

Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) เป็นเอนไซม์สำคัญชนิดหนึ่งซึ่งรับผิดชอบในการยับยั้งฤทธิ์ของยาในกลุ่ม thiopurine เช่น 6-mercaptopurine, 6-thioguanine และ azathioprine (AZA) ความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ *TPMT* ในแต่ละบุคคล ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่มีความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ *TPMT* ภายในร่างกายระดับปานกลางหรือต่ำจะเป็นผลให้มีการสะสมของเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาภายในเนื้อเยื่อไขกระดูกในระดับสูงกว่าปกติและมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดพิษกดไขกระดูกจากยาในกลุ่ม thiopurine แม้จะได้รับยาในขนาดปกติ ทั้งนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* พบในกลุ่มประชากรชาวไทยสูงถึง 9.5-10.67%

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* กับการเกิดพิษกดไขกระดูกจากยา AZA ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไต

อาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัยได้แก่ กลุ่มผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัดปลูกถ่ายไต ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น และโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวนทั้งสิ้น 139 ราย ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้ได้รับยา AZA เป็นยาควบคุมมาตรฐานของร่างกายร่วมกับยากดภูมิคุ้มกันชนิดอื่น ๆ เป็นยาสูตร 3 ชนิด ทั้งนี้ข้อมูลประวัติการรักษาของผู้ป่วยได้ถูกประเมินย้อนหลังภายในช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังจากที่ผู้ป่วยเริ่มได้รับยา A Z A และความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* ในรูปแบบ 719A>G (*TPMT*\*3C) และ 539A>T (*TPMT*\*6) ได้รับการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี real-time polymerase chain reaction (PCR) และ semi-nested PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) ตามลำดับ นอกจากนี้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ *TPMT* ภายในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยได้รับการตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC)

ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวนทั้งสิ้น 139 ราย พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 9 ราย (6.47%; 95% CI 3.00-11.94) เป็นผู้ที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* แบบ heterozygous *TPMT*\*1/\*3C อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่พบผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous *TPMT*\*3C/\*3C หรือความผิดแผกทางพันธุกรรมแบบ *TPMT*\*6 จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมแบบ heterozygous *TPMT*\*1/\*3C มีความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ *TPMT* ภายในเม็ดเลือดแดงในระดับต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่ามัธยฐานเท่ากับ 21.37 และ 37.03 nmol 6-MTG. g<sup>-1</sup>Hb. h<sup>-1</sup>,  $p < 0.001$ ) นอกจากนี้อุบัติการณ์ของการเกิดพิษกดไขกระดูกจากยา AZA ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมแบบ heterozygous *TPMT*\*1/\*3C มีค่าสูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (66.67% และ 12.31%,  $p < 0.01$ ) และพบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous *TPMT*\*1/\*3C มีความเสี่ยงสัมพันธ์ (odds ratio) กับการเกิดพิษกดไขกระดูกจากยา AZA สูงกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous wild type เท่ากับ 14.25 เท่า (95% CI 2.64-93.60,  $p < 0.001$ ) เมื่อได้รับยาในขนาดปกติ

ในการศึกษานี้พบว่าความผิดแผกทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการเกิดพิษกดไขกระดูกจากการใช้ยา AZA ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไต ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* และการตรวจวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ *TPMT* ภายในเม็ดเลือดแดงก่อนที่จะเริ่มการรักษาผู้ป่วยปลูกถ่ายไตด้วยยา A Z A จะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ผู้รักษาในการพิจารณาปรับเปลี่ยนขนาดใช้ของยา AZA หรือเลือกใช้ชนิดของยากดภูมิคุ้มกันให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละรายตามลักษณะทางพันธุกรรมของผู้ป่วยเพื่อป้องกันการเกิดพิษร้ายแรงของยา AZA

Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) is a key enzyme responsible for the detoxification of thiopurine drugs such as 6-mercaptopurine, 6-thioguanine and azathioprine (AZA). *TPMT* genetic polymorphism is an important factor causing significantly inter-individual variation of TPMT activity. Patients with intermediate or low TPMT activity have excessive active metabolite accumulation in the bone marrow tissue and are at high risk of developing drug-induced myelosuppression even though conventional dose of thiopurine is used. The previous study showed that *TPMT* genetic polymorphism was found in the Thai population with the high prevalence of 9.5–10.67%.

Therefore, the objective of this study was to investigate the correlation between *TPMT* genetic polymorphism and AZA-induced myelosuppression in kidney transplant (KT) recipients.

For the purpose, 139 KT recipients, who received AZA as one of the standard triple immunosuppressive therapy, were voluntarily recruited from Srinagarind Hospital, Khon Kaen University, Khon Kaen and Chulalongkorn Hospital, Chulalongkorn University, Bangkok. Medical record and clinical information were retrospectively evaluated for 6-month period after initiation of AZA therapy. *TPMT* mutation analysis for 719A>G (*TPMT\*3C*) and 539A>T (*TPMT\*6*) were determined using real-time polymerase chain reaction (PCR) and semi-nested PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) assays, respectively. Furthermore, erythrocyte TPMT activity was assayed by high performance liquid chromatography (HPLC) technique.

Nine of 139 KT recipients were identified as heterozygous *TPMT\*1/\*3C* (6.47%; 95% CI 3.00–11.94). None of the patients was identified as homozygous *TPMT\*3C/\*3C* or *TPMT\*6* mutation. The heterozygous *TPMT\*1/\*3C* patients showed significantly lower erythrocyte TPMT activity when compared with those of the wild type group (median of 21.37 vs 37.03 nmol 6-MTG. g<sup>-1</sup>Hb. h<sup>-1</sup>,  $p < 0.001$ ). Moreover, the incidence of AZA-induced myelosuppression was significantly higher in the heterozygous *TPMT\*1/\*3C* patients than in the wild type genotype (66.67% vs 12.31%,  $p < 0.01$ ). In addition, the heterozygous *TPMT\*1/\*3C* patients were at higher risk of AZA-induced myelosuppression with odd ratio of 14.25 folds (95% CI 2.64–93.60,  $p < 0.001$ ) than the wild type patients when receiving the regular conventional dose of AZA.

This study concluded that *TPMT* genetic polymorphism was significantly correlated with the risk of AZA-induced myelosuppression in KT-recipients. Identification of individual *TPMT* genotype and measurement of erythrocyte TPMT activity prior to the AZA prescription in KT-recipients would aid in optimizing an initial AZA dose for individuals or selection of immunosuppressive type to minimize risk of AZA-induced life-threatening toxicities.