



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

Maestría en Ciencias Médicas y Odontológicas y de la Salud

Facultad de Química

Investigación Clínica Experimental en Salud

Bioquímica Clínica

**“Efecto de las variantes alélicas *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* sobre la respuesta terapéutica y farmacocinética de la glibenclamida en población Maya del estado de Yucatán”**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**QFB. CAROLINA RIVERA SANTIAGO**

**Director de tesis**

Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta  
Facultad de Química, UNAM

**Comité tutor**

Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta-Facultad de Química, UNAM  
Dra. Helgi H. Jung Cook-Facultad de Química, UNAM  
Dra. Lòpez Lòpez Marisol-Depto. Sistemas Biológicos, UAM

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx.**

**Marzo 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dra. Helgi H. Jung Cook  
Vocal: Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta  
Vocal: Dra. Vanessa M. González Covarrubias  
Vocal: Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín  
Secretario: Dra. Aurora de la Peña Díaz

**EL SIGUIENTE TRABAJO FUE DESARROLLADO EN EL “LABORATORIO DE  
DIABETES” EDIFICIO F, LABORATORIO 202 DE LA FACULTAD DE QUÍMICA,  
UNAM**

**TUTORA: DRA. MARTA ALICIA MÉNJÍVAR IRAHETA**

## Agradecimientos

Un sincero agradecimiento a las siguientes instituciones, programas académicos y personas que me permitieron realizar y culminar de manera satisfactoria mis estudios de posgrado a nivel maestría:

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química, UNAM

Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán

Programa de Maestría en Ciencias Médicas Odontológicas y de la Salud, campo disciplinario en Bioquímica Clínica

Programa Nacional de Becas Nacionales para los posgrados de calidad CONACYT con el número de apoyo: 424269

A las comunidades indígenas del estado de Yucatán por compartimos su información y hacer posible este proyecto de investigación.

A la Dra. Marta Menjívar por permitirme ser parte de su equipo de trabajo haciendo posible la misión de nuestra carrera, siendo el vínculo con la sociedad por medio del servicio.

A la Dra. Helgi Jung por su asesoramiento a lo largo de la realización del trabajo de campo y pruebas realizadas.

Al Maestro Juan Manuel por su asesoramiento en la capacitación en el uso y manejo de las técnicas analíticas empleadas.

A la M en C María de los Ángeles Granados Silvestre por su ingente apoyo técnico, operacional y administrativo así como su supervisión durante el desarrollo del proyecto de investigación.

A los integrantes del jurado de examen por sus revisiones y correcciones pertinentes.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Diabetes por brindarme su ayuda en todo momento a lo largo del proyecto de investigación.

## Dedicatoria

*“Memoria selectiva para recordar lo bueno, prudencia lógica para no arruinar el presente y optimismo desafiante para encarar el futuro” Isabel Allende.*

Esta frase también la aprendí de mis seres más queridos al los cuales dedico este trabajo, que me han impulsado y estado conmigo para lograr mis metas.

*A mi mamá, papá, hermana, familia (Iker, Abigail, Abdiel, Ana, Laura, Tía Leo, Tía Judith, Beto), amigos, Dra. Ángeles y a mi compañero de vida a quie  
he entregado mi corazón  
Guillermo*

## Tabla de contenido

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>3</b>
<b>TABLA DE CONTENIDO</b> .....	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>7</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>8</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>9</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>11</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>13</b>
DIABETES TIPO 2 .....	13
TRATAMIENTO PARA EL CONTROL DE LA DIABETES TIPO 2 .....	15
LA GLIBENCLAMIDA PARA EL CONTROL DE LA DT2 EN MÉXICO .....	19
<i>Farmacodinamia</i> .....	19
<i>Farmacocinética</i> .....	21
<i>Reacciones adversas</i> .....	21
VARIABILIDAD EN EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO Y FALLO TERAPÉUTICO.....	22
FARMACOGENÉTICA EN EL TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA .....	25
FARMACOGENÉTICA EN POBLACIONES MEXICANAS .....	28
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>29</b>
ESTUDIO DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> EN POBLACIÓN MAYA .....	29
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>30</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>31</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>32</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>33</b>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>34</b>
DISEÑO EXPERIMENTAL .....	34
POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	35
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	35
DETERMINACIÓN DE DATOS ANTROPOMÉTRICOS .....	36
DETERMINACIÓN DEL PERFIL BIOQUÍMICO .....	36
EXTRACCIÓN DE ADN .....	37
GENOTIPIFICACIÓN DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> .....	37
EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> .....	38
<i>Etapas A: Evaluación del estado estacionario de la glibenclamida en pacientes con DT2</i> .....	38
<i>Criterios de inclusión</i> .....	39
<i>Etapas B: Realización de la prueba farmacocinética</i> .....	40
CUANTIFICACIÓN DE GLIBENCLAMIDA POR HPLC/MS/MS .....	41
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	43
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>
DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	44
EVALUACIÓN GENÉTICA EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	45
ETAPA A: EVALUACIÓN DE LA GLIBENCLAMIDA EN EL ESTADO ESTACIONARIO EN PACIENTES CON DT2.....	46

<i>Concentraciones de glibenclamida en pacientes con DT2 del Grupo 1</i> .....	47
<i>Concentraciones de glibenclamida en pacientes del Grupo 2: Seguimiento farmacológico</i> .....	50
ETAPA B: EVALUACIÓN FARMACOCINÉTICA DE LA GLIBENCLAMIDA.....	55
<i>Evaluación de los parámetros farmacocinéticos</i> .....	58
<i>Concentraciones de glucosa durante la prueba funcional</i> .....	59
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>60</b>
DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	61
EVALUACIÓN GENÉTICA DE LOS POLIMORFISMOS <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> .....	62
EVALUACIÓN DE LA GLIBENCLAMIDA EN EL ESTADO ESTACIONARIO EN PACIENTES CON DT2 ...	63
EVALUACIÓN DE LA FARMACOCINÉTICA DE LA GLIBENCLAMIDA.....	67
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>69</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>70</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>76</b>

## Índice de Tablas

TABLA 1. PORCENTAJE DE ADULTOS QUE REPORTARON HABER RECIBIDO UN DIAGNÓSTICO PREVIO DE DIABETES .....	14
TABLA 2. FÁRMACOS DISPONIBLES PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2 .....	17
TABLA 3. IDENTIFICACIÓN DEL GENOTIPO.....	37
TABLA 4. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y ANTROPOMÉTRICOS DE LA POBLACIÓN INDÍGENA DE YUCATÁN .....	44
TABLA 5. FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS PARA LOS POLIMORFISMOS CYP2C9*2 Y CYP2C9*3 EN COMUNIDADES INDÍGENAS DE YUCATÁN: SABBACHÉ, SAN JOSÉ ORIENTE, CUZAMÁ, PAPACAL Y XOCÉN. ....	45
TABLA 6. EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG Y COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS.....	45
TABLA 7. VALORES ANTROPOMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA POBLACIÓN DIABÉTICA.....	46
TABLA 8. VALORES ANTROPOMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA POBLACIÓN DIABÉTICA: GRUPO 1 .....	49
TABLA 9. VALORES ANTROPOMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS EN EL PERIODO DE UN MES DE TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO: GRUPO 2.....	50
TABLA 10. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA OBSERVADAS A LOS DÍAS T0, T15 Y T30 EN LOS PACIENTES CON GENOTIPO *1/*1 Y *1/*2.....	51
TABLA 11. CONCENTRACIONES DE GLIBENCLAMIDA EN LOS PACIENTES AL INICIO Y TÉRMINO DEL SEGUIMIENTO FARMACOLÓGICO.....	53
TABLA 12. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE LOS VOLUNTARIOS DE ACUERDO CON SU GENOTIPO. ....	58

## Índice de Figuras

FIGURA 1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS SULFONILUREAS.....	19
FIGURA 2. ESQUEMA DE TRATAMIENTO PARA LE CONTROL DE LA DT2 .....	18
FIGURA 3. CARGA ECONÓMICA DE LA DIABETES TIPO 2. <sup>(25)</sup> .....	24
FIGURA 4. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO .....	34
FIGURA 5. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LOS POBLADOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.....	36
FIGURA 6. ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO PARA LA EVALUACIÓN DE LA C <sub>EE</sub> DE LA GLIBENCLAMIDA EN PACIENTES CON DT2: ETAPA A .....	39
FIGURA 7. CUANTIFICACIÓN DE GLIBENCLAMIDA POR HPLC/MS/MS .....	42
FIGURA 8. CONCENTRACIONES DE GLIBENCLAMIDA EN LOS PACIENTES CON DT2 DEL GRUPO 1 .....	48
FIGURA 9. REPRESENTACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DURANTE LAS TRES VISITAS AL GRUPO 2 .....	52
FIGURA 10. PACIENTES QUE DISMINUYERON SUS CONCENTRACIONES DE GLUCOSA. ....	53
FIGURA 11. CONCENTRACIONES DE GLIBENCLAMIDA EN PLASMA A T0 Y T30 EN EL ESTADO ESTACIONARIO ...	54
FIGURA 12. CONCENTRACIÓN DE GLIBENCLAMIDA EN LOS PACIENTES CON DT2 .....	55
FIGURA 13. CONCENTRACIÓN DE GLIBENCLAMIDA VS TIEMPO .....	56
FIGURA 14. GRÁFICO DE CONCENTRACIÓN DE GLIBENCLAMIDA VS TIEMPO SIN CONSIDERAR EL SEGUNDO PICO DE ABSORCIÓN A LAS 8 H .....	57
FIGURA 14.1 GRÁFICO DE CONCENTRACIÓN DE GLIBENCLAMIDA VS TIEMPO SIN CONSIDERAR EL SEGUNDO PICO DE ABSORCIÓN A LAS 8 H EN ESCALA LOGARÍTMICA. ....	57
FIGURA 15. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA DURANTE LA PRUEBA .....	59
FIGURA 16. IMPACTO DE LA FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS EN POBLACIÓN INDÍGENA MAYA.....	63

## Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
$ABC_{0-inf}$	Área bajo la curva de tiempo 0 h a tiempo infinito
$ABC_{0-24}$	Área bajo la curva de tiempo 0 h a tiempo 24 h
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ALT	Alanina aminotransferasa
Arg	Arginina
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP	Adenosín trifosfato
Cl	Aclaramiento
cm	Centímetros
$C_{max}$	Concentración máxima de absorción
CYP2C9	Citocromo P450 Familia 2 Subfamilia C polipéptido 9
<i>CYP2C9*1</i>	Alelo silvestre para el gen <i>CYP2C9</i>
<i>CYP2C9*2</i>	Cambio de cisteína por arginina en la posición 144 del gen <i>CYP2C9</i>
<i>CYP2C9*3</i>	Cambio de isoleucina por leucina en la posición 359 del gen <i>CYP2C9</i>
CYP450	Familia de isoenzimas Citocromo P450
Cys	Cisteína
DE	Desviación estándar
DPP-4	Enzima Dipeptidil peptidasa-4
DT2	Diabetes tipo 2
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
ENSANUT	Encuesta Nacional para la Salud
FC	Farmacocinética
FD	Farmacodinamia
GAA	Glucosa alterada en ayuno
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HDL	Colesterol de alta densidad
ICC	Índice cintura-cadera
Ile	Isoleucina
IMC	Índice de masa corporal
INALI	Instituto Nacional de Lenguas Indígenas
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
$K_{ATP}$	Canal de potasio sensible a ATP
ke	Constante de eliminación
Kg	Kilogramos

Kir 6.2	Canal rectificador entrante de potasio 6.2
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LDL:	Colesterol de baja densidad
Leu	Leucina
m	Metros
MAF	Frecuencia alélica del alelo menor
mg/dL	Miligramos sobre decilitro
mmHg	Milímetros de mercurio
n	Número de individuos
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, coenzima
ng/ml	Nanogramos sobre mililitro
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial para la Salud
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PCR-TR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
PIB	Producto interno bruto
Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub>	Cuartil 25 y Cuartil 75
RAMs	Reacciones adversas a los medicamentos
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SU	Sulfonilureas
SUR1	Receptor de sulfonilureas 1
T <sub>1/2</sub>	Tiempo de vida media
Tmax	Tiempo máximo de absorción
TMR	Tiempo medio de residencia
Vd	Volumen de distribución
VLDL	Colesterol de muy baja densidad
X <sup>2</sup>	Prueba estadística Chi cuadrado

## Resumen

El citocromo P450 2C9 (CYP2C9) es la principal isoenzima que metaboliza a la glibenclamida, uno de los medicamentos de primera línea para controlar la diabetes tipo 2 (DT2). Estos tratamientos se caracterizan por presentar una variabilidad interindividual, eficacia clínica y de reacciones adversas a los medicamentos (RAMs). Entre los factores genéticos responsables de las diferencias interindividuales en la respuesta al fármaco, se encuentran los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en genes que codifican enzimas metabolizadoras de fármacos. El gen *CYP2C9*, que codifica para la isoenzima CYP2C9, es altamente polimórfico, y en este contexto, se conoce que el efecto biológicos de los SNPs *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* es modificar la actividad de la enzima. En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo en pacientes con DT2 en población indígena Maya se documentó que más del 60% de estas personas presentan al menos una reacción adversa al tratamiento farmacológico y como consecuencia un abandono al mismo, lo cual finalmente conduce a la aparición de complicaciones secundarias de la diabetes en estos individuos. En el estudio farmacogenético en esta misma población se encontraron individuos que portan las variantes genéticas *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en una frecuencia del 2.8% y 1.0% respectivamente. Estos alelos al estar asociados a un metabolismo lento de la glibenclamida, nos indican que posiblemente esta población se encuentra expuesta a un mayor número de RAMs.

El objetivo de este trabajo fue evaluar en población indígena Maya la farmacocinética de la glibenclamida en voluntarios sanos y la respuesta al tratamiento con glibenclamida en pacientes con DT2, considerando en ambas partes del estudio el genotipo CYP2C9 (*\*1/\*1*, *\*1/\*2* y *\*1/\*3*). Para el estudio farmacocinético y de respuesta al tratamiento se seleccionaron tres individuos sin diabetes y 42 pacientes con DT2, respectivamente a partir de 191 sujetos indígenas mayas genotipados mediante PCR-TR. Los parámetros farmacocinéticos fueron determinados bajo un modelo no compartimental. Las concentraciones de glibenclamida se cuantificaron mediante HPLC MS/MS.

La población indígena Maya es portadora de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en una frecuencia de 0.032 ambas variantes. Esta frecuencia es similar a la reportada previamente. Sólo se encontraron genotipos heterocigotos para ambas variantes, a los cuales se les evaluó

el efecto funcional de los alelos en estudio en pacientes con DT2 y voluntarios sanos en la población indígena Maya, encontrando que el factor genético forma parte de la variabilidad en la respuesta a la glibenclamida.

Los resultados muestran que, las concentraciones de HbA1c y glucosa en ayunas en los pacientes con DT2 en promedio fueron de  $9.23 \pm 2.28\%$  y  $170 \pm 91\text{mg/dl}$ , respectivamente, lo cual refleja el descontrol glucémico que sufre la población diabética indígena Maya.

Sólo en el 25% de la población diabética estudiada se detectaron niveles de glibenclamida en plasma, resultado de una falta de apego al tratamiento farmacológico. Sin embargo, la atención al paciente mediante un seguimiento farmacológico es importante para mejora del tratamiento, ya que se las concentraciones de glucosa redujeron en promedio un 60.3% y son significativamente menores en pacientes que sí tomaron adecuadamente la glibenclamida comparado contra los que no tomaron el medicamento.

La concentración de glibenclamida en el estado estacionario del paciente portador del genotipo  $*1/*2$  fue de  $146.8 \text{ ng/ml}$ , al compararla con la de los pacientes con genotipo  $*1/*1$  ( $65.74 \pm 78.00 \text{ ng/ml}$ ), estos niveles tienden a ser mayores en el paciente portador de la variante  $*1/*2$ , para confirmar el efecto que tienen las variantes en estudio se requiere aumentar el número de muestras y el periodo de seguimiento.

En los voluntarios sanos, se evaluó la posible influencia que tienen las variantes  $CYP2C9*2$  y  $CYP2C9*3$  en los procesos de eliminación de la glibenclamida en la población indígena Maya ya que en los portadores de las variantes  $*1/*2$  y  $*1/*3$  el parámetro CL/F tiende a ser menor y el TMR tiende a ser mayor.

Finalmente, en este estudio describimos algunos efectos genéticos moderados de las variantes  $CYP2C9*2$  y  $CYP2C9*3$  en población indígena Maya. En estudios futuros se requiere evaluar en conjunto otros de los factores implicados en la variabilidad a la respuesta a la glibenclamida, siendo el factor genético uno de los evaluados por primera vez en esta población.

Este trabajo representa una importante contribución al conocimiento sobre la variabilidad en la respuesta a la glibenclamida para el tratamiento de la DT2, hallazgos que serán utilizados para el fortalecimiento de una medicina personalizada en esta población.

## Introducción

### Diabetes tipo 2

La diabetes es un conjunto de enfermedades metabólicas caracterizadas por la presencia de concentraciones elevadas de glucosa en sangre. La diabetes tipo 2 (DT2), es causada por una combinación de resistencia a la acción de la insulina, y una inadecuada respuesta compensatoria del páncreas <sup>(1, 2)</sup>.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de personas con diabetes ha incrementado en 34 años de 108 millones en 1980 a 422 millones hasta 2014 y la prevalencia global de esta enfermedad entre los adultos mayores de 18 años de edad ha aumentado de 4.7% a 8.5% en 2014 durante el mismo periodo, mayoritariamente en los países en vías de desarrollo <sup>(3)</sup>.

En México, la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) reportó en 2016 una frecuencia de diabetes de 9.4% (10.3% de las mujeres y 8.4% de los hombres), comparado con la ENANUT 2012, la encuesta informó un aumento en la prevalencia de la enfermedad del 7% y el mayor aumento de la prevalencia de diabetes se observó entre los hombres de 60 a 69 años de edad y entre las mujeres con 60 o más años de edad (Tabla 1). Estas cifras indican que durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado y actualmente se encuentra entre las primeras causas de muerte en el país <sup>(4, 5)</sup>.

Tabla 1. Porcentaje de adultos que reportaron haber recibido un diagnóstico previo de diabetes

Grupo de edad	Hombres (%)	Mujeres (%)	Total (%)
20 a 29 años	0.3	1.6	1.0
30 a 39 años	0.9	3.1	2.1
40 a 49 años	9.4	8.2	8.7
50 a 59 años	17.7	17.2	17.4
60 a 69 años	27.7	32.7	30.3
70 a 89 años	19.3	29.8	24.9
80 y más años	12.5	21.8	17.5
<b>Total</b>	<b>8.4</b>	<b>10.3</b>	<b>9.4</b>

 Modificado de <sup>(5)</sup>

La DT2 se desencadena principalmente por factores en el estilo de vida y factores genéticos. Se estima que la obesidad contribuye aproximadamente en el 55% de los casos de DT2, sin embargo, las toxinas, la hipertensión arterial, los fármacos, el sedentarismo entre otros factores ambientales también contribuyen a los aumentos recientes en la tasa de incidencia de la DT2.

Por otro lado, la genética juega un papel importante para el desarrollo de esta enfermedad. Se sabe que las personas con historia familiar de diabetes tienen un riesgo aumentado a padecerla <sup>(6)</sup>. Las estimaciones de heredabilidad varían entre 25% -80% en diferentes estudios. El riesgo de por vida de desarrollar DT2 es del 40% para las personas que tienen un padre con DT2 y casi del 70% si ambos padres están afectados. Adicionalmente, la tasa de concordancia de DT2 en gemelos monocigóticos es de aproximadamente 70%, mientras que la concordancia en gemelos dicigóticos es solo 20% -30% <sup>(7)</sup>.

