



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN**

SECRETARIA DE SALUD

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D.



**Análisis de las Variantes Génicas de
CYP2C9 en la Farmacocinética del
Diclofenaco en Sujetos Mexicanos**

PRESENTA

Dra. Mónica Dennise Martín de Saro

**ASESORES DE TESIS: Dr. Sergio Cuevas
Covarrubias**

CO-ASESOR: Dr. Octavio Amancio Chassin

Antecedentes

Farmacogenómica

área de la farmacología que estudia la contribución de factores genéticos en las diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos.

En la farmacocinética, y en particular en la biotransformación de medicamentos, actualmente se están obteniendo los primeros resultados de utilidad clínica.

Antecedentes

Variabilidad interindividual es una importante causa de reacciones adversas.

Ligada al polimorfismo de genes que codifican las enzimas responsables de la biotransformación de fármacos.

Ausencia, reducción o incremento de la actividad enzimática.

Antecedentes

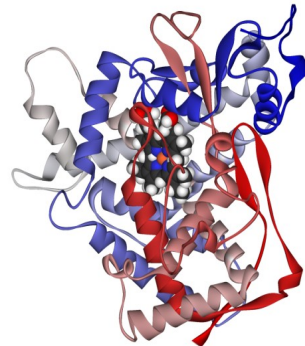
La superfamilia del citocromo P450s (CYP) son enzimas que se encargan del metabolismo de fármacos y químicos, así como de sustancias endógenas.

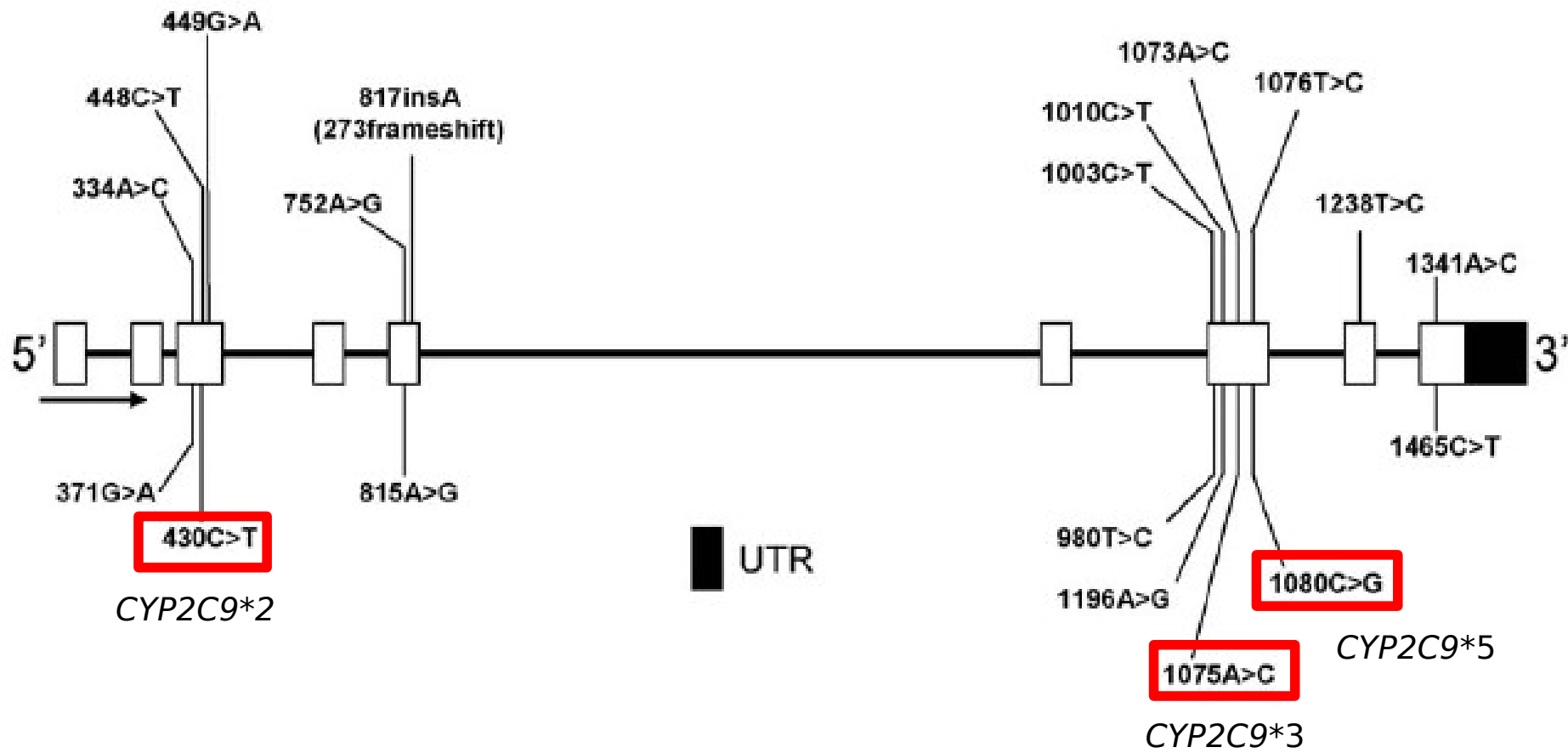
57 genes CYP funcionales y 58 pseudogenes divididos en 3 familias y 14 subfamilias.

