

# Implicaciones de los polimorfismos de un solo nucleótido en *Mycobacterium tuberculosis* y humanos en el manejo clínico de la tuberculosis

MANUEL DE JESÚS CASTILLEJOS LÓPEZ\*  
 ROGELIO PÉREZ PADILLA\*  
 FRANCISCO QUIÑONES FALCONI\*  
 MA. CECILIA GARCÍA SANCHO FIGUEROA\*

\* Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Ismael Cosío Villegas"

Trabajo recibido: 16-XI-2005; aceptado: 27-I-2006

## RESUMEN

Se analizan estudios de los polimorfismos genéticos de *Mycobacterium tuberculosis* asociados a resistencia y transmisión, así como los polimorfismos genéticos en humanos con asociación a gravedad y formas clínicas de la enfermedad y toxicidad hepática al tratamiento antituberculosis, y su utilidad en el estudio de los pacientes con tuberculosis multifarmacorresistente. Los nuevos métodos que ofrece la medicina genómica para la investigación en tuberculosis permiten sugerir nuevos criterios de aplicación inmediata en el manejo clínico de los pacientes con tuberculosis, en la evaluación de la eficacia de la terapéutica y en la prevención de eventos adversos para el paciente. Por ello, es importante evaluar el costo-beneficio de estas herramientas para fortalecer los centros de atención a pacientes con tuberculosis en países en desarrollo donde existen elevadas tasas de la enfermedad.

38

**Palabras clave:** Eficacia, genotipificación, multifarmacorresistencia, *Mycobacterium tuberculosis*, polimorfismos, tuberculosis.

**Key words:** Efficacy, genotyping, multidrug resistance, *Mycobacterium tuberculosis*, polymorphisms, tuberculosis.

## ABSTRACT

We review studies of *Mycobacterium tuberculosis* genetic polymorphisms associated to resistance and transmission; also, the genetic polymorphisms associated to severity and clinical presentation of human tuberculosis (TB) and hepatic toxicity associated to antituberculosis treatment. We discuss its usefulness in studies of patients with multidrug resistant TB.

The new methods of genomic medicine suggest new criteria for immediate application in TB management, the evaluation of treatment efficacy and the prevention of patient complications. It is important to appraise cost-benefit of this tool to improve TB medical care centers from developing countries with high rates of TB.

## EL PROBLEMA DE LA TUBERCULOSIS MULTIFARMACORRESISTENTE

En México ha sido posible reducir la mortalidad por tuberculosis (TB) debido a la utilización de quimioterapia y a los programas para su prevención y control, que aseguran la administración de un tratamiento efectivo bajo la estrategia de Tra-

tamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES). De esta manera, en el año 2002, la incidencia de tuberculosis pulmonar (TBp) reportada en nuestro país fue de 15.2 por 100,000 habitantes<sup>1</sup>. Sin embargo, datos recientes muestran que el número de casos registrados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) supera al número notificado por la Secretaría de Salud en México,

aunque en los últimos años esta discrepancia ha disminuido<sup>2</sup>.

No obstante, las cifras de resistencia conocidas son preocupantes. En México, entre 1986 y 1990, en una encuesta realizada en países de América Latina, promovida por la OMS y la Organización Panamericana de la Salud, se encontró 19.1% de resistencia primaria<sup>3</sup>. Entre 1989 y 1993, el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos evaluó la susceptibilidad de 1,811 aislamientos de diversos estados, encontrando una resistencia primaria de 8.3%<sup>4</sup>. Si-fuentes, en 1995, reportó la experiencia en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" [hoy Instituto Nacional de las Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Zubirán" (INCMNSZ)] de México, con resultados que mostraron tasas de resistencia primaria a isoniacida (INH) de 9%, rifampicina (RMP) 6% y multifarmacoresistencia 6%, así como elevadas tasas de resistencia secundaria: isoniacida (44%), rifampicina (35%), multifarmacoresistencia (35%)<sup>5</sup>. En 1997, en una encuesta realizada en tres estados de la República Mexicana, con los lineamientos de la OMS, se encontraron niveles de resistencia en nuevos casos de 12.9% y casos de TB con tratamiento anterior de 50% a uno o más medicamentos de primera línea como isoniacida, rifampicina y pirazinamida; y niveles de multifarmacoresistencia de 2.4 y 22.4% para los nuevos casos y retratados, respectivamente<sup>6</sup>. En 1998, Peter encontró 17% de multirresistencia en 427 aislamientos hechos en Baja California<sup>7</sup>. En el año 2001, el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias reportó una tendencia ascendente en la resistencia secundaria entre los periodos 1994-1997 y 1997-2000 de 13.0 y 15.8%, respectivamente<sup>8</sup>.

Se considera que existe resistencia a múltiples fármacos cuando un paciente tiene un cultivo con cepas resistentes a isoniacida y rifampicina, con o sin resistencia a otros agentes. Los casos con tuberculosis multifarmacoresistente (TBMFR) difícilmente se curan, particularmente si padecen VIH/SIDA o desnutrición. Además, su tratamiento es más tóxico y caro que el tratamiento de pacientes enfermos con organismos susceptibles<sup>9-11</sup>.