La DT2 es considerada una enfermedad poligénica. Durante la última década, se ha avanzado considerablemente en la identificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) asociados a riesgo para el desarrollo de la DT2 en diferentes poblaciones del mundo. Existe escasa información de cómo interactúan los genes entre sí y con el medio ambiente para producir DT2. A diferencia de la diabetes tipo 1 (DT1), donde el riesgo genético se concentra principalmente en la región HLA, el componente genético del riesgo

a DT2 no está concentrado en una sola región y parece ser el resultado de la interacción de múltiples genes diseminados por todo el genoma <sup>(8)</sup>.

Los mecanismos moleculares asociados al descubrimiento de los SNPs no están completamente comprendidos, sin embargo, hoy en día existe un debate, después de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) no se sabe si el riesgo a DT2 se debe principalmente a variantes individualmente raras pero altamente penetrantes o a un gran universo de alelos comunes y de un efecto modesto <sup>(9)</sup>. Un resultado sorprendente de estas investigaciones refiere que la mayoría de los SNPs de riesgo afectan la función de la célula  $\beta$ , favoreciendo una visión centrada en genes implicados en la función de estas células así como en la interrelación entre varios genes que han contribuido a comprender la genética de la DT2 <sup>(10)</sup>.

En México, sólo 19 variantes comunes y dos en baja frecuencia se han asociado con DT2 <sup>(11)</sup>. En cuanto a la genética propia de la población mexicana, se ha asociado a DT2 un haplotipo en el gen *SLC16A11*, este podría ser un novedoso gen candidato con un posible rol en el metabolismo de triglicéridos <sup>(12)</sup>.

## Tratamiento para el control de la diabetes tipo 2

El tratamiento de la DT2 está compuesto por una serie compleja de decisiones médicas con respecto a los objetivos de atención, comportamientos del autocuidado y tratamientos farmacológicos. El paciente diabético requiere atención continua, junto con estrategias multifactoriales que ayuden a retrasar la aparición de complicaciones y así lograr un óptimo control glicémico <sup>(13)</sup>.

Una dieta saludable, actividad física regular, un peso corporal adecuado y evitar el consumo de tabaco son formas de prevenir o retrasar la aparición de DT2 y sus complicaciones. Sin embargo, cuando los cambios en el estilo de vida no son suficientes para mejorar las concentraciones plasmáticas de glucosas y hemoglobina glicosilada (Hb1Ac) de los pacientes con DT2, es necesario diseñar una estrategia farmacológica <sup>(14)</sup>.

Existe una gran diversidad de agentes hipoglucemiantes orales y sensibilizadores a la insulina (Tabla 2). La metformina y las sulfonilureas (SU) continúan siendo la primera línea de prescripción para el control glicémico en los pacientes con DT2. La metformina es una biguanida que reduce sigue siendo la primera línea de prescripción recomendada especialmente para pacientes obesos <sup>(15)</sup>. El principal mecanismo de acción de la metformina es la inhibición de la producción de glucosa hepática y la reducción de la insulina resistencia. Estudios recientes han demostrado que la activación de la proteína cinasa activada por adenina de monofosfato (AMPK) por metformina puede explicar sus efectos metabólicos favorables <sup>(16)</sup>. Por su parte, las SU son fármacos secretagogos de la insulina, tales como la glibenclamida. Otros medicamentos eficaces incluyen a las tiazolidinedionas como mejoradores de la sensibilidad a la insulina, inhibidores de alfa glucosidasa e insulina.

Investigaciones recientes sobre la fisiopatología de la DT2 han llevado a la introducción de nuevos medicamentos como los análogos del péptido 1 similar al glucagón: inhibidores de la dipeptidil peptidasa-IV, inhibidores del cotransportador sodio-glucosa 2 y 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa 1, glucocinasa liberadora de insulina, activadores y agonistas de receptores de ácidos grasos acoplados a la proteína G pancreática, antagonistas del receptor de glucagón, inhibidores metabólicos de la producción de glucosa hepática y liberación rápida de bromocriptina <sup>(6)</sup>.

Los médicos responsables de la atención primaria a los pacientes con DT2 deben tener una orientación adecuada para elegirles el mejor régimen de tratamiento, ya que existe una gran variedad de medicamentos en el mercado que regulan las concentraciones de glucosa en sangre, al igual que la cantidad de datos clínicos relacionados con estos fármacos.

La Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés), enfatiza la importancia del tratamiento personalizado y enumera la eficacia de los diferentes fármacos hipoglucemiantes, el riesgo de hipoglucemia, el efecto sobre el peso, los efectos secundarios y el costo, como parámetros importantes a considerar al elegir el mejor régimen de tratamiento <sup>(17)</sup>.

En México, de acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social, en 2014 publicó una guía de práctica clínica para el tratamiento de la DT2, el cual, como se ha venido explicando continua siendo complejo ya que depende mucho de la respuesta que el paciente este teniendo a lo largo del tiempo (Figura 1) <sup>(18)</sup>.

Tabla 2. Fármacos disponibles para el tratamiento de la diabetes tipo 2

Clasificación farmacológica	Fármaco	Efecto en HbA1c	Año de inicio en el mercado
▪ Biguanidas	Metformina	Disminución de 1-2%	1972
▪ Sulfonilureas	Tolbutamida Clorpropamida Acetohexamida <b>Glibenclamida</b> Glipizida Glicazida Glimepirida	Disminución de 1-2%	1950
▪ Hormonas	Insulina	Disminución 0.5-1.4%	1978
▪ Tiazolidinedionas	Pioglitazona Rosiglitazona	Disminución 0.5-1.4%	1990
▪ Péptido 1 similar al glucagón	Exenatida	Disminución 0.5-1.0%	2005
▪ Inhibidores del $\alpha$ -glucosidasa	Acarbosa Miglitol	Disminución 0.5-0.8%	1990
▪ Secretagogos de insulina no sulfonilureas	Repaglinida Nateglinida	Disminución 0.5-1.5%	1997
▪ Agonistas de amilina	Pramlintida	Disminución 0.5-1.0%	2005
▪ Inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP)-4	Sitagliptina	Disminución 0.5-1.0%	2006

Modificado de (18, 19)

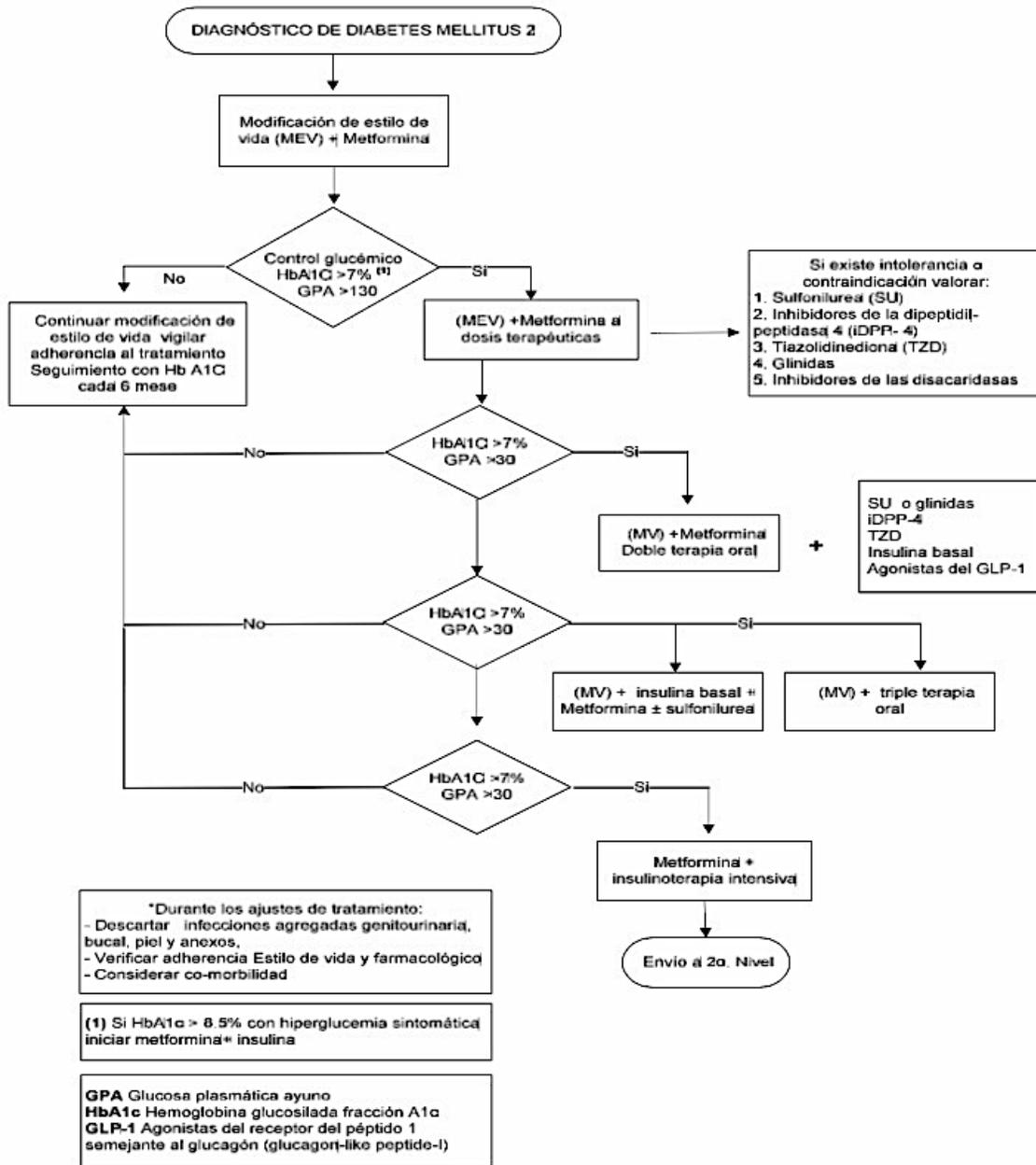


Figura 1. Esquema de tratamiento para el control de la DT2  
Modificado de <sup>(18)</sup>

## La glibenclamida para el control de la DT2 en México

La glibenclamida es la primera línea de prescripción para el control de la DT2 seguido de la metformina de acuerdo con guías para el tratamiento y control glicémico de los pacientes<sup>(20)</sup>. Su uso en México ha mostrado una tendencia al alza en general, con un aumento del 141% entre 1999 y 2003<sup>(21)</sup>. Un estudio realizado en 2013 en pacientes con DT2 del Hospital Juárez de México (datos no publicados), 28% de la población estudiada refería tener un tratamiento combinado de metformina con glibenclamida y el 5% sólo glibenclamida.