Antecedentes

El citocromo P450 2C9 (CYP2C9) es responsable de la biotransformación de muchos fármacos como hipoglucemiantes orales, AINEs, anticoagulantes orales, diuréticos, etc.

Se han identificado 33 alelos del gen *CYP2C9*.





Antecedentes

82% *CYP2C9*1*
11% *CYP2C9*2*
7% *CYP2C9*3*

*CYP2C9*1* codifica para la enzima silvestre con actividad del 100%.

*CYP2C9*2* cambio de una arginina por una cisteína en la posición 144 (Arg144Cys, 430 C>T) en el exón 3 con actividad disminuida.

*CYP2C9*3* cambio de una isoleucina por leucina (Ile359Leu, 1075 A>C) con actividad de 5 a 10 veces más disminuida dependiendo del substrato estudiado.

Ethnic group	No. of subject (n)	Allele frequency (%)			Genotype frequency (%)				
		*1	*2	*3	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
<i>Caucasian</i>									
American-Caucasian	100	86.0	8.0	6.0	16.0	12.0	0	0	0
American-Caucasian	461	90.3	9.7	0					
American-Caucasian	140	82.5	13.2	4.3	22.1	8.6	2.1	0	0
American-Caucasian	200	82.5	9.8	7.8	15.1	9.7	2.2	1.6	2.7
Belgian ^a	121	82.2	10.0	7.4	18.2	11.6	0	1.6	0.8
Brazilian	103	83.0	9.7	7.3	16.5	11.6	1.0	1.0	1.0
Brazilian ^b	331	84.9	8.6	6.5	14.5	10.9	0.9	0.9	0.6
Spanish	157	69.4	14.3	16.2	15.9	23.5	1.9	8.9	0
Spanish	102	74.5	15.6	9.8	19.6	13.7	3.9	3.9	1.0
Spanish	70	70.0	10.7	19.3	17.1	25.7	1.4	1.4	5.7
Spanish	89	77.9	14.1	8.0	23.6	11.2	2.3	1.1	1.1
Spanish	138	78.1	14.6	7.3	19.6	11.6	2.9	2.9	0.7
Spanish	64	72.7	14.8	12.5	21.9	17.2	3.1	1.5	3.1
Spanish	355	71.0	19.0	10.0	28.2	15.5	3.1	2.8	1.1
Spanish	200	81.8	12.0	6.2	22.0	12.5	1.0	0	0
Spanish	142	78.5	13.7	7.7	19.0	9.6	2.8	2.8	1.4
Bolivian	778	92.2	4.8	3.0	9.3	5.7	0	0.4	0
Canadian native Indian	114	91.0	3.0	6.0	6.1	11.4	0	0	0
Canadian Inuit	151	100	0	0	0	0	0	0	0
Iranian	160	79.3	11.0	9.7	17.5	13.7	2.5	0	1.9
Iranian	200	87.2	12.8	0	10.5	0	7.5	0	0
Mexican-American	98	86.0	8.0	6.0	15.0	10.0	0	1.0	0