Al igual que en los pacientes con TB farmacoresistente, la prevención de nuevos casos de TBMFR depende del éxito que se obtenga de in-

terrompirla transmisión de cepas infectocontagiosas, fuente de infección en la comunidad. Tratar de curar a un paciente portador de una cepa resistente es un reto técnico, médico y social, sobre todo si se tiene en cuenta: a) el costo del tratamiento individualizado en estos pacientes, que puede ser hasta de \$180,000 (\$16,400 dólares americanos), b) aun cuando un grupo de investigación ha obtenido una tasa de curación de hasta 83%, a pesar de resistencia a una media de seis fármacos<sup>12</sup>, los fármacos de segunda línea tienen menor eficacia, logrando únicamente una tasa de curación de 50 a 60%, c) la duración prolongada del tratamiento, d) la mayor gravedad de los eventos adversos que producen las drogas de segunda línea y que hacen que los pacientes interrumpen el tratamiento, y e) el costo de métodos diagnósticos y la atención médica especializada para las diferentes complicaciones asociadas a la TBMFR o para las reacciones adversas<sup>1</sup>.

Se analiza la información contenida en la literatura científica sobre los factores genéticos en *Mycobacterium tuberculosis* que se encuentran asociados a la resistencia y transmisión en la micobacteria y los polimorfismos genéticos en el humano asociados a toxicidad y gravedad clínica de la enfermedad.

### **POLIMORFISMOS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ASOCIADOS A RESISTENCIA DE FÁRMACOS**

Varios grupos de investigación han buscado mostrar la posible asociación entre polimorfismos de *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia a isoniacida. En estudios diseñados con este objetivo, la frecuencia de polimorfismos de un solo nucleótido, SNP (del inglés, single nucleotide polymorphisms) en el gen katG varía de 76<sup>13</sup>, 85.6<sup>14</sup> a 97.5%<sup>15</sup> en los aislados resistentes a isoniacida. En todos los estudios ninguna de las cepas sensibles mostró estos polimorfismos. La sensibilidad de la prueba de PCR-SSCP (del inglés, PCR single-strand conformational polymorphism) en la detección de SNP para INH-R en katG, inhA y aphC, utilizando como estándar de oro el análisis por secuenciación, fue de 100% (IC95%, 91.2-100%), 98.7% (IC95%, 74-99.9%) y 100% (IC95%, 69.2-100%), respectivamente<sup>13</sup>.

Dada la gran sensibilidad de SNP de estos genes para detectar resistencia, los autores sugieren que este método puede ser útil para investigar genotipos de resistencia a INH como prueba rápida de tamizaje antes de iniciar el tratamiento<sup>12</sup>.

Por otra parte, los estudios genéticos enfocados específicamente al codón 315 del gen katG de *Mycobacterium tuberculosis* han encontrado una frecuencia de este polimorfismo mayor de 60% en todas las cepas resistentes y en ninguna de las cepas sensibles<sup>16-19</sup>. Se ha reportado incluso una cifra más alta de esta mutación en cepas resistentes a isoniacida de 93.6%<sup>20</sup>. La sensibilidad y especificidad del análisis molecular del SNP katG codón 315 para detectar resistencia a isoniacida fue de 80.3 y 100%, respectivamente. Con base en estos resultados, los autores consideran que los SNP de estas regiones son altamente predictivos de resistencia a INH, pueden ser útiles en el diagnóstico de resistencia clínica<sup>21</sup> y la prueba de PCR-SSCP puede ser útil para investigar genotipos de resistencia a INH como prueba de tamizaje antes de iniciar el tratamiento.

En el caso de la rifampicina (RMP) los SNP en el gen rpoB fueron los responsables de la resistencia al fármaco en todas las cepas, a diferencia de lo encontrado entre cepas INHr, en las cuales las mutaciones en katG se observaron sólo en el 60.4%. Los grupos que han estudiado este gen rpoB concluyeron que el blanco genético de rpoB, pero no de katG, tiene una alta sensibilidad para detectar resistencia entre cepas de *Mycobacterium tuberculosis*<sup>22-24</sup>.

En el INCMNSZ, en 35 cepas aisladas de pacientes, todas aquellas resistentes a RMP presentaron mutación en rpoB, mientras que ninguna cepa sensible a RMP presentó mutación en este gen. Las mutaciones en codones específicos se asociaron con el nivel de resistencia. Se observaron cuentas mínimas inhibitorias (MIC) significativamente más elevadas cuando las mutaciones ocurrían en el codón 513 (media de MIC 2,05 µg/mL;  $p = 0.001$ ), en el codón 526 (media de MIC 2048 µg/mL,  $p = 0.002$ ) y en el codón 531 (media de MIC 256 µg/mL,  $p = 0.002$ ), comparados con mutaciones en el codón 516 (media de MIC 8 µg/mL)<sup>25</sup>. Resultados similares se encontraron en la ciudad de Mon-

terrey, México, para resistencia a isoniacida y rifampicina<sup>26</sup>.

