir mutaciones en una batería de 50 genes implicados o candidatos en IHIMA. Se utilizará la estrategia de "Targeted Sequencing" desarrollada con secuenciación masiva (Next Generation Sequencing). Esta propuesta sería la primera de este tipo de ser ejecutada en nuestro país y sentará un precedente en el estudio del componente genético en diferentes enfermedades. La estrategia no solo es válida para las tradicionalmente consideradas genéticas (mendelianas) sino también aquellas comunes que tienen variantes predisponentes como: hipertensión, diabetes, obesidad, artritis, asma, etc. Esta tecnología multiplica la capacidad de búsqueda y análisis por varias magnitudes (50 genes - 250 exones) a la vez en vez de exón por exón como venimos realizando hasta ahora. Además se cuenta con la plataforma bioinformática para analizar tal cantidad de datos. ello permitirá que esta estrategia pueda ser replicada en otras enfermedades.

El Perú carece de tecnología adecuada para estudios de enfermedades multifactoriales que necesitan la caracterización y el estudio de múltiples variables como las genéticas, que predisponen a la mayor parte de condiciones crónicas como enfermedades comunes o reacciones adversas. El objeto de estudio es la **injuria hepática inducida por medicación antituberculosa** (IHIMA) reacción adversa a medicamentos para tratar TBC.

- Se identificarán mutaciones predisponentes (protectivas) a IHIMA conocidas en otros estudios (origen europeo, africano o asiático).
- Se descubrirán nuevas variantes predisponentes, protectivas o neutrales propias del bagaje genético nativo sudamericano.
- La aplicación de caracterización previa al tratamiento permitirá a los pacientes con predisposición genética a IHIMA y diseñar un tratamiento distinto.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bonilla C. Situación de la tuberculosis en el Perú. *Acta Med Per.* 2008; 25(3):163–170.
- Gülbay BE¹, Gürkan OU, Yildiz OA, Onen ZP, Erkeköl FO, Bağcıoğlu A, Acican T. Side effects due to primary antituberculosis drugs during the initial phase of therapy in 1149 hospitalized patients for tuberculosis. *Respir Med.* 2006 Oct;100(10):1834-42.
- Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I and Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, 167:1472-147
- Huiru An 2013. Outcome and determinants of mortality in 269 patients with combination anti-tuberculosis drug-induced liver injury
http://www.academicjournals.org/article/article1380793028_An%20et%20al.pdf
- *Reto Hepatotxicidad por Fármacos Antituberculosos en Pediatría.* REV. GASTROENTEROL. PERÚ 2005; 25: 362-365
- Ramachandran G. and Swaminathan S. Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* (2012): 89-98
- Shakya R, Rao S, Shnestha B. Incidence of hepatotoxicity due to antitubercular medicines and assessment of risk factors. *Ann Pharmacother* 2004, 38:1074-1079.
- Devarbhavi H. Antituberculous drug-induced liver injury: current perspective. *Trop Gastroenterol.* 2011 Jul-Sep;32(3):167-74.
- Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs—I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol.* 1993;46:1323–30.
- Fontana RJ, Watkins PB, Bonkovsky HL, Chalasani N, Davern T, Serrano J, et al. DILIN Study Group. Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) prospective study: rationale, design and conduct. *Drug Saf.* 2009; 32:55–68
- Garcia-Cortes M, Lucena MI, Pachkoria K, Borraz Y, Hidalgo R, Andrade RJ. Evaluation of Naranjo adverse drug reactions probability scale in causality assessment of drug-induced liver injury. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:780-789.
- Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, Lagier G. Unexpected or toxic drug reaction assessment (imputation): actualization of the method used in France. *Therapie* 1985;40:111-114.
- Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Björnsson E, Day CP, Serrano J, Hoofnagle JH. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-induced liver injury: summary of a clinical research workshop. *Hepatology.* 2010 Aug;52(2):730-42. doi: 10.1002/hep.23696.
- Andrade RJ, Robles M, Fernández-Castañer A, López-Ortega S, López-Vega MC, Lucena MI (2007). "Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists". *World J. Gastroenterol.* **13** (3): 329–40
- Suk KT, Kim DJ. Drug-induced liver injury: present and future. *Clin Mol Hepatol.* 2012 Sep;18(3):249-57. doi: 10.3350/cmh.2012.18.3.249. Epub 2012 Sep 25. Review.
- Fontana RJ, Watkins PB, Bonkovsky HL, Chalasani N, Davern T, Serrano J, Rochon J; DILIN Study Group.
- Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) prospective study: rationale, design and conduct. *Drug Saf.* 2009;32(1):55-68. doi: 10.2165/00002018-200932010-00005
- Steele MA, Burk RF, DesPrez RM. Toxic hepatitis with isoniazid and rifampin. A meta-analysis. *Chest.* 1991;99:465–71.
- Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WC, van der Ven AJ, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23:192–202.
- Huang YS. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury. *J Chin Med Assoc.* 2014 Apr;77(4):169-73. doi: 10.1016/j.jcma.2014.01.010. Epub 2014 Mar 1

- Mitchell JR, Thorgeirsson UP, Black M, Timbrell JA, Snodgrass WR, Potter WZ, et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* 1975;18:70e9.
- Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Lai SL, Yang SY, et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor of antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2002;35:883e9.
- Lucena MI, Cueto R., Stephens C, Cabello MR, Robles M y Andrade R.J. Genética y hepatotoxicidad Gastroenterol Hepatol. 2010;33(Espec Congr 1):10-21
- Wang PY, Xie SY, Hao Q, Zhang C, Jiang BF. NAT2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012 May;16(5):589-95. doi: 10.5588/ijtld.11.0377. Epub 2012 Mar 8. Review.
- Cai Y, Yi J, Zhou C, Shen X. Pharmacogenetic study of drug-metabolising enzyme polymorphisms on the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(10):e47769. doi: 10.1371/journal.pone.0047769. Epub 2012 Oct 17.
- Teixeira RL¹, Morato RG, Cabello PH, Muniz LM, Moreira Ada S, Kritski AL, Mello FC, Suffys PN, Miranda AB, Santos AR. Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011 Sep;106(6):716-24.
- Castillejos-López, MJ, García-Sancho MC, Quiñones-Falconi, F, * Pérez-Padilla JR. Polimorfismos en los genes CYP450 y NAT2 y metabolismo de fármacos para el tratamiento antituberculosis estandarizado. *Revista de Investigación Clínica.* 60, (2008): 47-57
- Sandoval J.R., Salazar A., Acosta-Conchucos O., Castillo-Herrera W., Fujita R., Pena S.D. J. and Santos F.R. (2013). Tracing the Genomic Ancestry of Peruvian. *Journal of Human Genetics* Jul 18, doi: 10.1038/jhg.2013.73.
- Li H, Ruan J, Durbin R (2008) Mapping short DNA sequencing reads and calling variants using mapping quality scores. *Genome Res* 18:1851–1858.
- Li H, et al. (2009) The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25:2078–2079.