Antecedentes



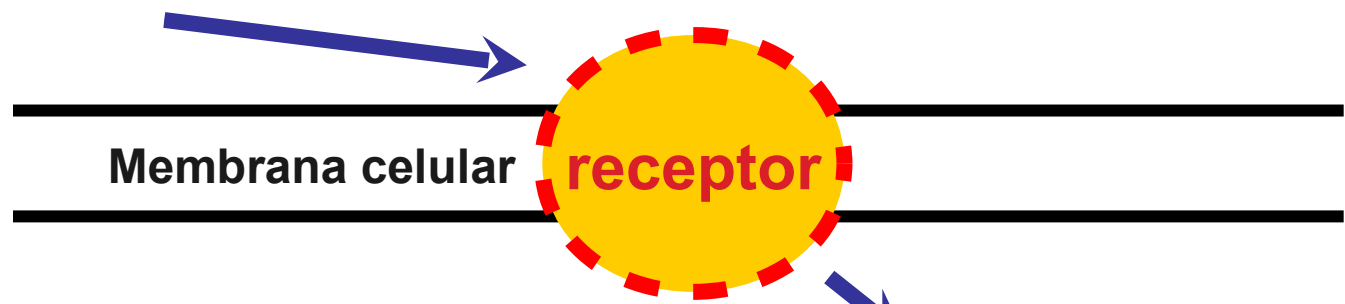
Antiinflamatorio no esteroideo.

Artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, daño musculoesquelético, dolor postquirúrgico y dismenorrea.

Reacciones adversas en el 20% de los pacientes:

Síntomas gastrointestinales, disminución en la función renal y elevación de las enzimas hepáticas.

Daño celular



Ac. araquidónico

A light blue rectangular box representing arachidonic acid. A red arrow points from Fosfolipasa A2 to this box.

PGH
2

A light green rectangular box representing PGH₂. A blue arrow points from PGG2 to this box.