La glibenclamida y metformina generalmente son bien tolerados, la glibenclamida por su parte, al estimular la secreción endógena de insulina, conlleva un riesgo mayor de hipoglucemia. Se ha estimado que entre el 10% y el 20% de las personas tratadas no alcanzan un control glucémico adecuado, y el 5%-10% que responde inicialmente a las SU pierden posteriormente la capacidad de mantener un nivel glucémico casi normal<sup>(22)</sup>. En México sólo el 25.5% de los pacientes con DT2 tienen un adecuado control glicémico. Los pacientes de la tercera edad con DT2 que reciben tratamiento con SU tienen 36% más de riesgo de presentar eventos hipoglicemiantes comparados con los pacientes jóvenes. La glibenclamida se asocia con las tasas más altas de eventos de hipoglucemia en comparación con la glipizida. Algunos de los factores de riesgo para presentar eventos de hipoglucemia son, la función renal deteriorada relacionada con la edad, el uso simultáneo de insulina o sensibilizadores de insulina, ser adultos mayores de 60 años, alta hospitalaria reciente, abuso de alcohol, restricción calórica, múltiples medicamentos o medicamentos que potencian las acciones de las sulfonilureas, así como la genética<sup>(6)</sup>.

### Farmacodinamia

Las SU (glibenclamida, glipizida, glicazida, glimepirida, entre otros), son secretagogos de insulina, estimulan la secreción de insulina en las células  $\beta$ -pancreáticas y son metabolizadas principalmente en el hígado mediante la isoenzima CYP2C9. Han sido utilizadas por más de 50 años, siendo la hipoglucemia y el aumento de peso, los efectos más

comunes de este grupo de fármacos<sup>(23)</sup>. Las SU son un grupo de fármacos arilsulfonilureas<sup>(24)</sup> que difieren por sustituciones en la posición *p* del anillo benceno y en el residuo nitrogenado de la urea que no está unido al grupo sulfonilo. Estos fármacos se unen a los canales de potasio sensibles a ATP ( $K_{ATP}$ ) en las células  $\beta$ -pancreáticas. Los canales  $K_{ATP}$  están conformados por cuatro subunidades SUR1 y cuatro subunidades Kir 6.2. Al unirse las sulfonilureas a su receptor (SUR 1) se cierran los canales  $K_{ATP}$  incrementando la concentración de potasio intracelular, despolarizando la membrana de la célula  $\beta$ -pancreática, y la subsecuente apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. El calcio dentro de la célula  $\beta$ , estimula el movimiento de los gránulos secretores que contienen insulina a la superficie celular, liberando la insulina a la circulación<sup>(25)</sup>. En resumen, las sulfonilureas estimulan la liberación de insulina de manera independiente a la concentración de glucosa<sup>(19, 26)</sup> (Figura 2).

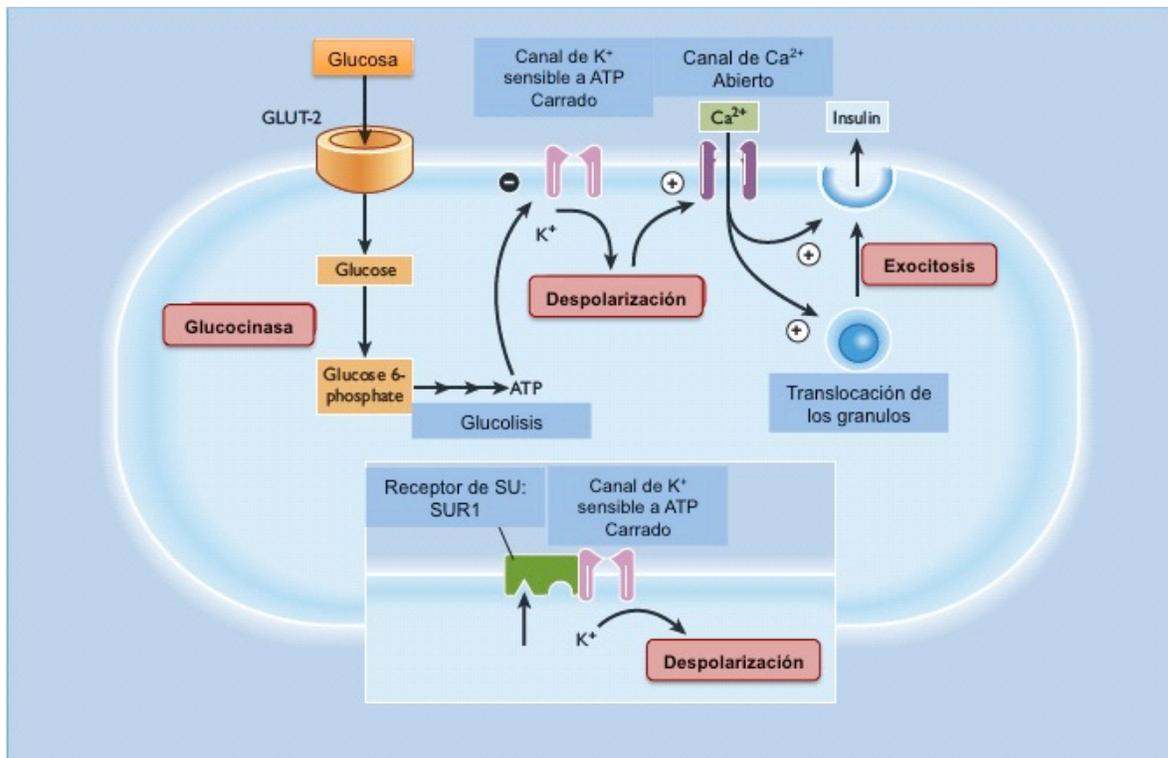


Figura 2. Mecanismo de acción de las sulfonilureas. Modificado de <sup>(27, 28)</sup>

### Farmacocinética

La glibenclamida tiene una absorción significativa en la primera hora de su administración oral y los niveles plasmáticos máximos se alcanzan de 2 a 4 horas. Los efectos del fármaco comienzan después de la primera hora posterior a la administración del mismo. Su metabolismo es principalmente hepático, mediado por las enzimas de la familia del citocromo P450 (CYP450) pertenecientes al el sistema microsomal oxidativo de función mixta o monooxigenas. Las isoenzimas CYP2C9, CYP3A4, CYP2C8 y CYP2C19 pertenecen al grupo de enzimas CYP450, las cuales están involucradas en el metabolismo de la glibenclamida. Estudios *in vivo* refieren que el CYP2C9 es la principal enzima responsable del metabolismo de la glibenclamida <sup>(29)</sup>. Los principales metabolitos de este fármaco son: 4-trans-hidroxicliburida y 3-cis-hidroxicliburida. Estos metabolitos no contribuyen significativamente al efecto farmacológico, ya que son sólo débilmente activos. Sin embargo, la retención de 4-trans-hidroxicliburida puede prolongar el efecto hipoglucémico así como su depuración en pacientes con insuficiencia renal grave. Se excreta como metabolitos en la bilis y la orina, aproximadamente el 50% por cada vía. Esta doble vía excretora es cualitativamente diferente de la de otras sulfonilureas que se excretan principalmente en la orina. El tiempo de vida media ( $T_{1/2}$ ) de la glibenclamida es de 1.4 a 2.8 horas y de 10 horas la de sus metabolitos, es importante mencionar el  $T_{1/2}$  es mayor en pacientes con un aclaramiento de creatinina mayor de 29 ml/min. Finalmente, la duración del efecto es de 12-24 horas<sup>(30)</sup>.

### Reacciones adversas

El uso de medicamentos en general, puede conferir riesgos para la salud, éstos varían sustancialmente en la práctica clínica de los observados en ensayos controlados aleatorios y comprometen los beneficios terapéuticos<sup>(31)</sup>. En el caso de la glibenclamida, se pueden llegar a presentar algunos problemas gastrointestinales como náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea. Potencialmente pueden ocurrir cambios severos en la composición sanguínea. Se pueden incluir raramente trombocitopenia de leve a severa o anemia hemolítica, eritrocitopenia, leucopenia granulocitopenia y pancitopenia. En principio estas reacciones son reversibles una vez que el medicamento haya sido suspendido.

Ocasionalmente pueden ocurrir reacciones alérgicas, por ejemplo en forma de erupción o comezón<sup>(32)</sup>.

## Variabilidad en el tratamiento farmacológico y fallo terapéutico

Existe una notable variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento farmacológico hipoglicemiante, que afecta tanto a la eficacia como a la toxicidad del fármaco, resultando en falla terapéutica, daño al paciente, y como consecuencia una utilización ineficiente de recursos sanitarios que en la actualidad son limitados<sup>(33)</sup>. Así, el fallo en el tratamiento farmacológico se debe en parte a la compleja interacción entre los factores ambientales (e.g. carga económica), factores que influyen en la respuesta de los fármacos (e.g. reacciones adversas a los medicamentos, RAMs) y las características propias de cada individuo ante la respuesta al fármaco (e.g. farmacogenética).

El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglicemia que con el tiempo se convierte en la principal causa de ceguera, insuficiencia renal, infarto al miocardio, accidente cerebrovascular y amputación de extremidades inferiores, produciendo un impacto dramático y elevados costos para los servicios de salud pública<sup>(14)</sup>. En 2016, de los pacientes diagnosticados con DT2, el 87.8% reportó recibir tratamiento farmacológico oral para controlar la hiperglicemia<sup>(34)</sup>, esta cifra de acuerdo a la ENSANUT es ligeramente mayor a la reportada en la ENSANUT 2012 que fue del 85%<sup>(35)</sup>. Por tanto, se estima con base a datos demográficos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), que más de 9 millones de diabéticos se encuentran bajo tratamiento farmacológico.