Las técnicas utilizadas en estos estudios fueron RFLP, PCR en tiempo real con sondas Taqman (R), PCR de polimorfismo conformacional de cadena sencilla (del inglés, PCR single strand conformational polymorphism PCR-SSCP), análisis de restricción mediante enzimas MspI y arreglo dirigido de oligonucleótidos (directed oligonucleotide array). En cuanto a estas técnicas, algunos autores sugieren que la secuenciación trabaja más eficientemente y con mayor precisión que el PCR-SSCP para la búsqueda rápida de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina<sup>27</sup>; sin embargo, otros consideran que el PCR-SSCP tiene la ventaja de detectar la resistencia a isoniacida y rifampicina dentro de las 48 a 72 horas después de la colección de muestras con una sensibilidad cercana al 100% en muestras con baciloscopia positiva.

Con base en estos estudios se puede concluir que la identificación de determinados polimorfismos de *Mycobacterium tuberculosis* asociados a resistencia de isoniacida y rifampicina (katG codón 315 y rpoB, respectivamente) permite determinar la presencia de multifarmacorresistencia en pacientes con TBp antes del inicio del tratamiento y, por tanto, lograr una selección de fármacos más eficaces en cada paciente. Con las actuales técnicas para determinar multifarmacorresistencia a partir del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*, los resultados de susceptibilidad a fármacos se obtendrían en tres o cuatro semanas, inclusive utilizando los sistemas de cultivo automatizados modernos; por lo contrario, utilizando las técnicas de biología molecular esto requeriría menos de 24 horas. Esta diferencia tiene un gran impacto en la práctica clínica, ya que podría individualizarse el tratamiento desde su inicio y evitar la generación de mayor resistencia a fármacos.

#### FACTORES GENÉTICOS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ASOCIADOS CON TRANSMISIÓN

Son varios estudios los que han reportado una frecuencia significativamente mayor de transmisión reciente evaluada mediante RFLP (del inglés, res-

triction fragment-length polymorphism) y mayor diseminación de cepas multifarmacorresistentes entre cepas pertenecientes al genotipo Beijing. Esto es particularmente notable en países en desarrollo y de alta endemicidad de TB. El RFLP es una técnica basada en la detección de polimorfismos en la secuencia de inserción IS6110 mediante enzimas de restricción *PvuII*.

Recientemente, en Rusia, de 142 cepas analizadas, el 64.1% se encontraban agrupadas en 18 conglomerados, indicando una elevada tasa de transmisión reciente de TBMFR. Esto fue confirmado por el origen de los pacientes, así como por los patrones similares de farmacorresistencia de las cepas en conglomerados. Mediante espilogotipificación se encontró que cerca del 70% (99/142) de las cepas multifarmacorresistentes pertenecían al genotipo Beijing, comparadas con sólo el 37.5% (15/40), en un grupo control de cepas susceptibles [RM = 3.84 (IC95%, 1.74-854),  $p < 0.01$ ]<sup>28</sup>. En epidemiología molecular, la espilogotipificación es una técnica utilizada como segunda tipificación en aquellas muestras que tienen menos de seis copias en la técnica de RFLP, tipificándose la región DR (direct repeat) del genoma micobacteriano.

En un estudio en 880 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* consecutivos de hospitales civiles y centros penitenciarios en la región de Samara en Rusia, el genotipo Beijing predominó en 66.6% (586/880) con una prevalencia significativamente más elevada en población penitenciaria que en pacientes de hospitales civiles [RR = 1.3 (IC95%, 1.2-1.5),  $p < 0.01$ ] y en aquéllos menores de 35 años [RR = 1.2 (IC95%, 1.0-1.3),  $p = 0.05$ ]. La farmacorresistencia se asoció dos veces más a pacientes con cepa genotipo Beijing comparado con cepas no Beijing: MDR [RR = 2.4 (IC95%, 1.9-3.0),  $p < 0.05$ ]; resistencia a INH [RR = 1.8 (IC95%, 1.5-2.1),  $p < 0.05$ ]; RMP [RR = 2.2 (IC95%, 1.7-2.7),  $p < 0.05$ ]; estreptomycin [RR = 1.9 (IC95%, 1.5-2.3),  $p < 0.05$ ], y etambutol [RR = 2.2 (IC95%, 1.6-3.2),  $p < 0.05$ ]. El análisis multivariado demostró que la prisión previa es un factor de riesgo para tener enfermedad por el genotipo Beijing [RM = 2.0 (IC95%, 1.4-3.3),  $p < 0.05$ ]<sup>29</sup>.

Recientemente, en un estudio realizado en Bombay, India, se encontró que el 35% de los

aislados de pacientes con TBMFR pertenecían al genotipo Beijing. Un análisis posterior mediante RFLP mostró que las cepas estaban estrechamente relacionadas. Los autores atribuyen esta elevada frecuencia a una diseminación clonal<sup>30</sup>. El análisis molecular de las cepas multifarmacorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Latvia demostró que el genotipo Beijing fue el más prevalente en los pacientes con TBMFR, en su mayor parte debido a transmisión reciente y que este genotipo pudo ser asociado con mutaciones dobles<sup>31</sup>.