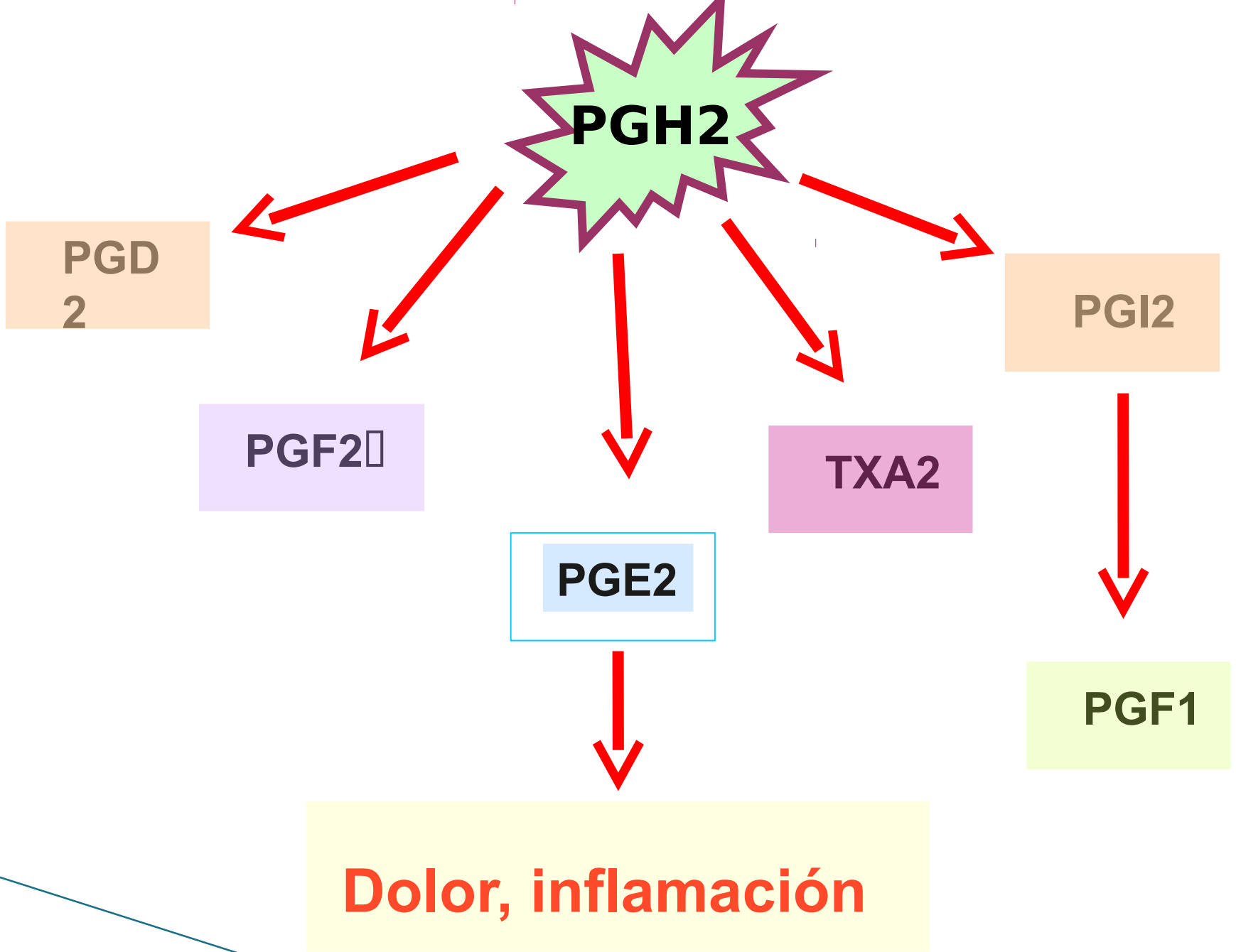
PGG2

A light purple rectangular box representing PGG₂. A blue arrow points from Ac. araquidónico to this box.