La carga económica de una enfermedad crónica como la DT2, engloba los costos directos asociados al gasto en atención médica (incluyendo servicios médicos y medicamentos) y los costos indirectos de la enfermedad, es decir, aquellos relacionados con el efecto que tienen la mortalidad prematura y la limitación en la capacidad de participación de una persona en el mercado laboral y su desempeño en el mismo. Para 2013, la carga económica de la diabetes alcanzó los 362,859.82 millones de pesos, esto representa el 2.25% del producto interno bruto (PIB) del mismo año (Figura 3)<sup>(25)</sup>.

El costo por atender las complicaciones de la DT2 y la pérdida de ingresos por muerte prematura representan el 80% de la carga total. De mantenerse las condiciones actuales de prevalencia y evolución de complicaciones, estos costos podrán duplicar el porcentaje actual del PIB en el 2018 <sup>(36)</sup>.

Las RAMs a antidiabéticos orales pueden minimizar los beneficios potenciales del control glicémico. Por lo tanto, la selección apropiada de los medicamentos prescritos es esencial para alcanzar los objetivos en el control glicémico, reducir el riesgo a las RAMs y mejorar la eficacia del tratamiento a largo plazo <sup>(37)</sup>.

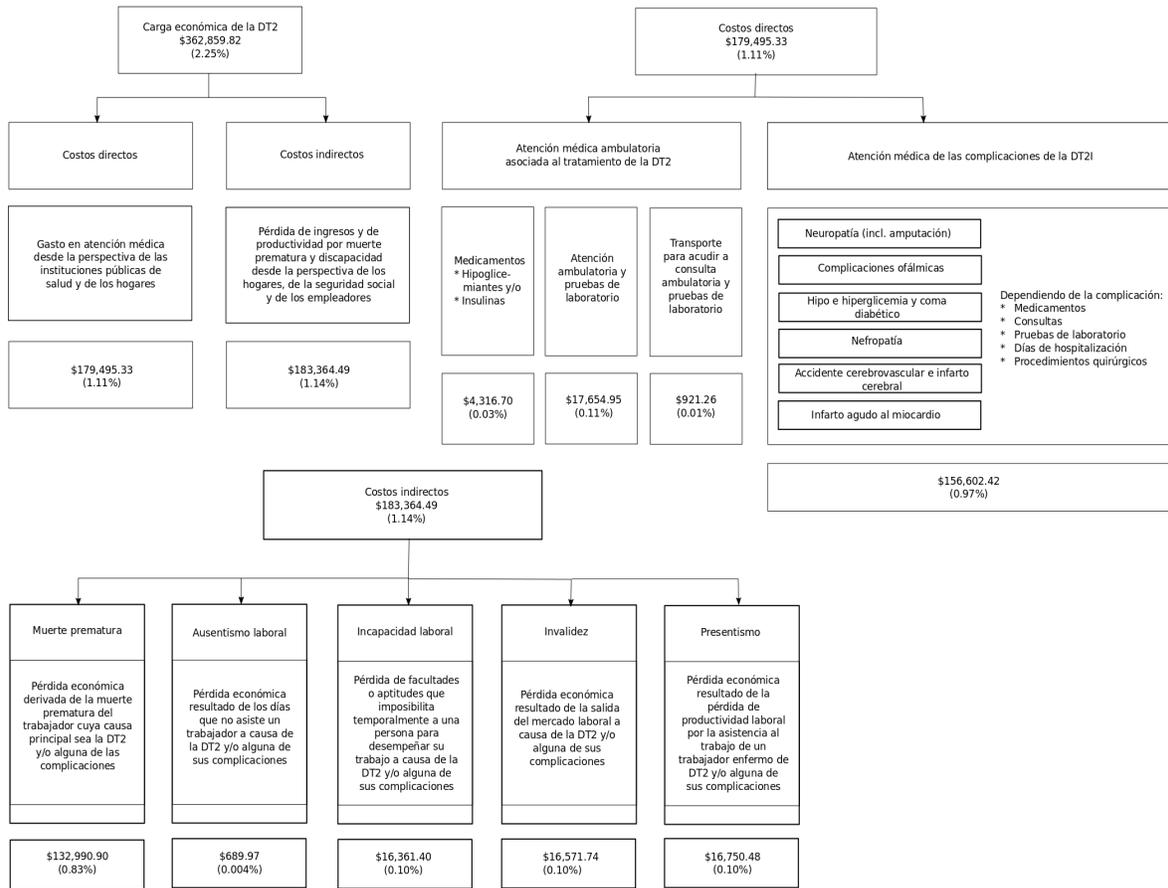


Figura 3. Carga económica de la diabetes tipo 2. <sup>(25)</sup>

## Farmacogenética en el tratamiento con glibenclamida

La genética puede representar del 20 al 95% de la variabilidad en la disposición y los efectos de los fármacos, en parte debido a polimorfismos, los más comunes son polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en genes implicados en la absorción, biodisponibilidad, transporte, metabolismo, eliminación y acción de los fármacos en el organismo (ADME) <sup>(38)</sup>.

La farmacogenética establece el uso de la información genética de un individuo para guiar la terapia farmacológica<sup>(39)</sup> a través del estudio de las variaciones en la secuencia del ADN y cómo éstas influyen en la respuesta y eficacia de los fármacos administrados a una misma dosis en los pacientes. De la mano con la farmacogenómica, ambas ciencias tienen como objeto mejorar la forma en que se utilizan los fármacos en la práctica clínica, siendo más precisos en cómo el paciente va a responder a un medicamento, optimizando la terapia y minimizando la toxicidad tomando en cuenta el genotipo. Estas ciencias son una herramienta fundamental para que a través de la medicina personalizada se mejore en gran medida la eficacia del tratamiento de la DT2 <sup>(39-42)</sup>.

Existe una considerable variabilidad interindividual en la respuesta hipoglucémica a las sulfonilureas<sup>(25)</sup>. El objetivo de la farmacogenómica y farmacogenética es determinar la relación entre las variantes alélicas en el genoma humano y la respuesta a los fármacos. Con el uso de estas herramientas se puede precisar la terapia farmacológica en la DT2 de manera individual mediante predictores genéticos de la respuesta farmacológica y efectos adversos<sup>(19, 43)</sup>.

El citocromo P450 (CYP450), particularmente el CYP450 de la familia 2 subfamilia C polipéptido 9 (CYP2C9), es la principal isoenzima responsable del metabolismo de los agentes hipoglucemiantes orales tales como la tolbutamida, glibenclamida, glimepirida, glipizida y nateglinida<sup>(44)</sup>. El CYP2C9 es una de las proteínas CYP450 más importantes, ya que es la segunda enzima más abundante en el hígado, y metaboliza el 11% de todos los fármacos de importancia clínica<sup>(45)</sup>. El gen que codifica para esta enzima es el *CYP2C9*,

tiene la característica de ser altamente polimórfico, hasta la fecha se han reportado 60 variantes alélicas para este gen (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C9>)<sup>(46)</sup>. Posee 9 exones y pesa 50kb, es uno de varios genes agrupados en cluster en una región aproximadamente de 390 kb dentro del cromosoma 10 en la posición 23.3 del brazo largo (23q3)<sup>(47)</sup>.

Las variantes alélicas mayormente estudiadas: *CYP2C9\*2* (Arg144Cys; rs1799853) y *CYP2C9\*3* (Ile359Leu; rs1057910), se han asociado con una actividad enzimática reducida y una afección en el metabolismo de los sustratos que interaccionan con la enzima *CYP2C9*<sup>(48)</sup>. Estudios farmacocinéticos en individuos sanos portadores de estas dos variantes, han demostrado un metabolismo lento de las SU en caucásicos, de tal manera que los portadores de genotipos homocigotos para las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* tuvieron un aclaramiento menor de glibenclamida, con reducciones de 25% y 57%, respectivamente, con respecto a los que no portan ninguna de las dos variantes<sup>(49)</sup>.

El fenotipo de respuesta a fármacos es complejo, cualquier fármaco aprobado posee riesgos para cada individuo<sup>(50)</sup>. Se ha reconocido la variabilidad interindividual en la respuesta a las SU durante más de 50 años. Diversos estudios han buscado determinar la influencia de polimorfismos en genes que codifican para enzimas metabolizadoras de fármacos en la farmacocinética de las SU en seres humanos.

A partir de la última década, se han realizado avances en el entendimiento de la contribución de las diferencias genéticas a la farmacocinética (FC) y farmacodinamia (FD) en la variabilidad interindividual con respecto a la respuesta a los fármacos<sup>(51)</sup>, en otras palabras llamado “evaluación del fenotipo” dado un genotipo en específico.

Diversos estudios han evaluado las asociaciones entre los genotipos y fenotipo en el tratamiento para la DT2, con la finalidad de valorar la FC y/o la FD de los fármacos utilizados para el tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, se requieren estudios prospectivos en pacientes con DT2 y así predecir la respuesta terapéutica o los efectos adversos de los fármacos con el propósito de llevarlos a la práctica clínica<sup>(52)</sup>.

A la fecha, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) no tiene biomarcadores farmacogenéticos asociados a la farmacocinética de la glibenclamida, inclusive la FDA sólo cuenta con 230 medicamentos en los cuales ha incluido en la información para prescribir, datos a cerca de biomarcadores que pueden describir exposición al fármaco, variabilidad de la respuesta clínica, riesgo de eventos adversos, dosificación específica de acuerdo al genotipo y/o mecanismos de la acción del fármaco y esto para otras enfermedades oncológicas en su mayoría<sup>(19, 53, 54)</sup>.

La farmacogenética ha demostrado gran potencial pero con pocas aplicaciones clínicas referentes a la DT2, por lo que la aplicación generalizada de ésta ha sido limitada por la necesidad de más avances técnicos, metodológicos y prácticos. A medida que la farmacogenética tenga su lugar en la práctica clínica la asistencia sanitaria personalizada llegará a su máximo potencial<sup>(55)</sup>.