Los estudios en los que se han analizado los enfermos con falla al tratamiento, confirman el predominio del genotipo Beijing entre ellos. En Vietnam, entre 2,901 casos nuevos de TB con baciloscopia positiva se identificaron 40 casos de falla de tratamiento y 39 recaídas. Todos los cultivos iniciales y de seguimiento de estos casos de TB tuvieron el mismo patrón de RFLP. El genotipo Beijing fue un factor de riesgo significativo para falla en el tratamiento y recaídas [RM = 2.8 (IC95%, 1.5-5.2),  $p < 0.05$ ]<sup>32</sup>.

En Colombia, en 64 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes con falla al tratamiento, de los cuales en 34 se realizaron pruebas de farmacosenibilidad, el 3% fueron resistentes a isoniacida y rifampicina. El RFLP de 34 pacientes con falla a tratamiento reveló 20 aislados únicos y seis conglomerados con dos o tres aislados por conglomerado (14 aislados). Entre los pacientes con falla al tratamiento, una comparación entre los aislados en conglomerados ( $n = 14$ ) con los aislados de genotipo único ( $n = 20$ ) mostró que los aislados en conglomerados tenían mayor probabilidad de ser MFR ( $p = 0.001$ ). Esta relación no se observó entre los casos nuevos. Once aislados de RFLP fueron similares a la cepa multirresistente W reportada previamente en brotes en Nueva York y otros lugares de Estados Unidos; solamente tres de estos aislados fueron MDR. Sin embargo, un análisis posterior de DNA mostró que los 11 pertenecían a la familia Beijing, la cual está relacionada a la cepa W<sup>33</sup>.

En países europeos se han reportado resultados similares que relacionan al genotipo Beijing con TBMFR. Recientemente, en Alemania se ha detectado el genotipo Beijing en 38.8% de 451 casos de TBMFR<sup>34</sup>. En La Gran Canaria, España,

de los aislados de 566 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* estudiadas entre 1993 a 1996 y 85 cepas aisladas entre 1991-1992 que contaban con RFLP, el 72% (407/566) pertenecieron a conglomerados; el conglomerado más grande tenía 13.2% (75/566) casos y fue causado por una cepa del genotipo Beijing que se introdujo a la isla en 1993. Este genotipo se encontró en 5.5% (10/182) pacientes en 1993, en 8.1% (12/148) en 1994, en 16.4% (18/110) en 1995 y en 27.1% (35/129) en 1996 ( $\chi^2$  de tendencia,  $p < 0.0001$ ). Esta tendencia ascendente en la frecuencia de TB debida al genotipo Beijing demuestra, al decir de los autores, la rápida diseminación de este genotipo. En la eliminación global de la enfermedad, el control de la transmisión de este genotipo es importante<sup>35</sup>.

Finalmente, en un estudio realizado en Dinamarca, diseñado para medir diferencias en la adquisición de farmacoresistencia entre las cepas Beijing y no Beijing, el promedio de frecuencia de mutaciones y el de la tasa de mutación por división de célula no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de cepas. Estos resultados sugieren que la asociación observada entre el genotipo Beijing y la TBMFR no se debe a una alteración en la capacidad de generar resistencia de la micobacteria<sup>36</sup>. Estos resultados documentan la mayor frecuencia de transmisión reciente en aislados con genotipo Beijing, así como una mayor frecuencia de este genotipo en los aislados de pacientes con TBMFR. Es muy importante, desde el punto de vista clínico y epidemiológico, determinar la frecuencia de genotipo Beijing en nuestro país. Nuevamente esta información permitiría individualizar esquemas terapéuticos.

#### FACTORES GENÉTICOS EN HUMANOS ASOCIADOS CON FORMAS CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD

Recientemente se han publicado estudios que muestran la asociación entre polimorfismos del huésped y las formas clínicas de la enfermedad tuberculosa. En un estudio de casos y controles pareado realizado en Perú se observó una asociación entre la presencia del genotipo TaqI Tt (vitamin D receptor gene) y la conversión de cultivo du-

rante el tratamiento antituberculoso [RR, ajustado por edad y sexo = 4.28 (IC95%, 1.88-9.75),  $p = 0.001$ ]<sup>37</sup>.

En un segundo estudio epidemiológico de casos y controles pareado por etnicidad realizado en 2005 en China, los SNP de NRAMP1 estuvieron asociados con dos formas clínicas graves de TB: TB bacilífera y TB cavitaria; sin embargo, estos polimorfismos no se encontraron asociados con infección latente por *Mycobacterium tuberculosis*. El SNP INT4 G>C fue identificado en 31.6% de los casos con baciloscopia positiva en comparación con 16.4% en los controles [RM = 2.29 (IC95%, 1.2-4.4),  $p = 0.01$ ] y el SNP D543N G>A se localizó en el 35.4% en casos de baciloscopia positiva en comparación con el 18.6% en los controles [RM = 2.27 (IC95%, 1.2-.4.2),  $p = 0.01$ ]. De manera similar, el SNP INT4 G>C fue identificado en 32.6% de los casos de TB cavitaria en comparación con 16.4% en los controles [RM = 2.17 (IC95%, 1.04-4.5),  $p = 0.04$ ] y por último, el SNP D53N G>A se identificó en 34.6% de los casos con TB cavitaria en comparación con 18.6% en los controles [RM = 2.33 (IC95%, 1.16-4.63),  $p = 0.01$ ]. De acuerdo con este estudio, la presencia de ciertos polimorfismos en pacientes con TB podría ser factor pronóstico de la gravedad y extensión clínica de la enfermedad<sup>38</sup>.