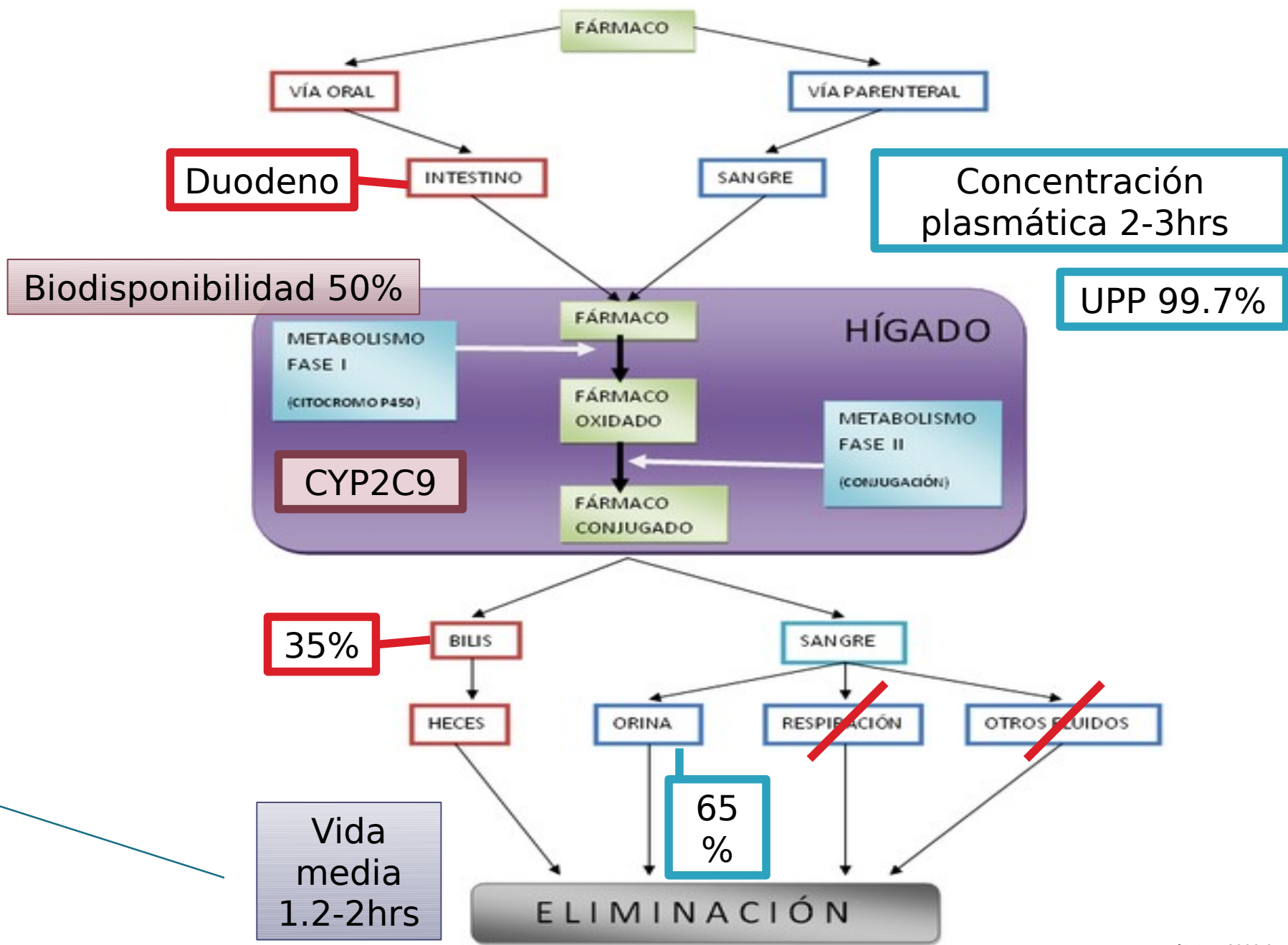


Diclofenaco

A purple rectangular box representing the drug Diclofenac. A blue arrow points from this box to the COX-2 inhibition symbol.



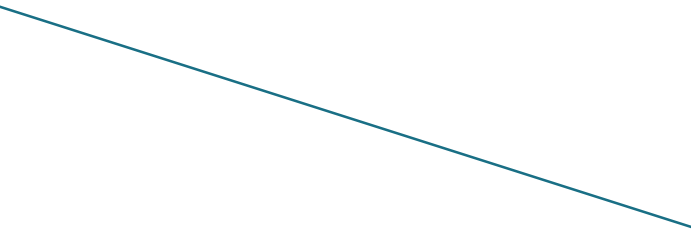
METABOLISMO HEPÁTICO DE LOS FÁRMACOS



Planteamiento del Problema

El diagnóstico de las variantes génicas nos puede ayudar a mejorar la eficacia y seguridad de los medicamentos.

La importancia clínica de las variantes génicas depende de la frecuencia de los alelos, de los efectos de los parámetros clínicos, del rango terapéutico y seguridad de cada fármaco.



Planteamiento del Problema

Estudios *in-vitro* como *in-vivo*, han demostrado que los polimorfismos de *CYP2C9* modifican la actividad enzimática del mismo y alteran la biotransformación de distintos medicamentos.

Proponemos caracterizar los genotipos del gen *CYP2C9* y los efectos en la farmacocinética del diclofenaco.