## Farmacogenética en poblaciones mexicanas

La población mexicana tiene una gran diversidad genética. Este componente genético se ha formado a través de la dinámica poblacional precolombina, propiamente a partir de la población indígena, y tiene una historia de civilizaciones complejas con diferentes contribuciones a la población actual de los mestizos mexicanos. Por tanto es importante considerar los antecedentes genéticos para el diseño y análisis de estudios farmacogenéticos en México<sup>(56-58)</sup>.

La población indígena mexicana representa aproximadamente el 21.5% de la población actual, tomando en cuenta a la población que se considera indígena sin ser hablante de esta lengua, de acuerdo a los últimos informes del (INEGI)<sup>(59)</sup>. Estos grupos indígenas tienen una heterogeneidad genética relativa, probablemente debido a los eventos demográficos que han reestructurado su componente genético considerablemente en los últimos 500 años desde la llegada de los europeos al continente americano<sup>(57)</sup>. Esta población podría tener alelos únicos que la predispongan a enfermedades crónico degenerativas como es la DT2, así como alelos funcionales y medicamento relevantes relacionados con el tratamiento de la misma.

En México, la farmacogenética continua en etapa de crecimiento científico<sup>(60)</sup>. En el país se ha evaluado la frecuencia de 31 biomarcadores farmacogenéticos a lo largo diversos estudios en poblaciones mestizas e indígenas mexicanas en genes relacionados con enzimas metabolizadoras, transportadores y receptores de los fármacos. Sin embargo, la falta de estudios acerca del fenotipo de estas variantes no ha permitido evaluar el impacto del genotipo en diversos biomarcadores para iniciar una medicina personalizada en la población<sup>(58)</sup>.

## Antecedentes

### Estudio de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en población Maya

La evaluación de la frecuencia alélica de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* se ha realizado en diferentes poblaciones indígenas a lo largo de todo el país. Los mayas de la península de Yucatán son el segundo pueblo mesoamericano de México más importante en relación al número de habitantes indígenas, apenas superado por los grupos nahuas. Sin embargo, los nahuas se hallan dispersos en más de una veintena de estados, a diferencia de los mayas que están concentrados en una misma zona. Los estudios genéticos en los pueblos indígenas como los mayas, puede ser la clave para comprender mejor los problemas nacionales de salud, como la diabetes, la obesidad y sobre todo para la optimización del tratamiento farmacológico. En este contexto, al estudiar el fondo genético de la DT2 en población indígena Maya<sup>(61)</sup>, se detectó que esta población indígena sufre falta de adherencia al tratamiento farmacológico al referir al menos una reacción adversa en los pacientes tratados con glibenclamida, entre las que destacan dolor de cabeza, de estómago y náuseas. Este hallazgo dio pie al estudio de la frecuencia de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en esta misma población. Como resultado, ambas variantes se encontraron presentes en una frecuencia alélica del 0.010 y 0.028, respectivamente<sup>(62)</sup>.

## Planteamiento del problema

El descontrol glucémico en pacientes con DT2 debido a un desapego farmacológico es una de las primeras causas del aumento de complicaciones de la DT2. El desapego al tratamiento farmacológico se debe a múltiples factores entre los que destaca la aparición de RAMs, que a su vez depende de las características intrínsecas del paciente. Los factores genéticos contribuyen de manera importante en la respuesta a los fármacos. Por ello, la genética es un factor determinante en la terapia farmacológica, que apenas se estudia en poblaciones mexicanas. De esta forma, en la siguiente investigación se busca conocer cómo el genotipo afecta la respuesta a los medicamentos hipoglicemiantes orales, los hallazgos contribuirán a mejorar la eficacia terapéutica coadyuvando a la prevención de la aparición de reacciones adversas, retrasando y/o previniendo complicaciones de la DT2.

## Justificación

La población Maya es el segundo grupo indígena mexicano más numeroso, representa alrededor del 30.3% de la población indígena total. Se caracteriza por tener un componente ancestral único <sup>(56)</sup>. Su localización geográfica, así como las condiciones ambientales y de pobreza han contribuido a la susceptibilidad de esta población para la aparición de enfermedades metabólicas y crónico-degenerativas como lo es la DT2. La prevalencia de esta enfermedad en el estado de Yucatán es del 9.2%. Un estudio realizado en nuestro laboratorio en pacientes mayas con DT2, se encontró que aproximadamente el 40% de los pacientes reciben por prescripción médica hipoglicemiantes orales entre los que se encuentra la glibenclamida y además reportan algún tipo de RAMs. Así mismo, en esta población encontramos sujetos con genotipos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* los cuales, están asociados a una capacidad de eliminación de glibenclamida disminuida, lo que indica que posiblemente esta población se encuentra expuesta a un mayor número de RAMs, lo que trae como consecuencia una alta tasa de abandono del tratamiento. En México no existen datos que demuestren las implicaciones clínicas de la variabilidad genética sobre la depuración y efectos adversos de fármacos de hipoglucemiantes orales en poblaciones vulnerables como la indígena Maya. Por esta razón, un estudio para evaluar la implicación fenotípica de los genotipos de la enzima *CYP2C9* en la población indígena Maya, permitirá sentar las bases para la implementación de una medicina personalizada.

## Hipótesis

Los portadores de los polimorfismos *CYP2C9\*2* o *CYP2C9\*3* presentarán un metabolismo más lento de la glibenclamida comparado con los que portan el genotipo *CYP2C9\*1*.

## Objetivo general

Realizar una evaluación funcional de los polimorfismos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en voluntarios sanos y pacientes indígenas Maya con DT2 .

## Objetivos específicos

1. Identificar a los portadores de los polimorfismos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en una muestra poblacional indígena Maya
2. Evaluar la respuesta de glibenclamida en pacientes con DT2 clasificándolos de acuerdo a su genotipo: *CYP2C9\*1*, *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*
3. Realizar la farmacocinética de la glibenclamida en voluntarios sanos portadores de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* pertenecientes a una población indígena Maya

## Metodología

### Diseño experimental

El siguiente trabajo tiene un diseño experimental prospectivo, comparativo y longitudinal. En la Figura 4, se muestra el esquema general de trabajo realizado.

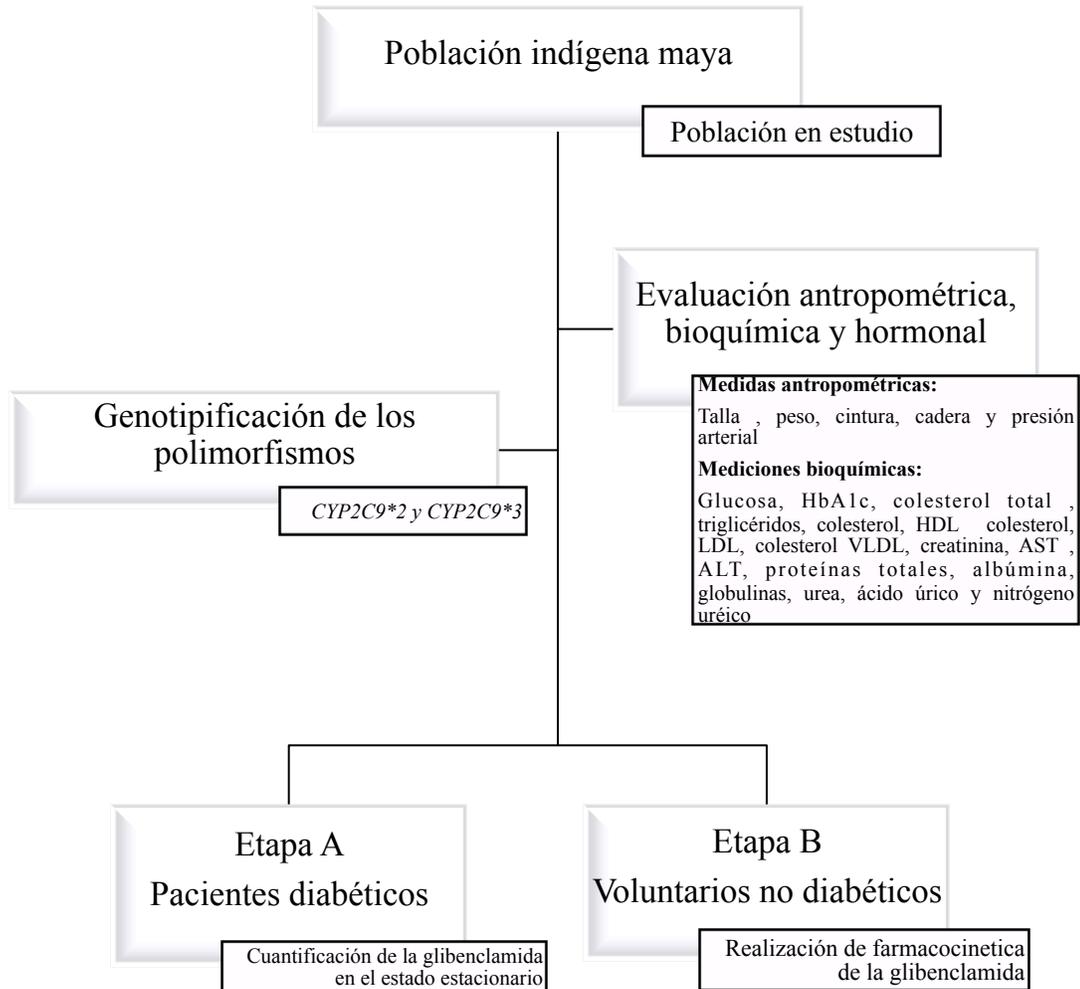


Figura 4. Diagrama general de trabajo

## Población de estudio

Se evaluaron 191 adultos indígenas no relacionados provenientes del estado Yucatán. El trabajo de campo fue realizado en el centro de salud de los poblados de Cuzama, Papacal, Sabbaché, San José Oriente y Xocén (Figura 5). De cada participante se registraron medidas antropométricas, se realizó una toma de muestra sanguínea (10ml) para la realización de determinaciones bioquímicas y extracción de ADN para la posterior genotipificación de los polimorfismos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*. Finalmente, a cada individuo se le realizó un cuestionario para conocer la frecuencia de alimentos y antecedentes de DT2. Los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas fueron entregadas a cada voluntario.