En un tercer estudio epidemiológico se determinó la presencia de polimorfismos de NRAMP1 en 95 pacientes con TB y en 90 controles. Los pacientes con SNP D543N tuvieron mayor probabilidad de desarrollar enfermedad cavitaria. El riesgo relativo para el alelo A fue de [5.16 (IC95%, 1.30-20.45),  $p < 0.05$ ]. Los autores concluyen que la variación genética en el gene humano NRAMP1 puede estar asociado a cavitación en pacientes con TB<sup>39</sup>.

Finalmente, un estudio realizado en Colombia, y diseñado para identificar polimorfismos de genes asociados con la producción de citocinas Th1, así como la relación de éstas con las formas clínicas de TB, encontró que el genotipo de IL-10-1082 A/A y el alelo gamma-IFN + 874 T estuvieron asociados con TB pleural, pero no a manifestaciones diseminadas de la enfermedad<sup>40</sup>. Se concluye que las citocinas juegan un papel clave en la respuesta antimicobacteriana y pueden ser

determinantes en el tipo de enfermedad tuberculosa. Estos estudios muestran que la determinación de polimorfismos en pacientes con TB podrían ser predictores de la gravedad y extensión de la enfermedad tuberculosa y, por tanto, de la respuesta al tratamiento.

### FACTORES GENÉTICOS EN HUMANOS ASOCIADOS CON TOXICIDAD AL TRATAMIENTO

Varios polimorfismos genéticos en humanos han sido asociados con eventos adversos a los fármacos antituberculosos, y en particular a hepatotoxicidad.

En un estudio retrospectivo realizado en Japón, de 77 pacientes con TBp, 18.2% desarrollaron reacción hepática adversa dentro del primer mes de tratamiento con isoniazida y rifampicina. Los autores encontraron una asociación significativa entre hepatotoxicidad y el gen NAT2\*. Al comparar a los pacientes con acetilación intermedia (polimorfismos NAT2\*4\*5, AT2\*4\*6 y AT2\*4\*7) vs los pacientes con acetilación rápida (polimorfismos NAT2\*4\*4), como grupo de referencia se observó un mayor riesgo de hepatotoxicidad en los primeros [RR = 4.0 (IC95%, 1.94-6.06),  $p < 0.05$ ], y cuando la comparación se hizo entre los acetiladores lentos (varios SNP en NAT2\* incluyendo NAT2\*5/\*5, NAT2\*5/\*6, NAT2\*5/\*7, NAT2\*6/\*6, NAT2\*6/\*7 y NAT2\*7/\*7) vs los acetiladores rápidos (polimorfismos NAT2\*4\*4), el riesgo de hepatotoxicidad fue significativamente mayor [RR = 28.0 (IC95%, 26.0-30.0),  $p < 0.0001$ ]. Los autores concluyeron, a partir de este estudio, que los polimorfismos presentes en NAT2 en los pacientes con acetilación lenta incrementan el riesgo de hepatotoxicidad durante el tratamiento con isoniazida y rifampicina. Estos hallazgos sugieren la posibilidad de que la genotipificación de NAT2, previa al tratamiento, pueda ser usada para evaluar a los pacientes con alto riesgo de desarrollar toxicidad hepática durante el tratamiento con isoniazida y rifampicina<sup>41</sup>.

En otro estudio realizado también en Japón, el alelo NAT2\*4 (wild-type) se expresó en 73.5% de 102 de pacientes con TB, en contraste del 15.7% con NAT2\*6, 9.8% con NAT2\*7 y 1.0%

con NAT2\*5. En este estudio la proporción de acetiladores lentos fue de 5.9% (6/102), acetiladores intermedios 41.2% (42/102) y acetiladores rápidos 51.0% (52/102). La proporción de eventos adversos en cada grupo fue de 83.3, 4.8 y 0%, respectivamente<sup>42</sup>.

En un tercer estudio realizado en Taiwán, en 224 casos incidentes de TB que fueron tratados, el 14.7% de los pacientes fueron diagnosticados con toxicidad hepática debida al tratamiento con isoniazida y rifampicina. Los pacientes acetiladores lentos tuvieron mayor riesgo de hepatotoxicidad comparados con los pacientes acetiladores rápidos [26.4% vs 11.1%,  $p = 0.013$ ]. El análisis de regresión logística mostró que la condición de acetilador lento [RM = 3.66 (IC95%, 1.58-8.49),  $p = 0.003$ ] y la edad [RM = 1.09 (IC95%, 1.04-1.14),  $p < 0.001$ ] fueron los únicos factores de riesgo independientes para hepatitis inducida por tratamiento antituberculoso<sup>43</sup>. Todos los estudios descritos anteriormente fueron retrospectivos y realizados al final del tratamiento del paciente. Sería útil emplear la determinación de polimorfismos previamente al tratamiento para evitar eventos adversos asociados con el tratamiento antituberculoso con los dos fármacos más importantes y útiles en el tratamiento de la enfermedad.