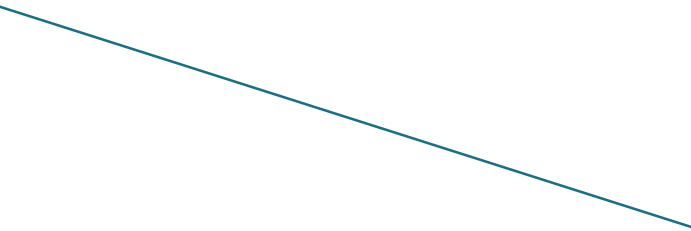


Planteamiento del Problema

Cómo repercuten los polimorfismos del gen *CYP2C9* en la farmacocinética del diclofenaco.

Justificación

En la actualidad, se desconoce la frecuencia de los alelos de *CYP2C9* en la población mexicana, así como los efectos que tienen sobre la farmacocinética de los medicamentos y las diferencias que existen entre los haplotipos.



HIPÓTESIS

La presencia de polimorfismos en el gen *CYP2C9* modifica la farmacocinética del diclofenaco.

OBJETIVOS

General

Analizar si las variantes del gen *CYP2C9* influyen en la farmacocinética del diclofenaco.

Específico

Caracterizar los polimorfismos del gen *CYP2C9* en una muestra de sujetos mexicanos.

Determinar la farmacocinética en relación con los polimorfismos del gen *CYP2C9* en una muestra de sujetos mexicanos.

Material y Métodos

TIPO DE ESTUDIO

- Prospectivo, longitudinal, comparativo, observacional

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

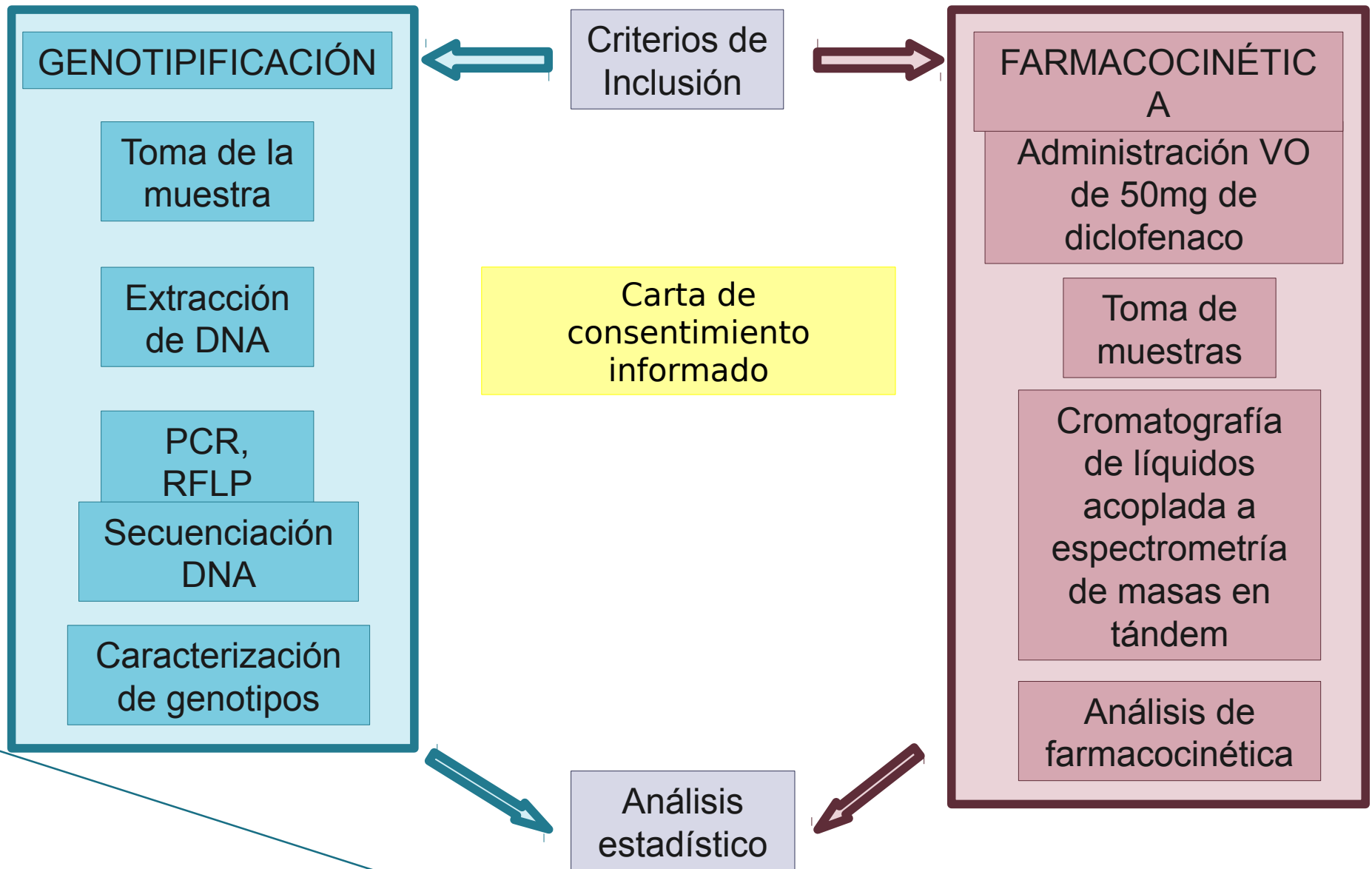
- Mexicanos.
- 18 a 45 años, género indistinto.
- No fumadores o que hayan dejado de fumar 72 h previas al estudio.
- IMC 19.9 a 26.9 Kg/m².
- HC normal.
- SV normales.
- ECG y telerradiografía de tórax normales.
- BH, PFH, QS, EGO, VIH, HVB, HVC.
- Prueba de embarazo en orina negativa.
- Prueba antidoping en orina el día de internamiento el 50% en cada fase de manera aleatoria.