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Juárez de México. Todos los individuos incluidos en el estudio fueron informados del propósito y objetivo del mismo, para el cual firmaron una carta de consentimiento informado (ANEXO 1).

## Criterios de inclusión

Los 191 participantes fueron incluidos en el estudio bajo los siguientes criterios:

1. Mayores de 18 años
2. Criterio lingüístico
3. Sus padres y abuelos hayan habitado en la misma región
4. No consumir fármacos de abuso, ni tener antecedentes de alcoholismo
5. Consentimiento informado firmado

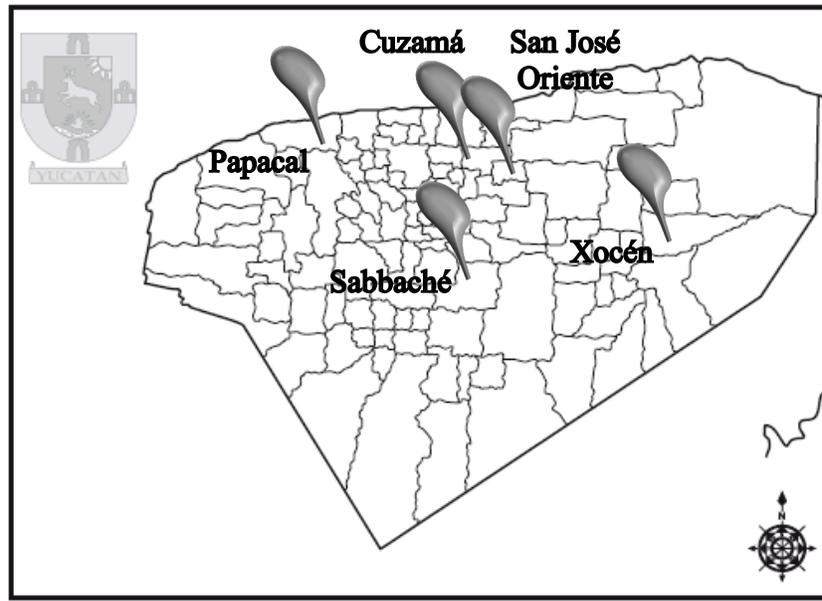


Figura 5. Localización geográfica de los poblados incluidos en el estudio

### Determinación de datos antropométricos

A cada individuo se le midió la cintura (cm), la cadera (cm), se registró el peso (Kg) y la talla (m), después se calculó el índice de masa corporal (IMC) mediante la fórmula de Bray que divide el peso entre el cuadrado de la talla ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ) e índice cintura cadera (ICC) dividiendo la medida de la cintura entre la cadera. La presión arterial fue evaluada mediante baumanómetros digitales.

### Determinación del perfil bioquímico

A cada participante se le extrajo una muestra de sangre periférica de aproximadamente 5 ml en un tubo sin anticoagulante y gel separador con la finalidad de obtener el suero de cada individuo. A cada persona se le indicó que estuvieran en ayuno de 10 a 12 horas. La concentración sérica glucosa, colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, colesterol LDL, creatinina, AST, ALT, proteínas totales, albúmina, urea y ácido úrico se midieron a través de métodos enzimático-colorimétricos de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Las pruebas fueron realizadas en el laboratorio central del Hospital Juárez de México

## Extracción de ADN

Una muestra aproximadamente de 5 ml de sangre periférica se tomó a cada individuo en un tubo con EDTA. El aislamiento de ADN genómico se realizó utilizando una modificación del método de purificación “salting out” reportado por Miller<sup>(63)</sup>. El ADN fue obtenido a partir de leucocitos de la sangre total, los cuales se obtuvieron por purificación previa y por centrifugación en gradientes de densidad. Finalmente, el ADN se obtuvo mediante precipitación en presencia de etanol frío y disuelto en agua ultra pura.

El ADN aislado se cuantificó mediante espectroscopia UV. Para conocer la pureza con base a la relación de absorbancia a 260 y 280 nm. Se evaluó la integridad del ADN a través de electroforesis en geles de agarosa al 1% revelado con bromuro de etidio.

## Genotipificación de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*

La evaluación molecular se llevó a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR). Se utilizaron sondas Taq-Man validadas (C\_\_25625805\_10 para *CYP2C9\*2* y C\_\_27104892\_10 para *CYP2C9\*3*), en el equipo Applied Biosystems® ViiA™ 7 Real-Time PCR System y el software de discriminación alélica de Applied Biosystems®. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: una etapa de desnaturalización inicial de 10 minutos a 95° C, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 92°C durante 15 segundos y una etapa de alineamiento a 60°C durante 1 minuto. En la Tabla 3, se muestra cómo se identificó a la población con base al genotipo resultante.

Tabla 3. Identificación del genotipo

Alelo	Genotipo	Cambio de base	Identificación
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	Homocigoto (wt): <i>CYP2C9*1</i>	C/C	*1 / *1
	Heterocigoto	C/T	*1 / *2
	Homocigoto para la variante	T/T	*2 / *2
<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	Homocigoto (wt): <i>CYP2C9*1</i>	A/A	*1 / *1
	Heterocigoto	A/C	*1 / *3
	Homocigoto para la variante	C/C	*3 / *3

Abreviaturas: wt: genotipo silvestre

## Evaluación fenotípica de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*

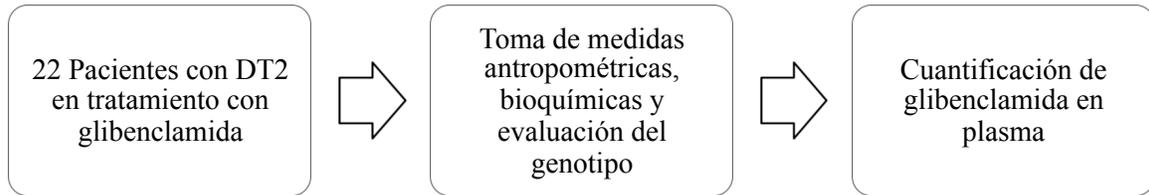
Para la evaluación fenotípica de las variantes en estudio, el trabajo se dividió en dos etapas: Etapa A y Etapa B.

A partir de la población estudiada de 191 individuos con el genotipo *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* previamente determinado, en la Etapa A se evaluaron dos grupos de pacientes con DT2 bajo tratamiento con glibenclamida, para cuantificar concentraciones del fármaco en el estado estacionario ( $C_{EE}$ ). Se habla de una  $C_{EE}$  cuando la velocidad de ingreso de un fármaco es igual a la velocidad de salida en el organismo <sup>(64)</sup>. En la Etapa B se seleccionó un grupo de tres voluntarios para administrarles una dosis única de glibenclamida (5mg) para realizar la farmacocinética del fármaco. En ambas etapas se consideró el genotipo de los individuos para las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*.

### *Etapa A: Evaluación del estado estacionario de la glibenclamida en pacientes con DT2*

Como muestra la Figura 6, de la población estudiada, se evaluaron dos grupos de pacientes con DT2 bajo tratamiento con glibenclamida. En el Grupo 1 sólo se hizo una nueva visita a la población de Xocén. Los pacientes se seleccionaron de esta comunidad, cuya ventaja era estar concentrados en una solo poblado, lo cual elimina la variabilidad en torno al medio ambiente. Asimismo, el centro de salud de la comunidad lleva un control de los pacientes. Con base a los resultados obtenidos, explicados más adelante, se decidió hacer una nueva visita al mismo poblado para integrar el Grupo 2, al cual se le realizó un seguimiento farmacológico durante un mes. Este seguimiento constó de tres visitas (a los días: 0, 15 y 30). Al inicio y al final del seguimiento se tomaron muestras para la cuantificación de glibenclamida en plasma. Estos pacientes ya tenían por prescripción médica previo tratamiento con glibenclamida. Para el cumplimiento de este objetivo, a los pacientes se les otorgó un formato (ANEXO 2) para el registro diario de la administración del medicamento, la glibenclamida fue otorgada por el centro de salud del poblado. Es importante mencionar que la muestra sanguínea para la cuantificación de la glibenclamida, se tomó antes de la administración de la siguiente dosis del fármaco.

### Grupo 1



### Grupo 2

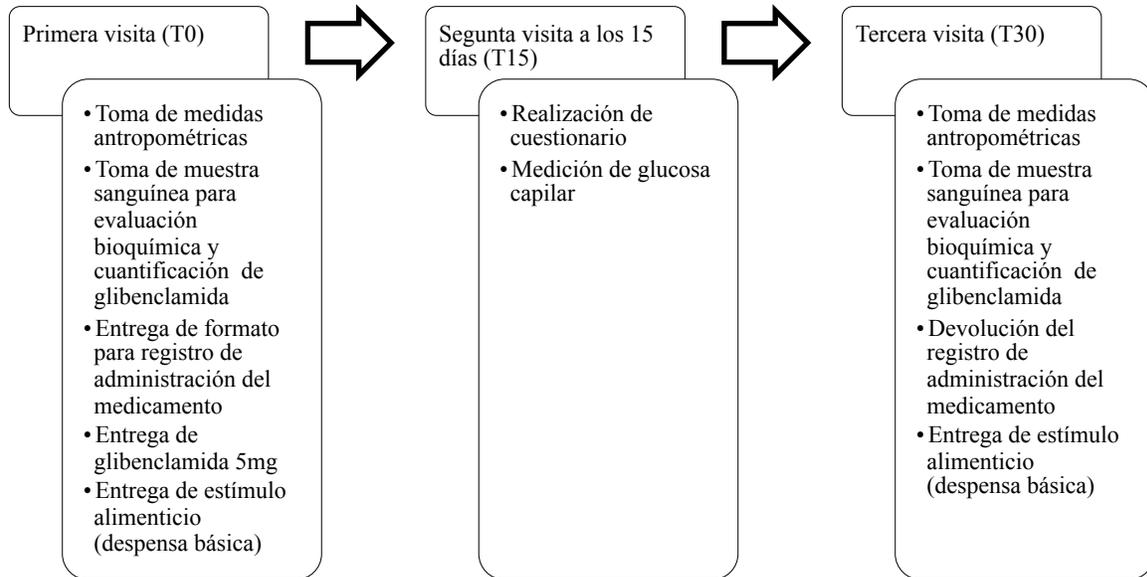


Figura 6. Esquema general de trabajo para la evaluación de la  $C_{EE}$  de la glibenclamida en pacientes con DT2: Etapa A