Un segundo gen que ha sido estudiado en relación con hepatotoxicidad al tratamiento antituberculoso es el gen GSTM1. En un estudio que incluyó 33 pacientes con TB y toxicidad hepática, y 33 controles con TB sin hepatotoxicidad, la frecuencia de la mutación "nula" en el gen GSTM1 fue significativamente más elevada entre los casos que entre los controles (52% vs 24%,  $p < 0.05$ ) y se determinó que los pacientes con esta mutación tuvieron mayor probabilidad de desarrollar un evento adverso [RR = 2.13 (IC95%, 1.25-3.10),  $p < 0.05$ ]. La frecuencia de las mutaciones en los genes GSTT1 y NAT2 no difirió significativamente entre los grupos de casos y controles<sup>44</sup>. La elevada frecuencia de polimorfismos en los genes NAT2 y el GSTM1 entre pacientes con toxicidad permitiría detectar a los pacientes en riesgo de padecerla antes de iniciar el tratamiento.

El único estudio prospectivo encontrado fue realizado en Taiwán, donde se estudiaron 318

casos incidentes de TB que recibieron tratamiento antituberculosis y se compararon con 21 voluntarios sanos. Se diagnosticaron 15.4% pacientes con hepatotoxicidad inducida por fármaco antituberculoso. Los pacientes con el genotipo silvestre homocigoto CYPE1 c1/c1 tuvieron un riesgo mayor de hepatotoxicidad comparados con aquellos con alelo c2 CYPE1 c1/c2 o c2/c2 [20 vs 9%; RM = 2.52 (IC95%, 1.5-4.7),  $p = 0.009$ ]. En el análisis multivariado, después del ajuste para la condición de acetilador y la edad del paciente, el genotipo de CYPE1 c1/c1 permaneció como un factor de riesgo independiente para hepatotoxicidad [RM = 2.38 (IC95%, 1.4-4.6),  $p = 0.01$ ]. Los autores concluyen que el polimorfismo genético de CYPE1 c1/c1 puede estar asociado con la susceptibilidad de hepatitis inducida por fármacos<sup>45</sup>.

Finalmente, en India, en 346 pacientes con TBp y 275 controles, se encontró un incremento en la frecuencia del alelo HLA-DRB1\*03 en el grupo con hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosis (grupo DIH), comparado con controles sanos [29% vs 14%, respectivamente,  $p < 0.01$ ]. En el análisis bivariado se encontró una asociación positiva de DIH en los pacientes del grupo de edad avanzada y con alelos específicos de HLA como DRB1\*01, DRB1\*03 y DRB1\*07. Sin embargo, en el análisis de regresión logística, cuando las variables tratamiento previo y alelos de HLA se consideraron simultáneamente en el modelo, la edad avanzada [RM = 1.2 (IC95%, 1.01-1.4),  $p < 0.05$ ]; enfermedad avanzada [RM = 2.0, (IC95%, 1.0-4.0),  $p = 0.05$ ]; hipoalbuminemia [RM = 2.3 (IC95%, 1.1-4.8),  $p < 0.05$ ]; presencia del genotipo HLA-DQB1\*0201 [RM = 4.0 (IC95%, 1.1-14.3),  $p < 0.05$ ] y la ausencia del genotipo HLA-DQA1\*0102 [RM = 1.9 (IC95%, 1.0-3.9),  $p = 0.05$ ] se mostraron como factores de riesgo significativos para el desarrollo de DIH<sup>46</sup>. Estos estudios muestran polimorfismos genéticos que pueden ser útiles como pruebas de tamizaje en los pacientes antes del inicio del tratamiento y así tratar de identificar a los que pudieran estar en riesgo de desarrollar toxicidad hepática. En hospitales de tercer nivel en México podrían llevarse a cabo estas técnicas, sobre todo en pacientes con TBMFR.

## CONCLUSIONES

Presentamos una reseña de los polimorfismos más importantes hasta ahora descritos en *Mycobacterium tuberculosis* que pudieran estar asociados a la resistencia y virulencia de la micobacteria y los polimorfismos presentes en el paciente que, quizás, estén asociados con la gravedad y extensión de la enfermedad y a toxicidad asociada al tratamiento antituberculosis. Los resultados de los estudios analizados muestran que existen varios polimorfismos en *Mycobacterium tuberculosis* que resultan útiles para detectar resistencia a rifampicina e isoniazida antes de iniciar el tratamiento. Si bien, la sensibilidad y especificidad de las pruebas para identificar estos polimorfismos para la detección de resistencia a uno u otro fármaco son muy altas, dado el elevado costo de estas pruebas durante el tamizaje, podría primeramente determinarse si existe resistencia a isoniazida, y a los que resulten resistentes podría realizárseles la prueba de tamizaje para resistencia a rifampicina; es decir, haciendo las pruebas diagnósticas en serie y no en paralelo. Los resultados serían útiles para orientar el tratamiento de manera más individualizada con posibilidades de aumentar la eficacia.