Material y Métodos

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Hipersensibilidad conocida al medicamento.
- Antecedentes de Hepatopatía.
- Antecedente de alcoholismo y drogadicción.
- Presencia de enfermedad renal, hepática, cardíaca, pulmonar, gastrointestinal, endocrina, neuromuscular, neurológica, hematológica.
- Alguna condición que muestre espasmo bronquial.
- Cualquier enfermedad clínicamente significativa previa.
- Uso de medicación prescrita por médico o de libre venta dentro de cualquiera de los 7 días anteriores al inicio del estudio, y/o dentro la ejecución del estudio.
- Mujeres embarazadas y en lactancia.

Metodología



Metodología

DÍA 1:

- Internamiento entre las 19:00 y 20:00 el día previo al estudio.
- De las 20:00-21:00 se realizará la valoración médica de los voluntarios y pruebas antidoping y embarazo.
- Cena a las 21:00.
- A las 21:30 inicia el descanso nocturno.

DÍA 2:

- De las 7:00-7:45 instalación del catéter y toma de la muestra 0.
- A las 8:00 se administrará una gragea de 50mg de diclofenaco sódico con 250ml de agua.
- De 8.00 a 10.00 h, toma de muestras en los tiempos 0.33, 0.66, 1.0, 1.33, 1.66, 2.00 h.
- 10:00 desayuno.
- De 10:00-12:00 toma de muestras en los tiempos 2.5, 3.0, 4.0h.
- 13:00 toma de TA y FC.
- 14:00 toma de la muestra del tiempo 6.0h.
- 14:00 comida.
- 16:00 toma de TA y FC.
- 17:00 toma de muestra del tiempo 9.0h.
- Alta del servicio.

Reacciones adversas

GASTROINTESTINALES

Diarrea
Estreñimiento
Cefalea
Mareos
Sangrado
Ulceración
Perforación

OTROS

Hipersensibilidad.
Hepáticos: ictericia,
hepatitis fulminante
fatal, necrosis hepática,
insuficiencia hepática

Metodología

Área bajo la curva del tiempo cero al tiempo t , calculada por la regla trapezoidal, siendo t el último punto de muestreo (ABC 0- t).

Área bajo la curva del tiempo cero extrapolada al infinito (ABC 0- ∞).

Concentración plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$).

Tiempo máximo ($T_{\text{máx}}$).

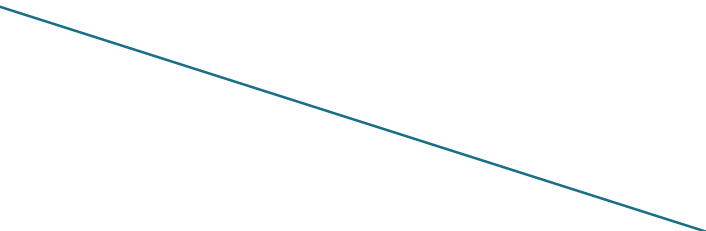


ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tamaño de la Muestra:

26 voluntarios, siendo 24 los requeridos para alcanzar potencia estadística, de acuerdo a la NOM 177.

Análisis de Varianza para los parámetros farmacocinéticos.



ASPECTOS ÉTICOS

Todos los procedimientos y acuerdos realizados durante el estudio, se apegan a los principios éticos enmarcados en la Declaración de Helsinki así como a las disposiciones del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de la Investigación Clínica y a las Buenas Prácticas Clínicas.

Comité de Ética del HGM.



BIBLIOGRAFÍA

Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Secretaría de Salud, Estados Unidos Mexicanos, 1998.

Ley General de Salud en material de investigación para la salud, Título segundo: De los aspectos éticos de la Investigación en Seres Humanos. Capítulo 1. Secretaría de Salud, Estados Unidos Mexicanos, 1997.

Shein-Chung Chow, Jen- Pei Liu, Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies, 3rd ed; Chapman & Hall / CRC Ed. USA, 2009:26-27, 39-41, 97-102.

Leza J.C.Lizasoain L; Farmacos antiinflamatorios no esteroideos y otros analgésicos-antipiréticos; en: Velazquez / Farmacología Básica y Clínica;18 ed, Médica Panamericana, Madrid, 2008: 472-473

John VA. "The pharmacokinetics and metabolism of diclofenac sodium (Voltarol®) in animals and man". *Rheumatol Rehabil.* 1979; 18:(Suppl 2):22-35.

Bruke A.Smith EM, FitzGerald G.A; Analgesic-Antipiretic Agents; Pharmacotherapy of Gout; in: Goodman & Gilman's / The Pharmacological Basis of Therapeutics; 11 ed; United States, 2006:677-698,1816.

Willis JV, Kendall MJ, Flinn RM et al. "The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration". *Eur J Clin Pharmacol.* 1979; 16:405-10.

Hart FD, Huskisson EC, Answell BM. Non-steroidal anti-inflammatory analgesics. In: Hart FD, ed. Drug treatment of the rheumatic diseases. 2nd ed. Balgowlah, NSW Australia: ADIS Press; 1982:7-60.

Popovic J., Mikov M, Sabo A, et al. "Evaluation of statistical power function for various diclofenac bioequivalence trials with different subject numbers". *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2009; 34(2):85-91

Martínez C et al. Farmacogenómica clínica de CYP2C8 y CYP2C9: conceptos generales y aplicación al uso de AINE. *Farmacía Hospitalaria* 2006; 30: 240-248.

Yuping Chen, Joyce A. Goldstein. The transcriptional regulation of the human CYP2C genes. *Curr Drug Metab.* 2009 July; 10(6): 567-578.

E Galli y L Feijoo. CITOCROMO P-450 Y SU IMPORTANCIA CLÍNICA (en español). *Revista de Neuro-Psiquiatría* 2002; 65: 187-201. Último acceso 4 de marzo de 2008.