Determinar cuál es la proporción de pacientes con TBMFR y TB farmacosenible que tiene el genotipo Beijing, permitirá establecer si la presencia de esta cepa está asociada a farmacoresistencia. En México no existe, hasta ahora, una estimación de la frecuencia de esta cepa. En los estudios de base poblacional que evalúen transmisión de cepas multifarmacoresistentes se podría determinar la proporción de casos debida a transmisión reciente o no.

La búsqueda de polimorfismos genéticos en humanos asociados con toxicidad también podría realizarse como pruebas de tamizaje antes del inicio del tratamiento, seleccionando aquellos pacientes con mayor probabilidad de sufrir hepatotoxicidad. Esta evaluación tendría un mayor impacto en pacientes con TBMFR, en los cuales es posible utilizar drogas de segunda línea.

Evaluar, al momento del diagnóstico de la TB, los polimorfismos genéticos asociados con enfermedad bacilífera, cavitaria y extrapulmonar permitirá establecer indicadores pronóstico de respuesta al

tratamiento en pacientes. Asimismo, estas evaluaciones permitirán una aproximación más integral en el tratamiento de estos pacientes.

## REFERENCIAS

1. *Guía para la atención de pacientes con tuberculosis multifarmacorresistente*. Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. México, DF., diciembre, 2004.
2. Pérez-Padilla JR, Salazar-Lezama MA. *Discrepancias entre los datos ofrecidos por la Secretaría de Salud y la Organización Mundial de la Salud sobre tuberculosis en México, 1981-1998*. Salud Pública Méx 2003; 45:78-83.
3. Laszlo A, de Kantor IN. *A random sample survey of initial drug resistance among tuberculosis cases in Latin America*. Bull World Health Organ 1994;72: 603-610.
4. García-García ML, Valdespino-Gómez JL, Palacios-Martínez M, Mayar-Maya, García-Sancho C, Sepúlveda-Amor J. *Tuberculosis y SIDA en México*. Salud Pública Méx 1995;37:539-548.
5. Sifuentes OJ, Ponce de León A, Camacho MFE, et al. *Resistencia de Mycobacterium tuberculosis en pacientes mexicanos: características clínicas y factores de riesgo*. Rev Invest Clin 1995;47:273-281.
6. Granich RM, Balandrano S, Santaella AJ, et al. *Survey of drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in 3 Mexican States, 1997*. Arch Intern Med 2000;160:639-644.
7. Peter CR, Schultz E, Moser K, et al. *Drug-resistant pulmonary tuberculosis in the Baja California-San Diego County border population*. West J Med 1998;169: 208-213.
8. Olvera CR. *Farmacorresistencia secundaria en tuberculosis. Tendencia en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 2001;14:151-159.
9. Mitchison DA, Nunn AJ. *Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis*. Am Rev Respir Dis 1986;133:423-430.
10. Fischl MA, Uttamchandani RB, Daikos GL, et al. *An outbreak of tuberculosis caused by multiple-drug-resistant tubercle bacilli among patients with HIV infection*. Ann Intern Med 1992;117:177-183.
11. Frieden TR, Sherman LF, Maw KL, et al. *A multi-institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis: epidemiology and clinical outcomes*. JAMA 1996;276:1229-1235.
12. Mitnick C, Bayona J, Palacios E, et al. *Community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis in Lima, Peru*. N Engl J Med 2003;348:119-128.
13. Ramaswamy SV, Reich R, Dou SJ, et al. *Single nucleotide polymorphisms in genes associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:1241-1250.
14. Cardoso RF, Cooksey RC, Morlock GP, et al. *Screening and characterization of mutations in isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates obtained in Brazil*. Antimicrob Agents Chemother 2004;48: 3373-3381.
15. Kiepiela P, Bishop KS, Smith AN, Roux L, York DF. *Genomic mutations in the katG, inhA and aphC genes are useful for the prediction of isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from Kwazulu, Natal, South Africa*. Tuber Lung Dis 2000; 80:47-56.
16. Baker LV, Brown TJ, Maxwell O, et al. *Molecular analysis of isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from England and Wales reveals the phylogenetic significance of the ahpC-46A polymorphism*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:1455-1464.
17. Abal AT, Ahmad S, Mokaddas E. *Variations in the occurrence of the S315T mutation within the katG gene in isoniazid-resistant clinical Mycobacterium tuberculosis isolates from Kuwait*. Microb Drug Resist 2002;8:99-105.
18. Herrera-Leon L, Molina T, Saiz P, Saez-Nieto JA, Jimenez MS. *New multiplex PCR for rapid detection of isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:144-147.
19. Ahmad S, Fares E, Araj GF, Chugh TD, Mustafa AS. *Prevalence of S315T mutation within the katG gene in isoniazid-resistant clinical Mycobacterium tuberculosis isolates from Dubai and Beirut*. Int J Tuberc Lung Dis 2002;6:920-926.
20. Mokrousov I, Narvskaya O, Otten T, Limeschenko E, Steklova L, Vyshnevskiy B. *High prevalence of KatG Ser315Thr substitution among isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from northwestern Russia, 1996 to 2001*. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1417-1424.
21. Kim SY, Park YJ, Kim WI, et al. *Molecular analysis of isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates recovered from South Korea*. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;47:497-402.
22. Hofling CC, Pavan EM, Giampaglia CM, et al. *Prevalence of katG Ser315 substitution and rpoB mutations in isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from Brazil*. Int J Tuberc Lung Dis 2005;9:87-93.
23. Telenti A, Honore N, Bernasconi C, et al. *Genotypic assessment of isoniazid and rifampin resistance in Mycobacterium tuberculosis: a blind study at reference laboratory level*. J Clin Microbiol 1997;35:719-723.
24. Espasa M, Gonzalez-Martin J, Alcaide F, et al. *Direct detection in clinical samples of multiple gene mutations causing resistance of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid and rifampicin using fluorogenic probes*. J Antimicrob Chemother 2005;55:860-865.
25. Bobadilla-del-Valle M, Ponce-de-Leon A, Arenas-Huertero C, et al. *rpoB Gene mutations in rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis identified by polymerase chain reaction single-stranded conformational polymorphism*. Emerg Infect Dis 2001;7:1010-1013.
26. Ramaswamy SV, Dou SJ, Rendon A, Yang Z, Cave MD, Graviss EA. *Genotypic analysis of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from*



- Monterrey, Mexico. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 2):107-113.
27. Lee H, Cho SN, Bang HE, et al. *Molecular analysis of rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis isolated from Korea by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism sequence analysis.* *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:585-589.
  28. Kubica T, Agzamova R, Wright A, et al. *The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9:646-653.
  29. Drobniewski F, Balabanova YM, Nikolayevsky V, et al. *Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia.* *JAMA* 2005;293:2726-2731.
  30. Almeida D, Rodrigues C, Ashavaid TF, Lalvani A, Udvardia ZF, Mehta A. *High incidence of the Beijing genotype among multidrug-resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis in a tertiary care centre in Bombay, India.* *Clin Infect Dis* 2005;40:881-886.
  31. Tracevska T, Jansone I, Baumanis V, Marga O, Lillebaek T. *Prevalence of Beijing genotype in Latvian multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:1097-1103.
  32. Lan NT, Lien HT, Tung le B, Borgdorff MW, Kremer K, van Soolingen D. *Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype and risk for treatment failure and relapse, Vietnam.* *Emerg Infect Dis* 2003;9:1633-1635.
  33. Laserson KF, Osorio L, Sheppard JD, et al. *Clinical and programmatic mismanagement rather than community outbreak as the cause of chronic, drug-resistant tuberculosis in Buenaventura, Colombia, 1998.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:673-683.
  34. Kubica T, Rusch-Gerdes S, Niemann S. *The Beijing genotype is emerging among multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains from Germany.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8:1107-1113.
  35. Caminero JA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, et al. *Epidemiological evidence of the spread of a Mycobacterium tuberculosis strain of the Beijing genotype on Gran Canaria Island.* *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1165-1170.
  36. Werngren J, Hoffner SE. *Drug-susceptible Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype does not develop mutation-conferred resistance to rifampin at an elevated rate.* *J Clin Microbiol* 2003;41:1520-1524.
  37. Roth DE, Soto G, Arenas F, et al. *Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and response to treatment of pulmonary tuberculosis.* *J Infect Dis* 2004;190:920-927.
  38. Zhang W, Shao L, Weng X, et al. *Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis.* *Clin Infect Dis* 2005;40:1232-1236.
  39. Abe T, Iinuma Y, Ando M, et al. *NRAMP1 polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis.* *J Infect* 2003;46:215-220.
  40. Henao MI, Montes C, Paris SC, Garcia LF. *Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis.* *Tuberculosis (Edinb)*. 2006;86:11-19. Epub 2005.
  41. Ohno M, Yamaguchi I, Yamamoto I, et al. *Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:256-261.
  42. Hiratsuka M, Kishikawa Y, Takekuma Y, et al. *Genotyping of the N-acetyltransferase2 polymorphism in the prediction of adverse drug reactions to isoniazid in Japanese patients.* *Drug Metab Pharmacokinet* 2002;17:357-362.
  43. Huang YS, Chern HD, Su WJ, et al. *Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis.* *Hepatology* 2002;35:883-889.
  44. Roy B, Chowdhury A, Kundu S, et al. *Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation.* *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:1033-1037.
  45. Huang YS, Chern HD, Su WJ, et al. *Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis.* *Hepatology* 2003; 37:924-930.
  46. Sharma SK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Mehra NK. *Evaluation of clinical and immunogenetic risk factors for the development of hepatotoxicity during antituberculosis treatment.* *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:916-919.

**Correspondencia:**

Dra. Ma. Cecilia García  
 Sancho Figueroa.  
 Instituto Nacional de  
 Enfermedades Respiratorias  
 "Dr. Ismael Cosío Villegas".  
 Calzada de Tlalpan 4502, colonia  
 Sección XVI. México, D.F., 14080  
 Teléfono: 5666-4539, ext. 238  
 Fax: 5665-4623  
 Correo electrónico:  
 mcegarcia@iner.gob.mx