#### Criterios de inclusión

1. Mayores de 18 años
2. Criterio lingüístico
3. Sus padres y abuelos hayan habitado en la misma región
4. No consumir fármacos de abuso, ni tener antecedentes de alcoholismo
5. Personas con previo diagnóstico de DT2
6. Pacientes bajo tratamiento con glibenclamida 5mg
7. No presentar falla renal o hepática
8. Historias clínicas con datos completos
9. Consentimiento informado firmado

*Etapa B: Realización de la prueba farmacocinética*

Los candidatos a esta evaluación dentro de la población de estudio se seleccionaron bajo los siguientes criterios de inclusión:

1. Mayores de 18 años y menores de 55 años
2. Criterio lingüístico
3. Sus padres y abuelos hayan habitado en la misma región
4. No consumir fármacos de abuso, ni tener antecedentes de alcoholismo
5. Personas con valores bioquímicos y antropométricos normales
6. No haber estado bajo tratamiento farmacológico en las tres últimas semanas anteriores al estudio
7. No presentar falla renal o hepática
8. Historias clínicas con datos completos
9. Consentimiento informado firmado
10. Individuos previamente genotipados para las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*

Sólo se consideró el genotipo heterocigoto al no encontrar en la población homocigotos para las variantes en estudio. El genotipo de los tres participantes fue el siguiente:

**Voluntario 1: Homocigoto *CYP2C9\*1* (\*1/\*1)**

**Voluntario 2: Heterocigoto *CYP2C9\*2* (\*1/\*2)**

**Voluntario 3: Heterocigoto *CYP2C9\*3* (\*1/\*3)**

Para realizar la prueba se mantuvieron a los voluntarios durante 12 horas en el centro de salud de Xocén, Valladolid y se les hizo un último llamado 24 horas posteriores a la administración del medicamento. Los voluntarios acudieron el día de la prueba funcional en ayunas y se les revisó la temperatura corporal, pulso, presión arterial, frecuencia respiratoria, oximetría capilar y fondo de ojo. Se administró de una dosis única de 5.0 mg de glibenclamida y una solución de glucosa al 20% (60 ml). En caso necesario hubo una administración posterior de solución de glucosa, si las concentraciones de ésta eran

menores a 75 mg/dl, ello con la finalidad de evitar un evento hipoglucémico en los participantes.

Se tomaron muestras de 5 ml de sangre a los siguientes tiempos: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 y 24 horas. El desayuno y la comida se les proporcionó a las 4 y 8 horas posteriores a la administración del medicamento, respectivamente. Los signos vitales de los voluntarios se monitorearon durante todo el estudio, así como el reporte de reacciones adversas. Se registraron los tiempos de muestreo de cada toma de muestra sanguínea y la concentración de glucosa (ANEXO 3).

### Cuantificación de glibenclamida por HPLC/MS/MS

La extracción de glibenclamida a partir del plasma se llevó a cabo mediante una extracción líquido-líquido con éter-diclorometano (70:30 v/v). Posterior a ello, la cuantificación del analito se realizó por cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplado a espectrometría de masas en tándem (HPLC MS/MS) en un equipo Applied Biosystems modelo API 3000. En el ANEXO 4 se especifican las condiciones cromatográficas y de espectrometría de masas. Cada muestra se cuantificó por duplicado. En los resultados se reporta el promedio de los datos. La Figura 7 resume el proceso de cuantificación de glibenclamida. Para la validación del método analítico se realizaron pruebas de linealidad, repetibilidad, acarreo, cross talk y selectividad.

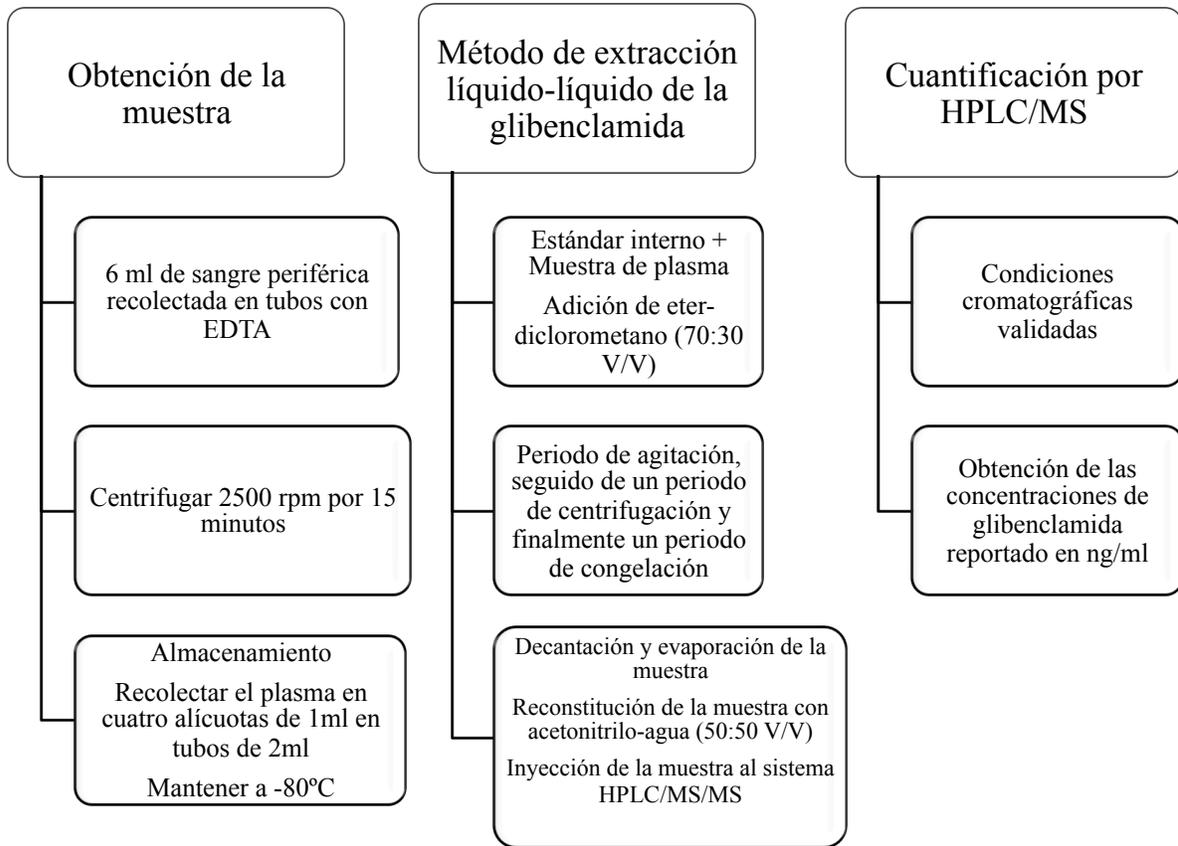


Figura 7. Cuantificación de glibenclamida por HPLC/MS/MS

## Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de la población de estudio incluyendo todas las variables determinadas (antropométricas y bioquímicas), se realizaron las pruebas de normalidad utilizando las pruebas de Shapiro Wilk o Kolmogorov Smirnov. La mayoría de las variables no pasaron las pruebas de normalidad, por lo que se decidió expresarlas con la mediana y los cuartiles 25 y 75 ( $Q_1$  y  $Q_2$ , respectivamente). Los grupos de estudio se compararon mediante una prueba de t-student o U de Mann Whitney y para la comparación de tres grupos se utilizó una prueba ANOVA o Kruskal Willis. Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas. El equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó comparando las frecuencias genotípicas observadas y el valor de las frecuencias esperadas usando utilizando la prueba estadística Chi cuadrada ( $X^2$ ). Para las comparaciones entre frecuencias alélicas se utilizó la prueba exacta de Fisher. Los análisis fueron realizados con el programa R.

Para el análisis farmacocinético se utilizó un modelo farmacocinético no compartimental. Los parámetros farmacocinéticos calculados fueron los siguientes: constante de eliminación ( $k_e$ ), concentración máxima de absorción ( $C_{max}$ ), tiempo máximo de absorción ( $T_{max}$ ), tiempo de vida media ( $T_{1/2}$ ), área bajo la curva de tiempo 0h a tiempo 24h  $ABC_{0-n}$ , área bajo la curva de tiempo 0h a tiempo infinito  $ABC_{0-inf}$ , tiempo medio de residencia (TMR), volumen de distribución ( $V_d/F$ ) y aclaramiento ( $CL/F$ ) utilizando el programa WinNon Lin, versión 3.1.

## Resultados

### Descripción general de la población de estudio

En la Tabla 4 se muestran los datos bioquímicos y antropométricos de los 191 participantes en el estudio. Con base a los cuestionarios realizados se clasificó a los participantes en individuos con y sin diabetes de acuerdo con lo referido por cada individuo. Para el análisis se eliminaron dos muestras ya que no se contaba con la información completa. Quedando con un tamaño de muestra de 189. Los parámetros de índice cintura-cadera para mujeres, glucosa, colesterol y triglicéridos muestran diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos de estudio. Sin embargo, las variables edad y presión arterial sistólica tienen una significancia de 0.059 y 0.054 respectivamente, por lo tanto se encuentran como valores limítrofes.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos de la población indígena de Yucatán

Parámetro	No diabéticos n=121		Diabéticos n=68		P	Valor de referencia
	Mediana (Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )		Mediana (Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )			
Mujeres/Hombres	92 (76%) / 29 (24%)		56 (82.3%) / 12 (17.7%)			
Edad	43.0	(34.0, 59.0)	54.0	(46.6, 63.5)		
ICC						
Mujeres	<b>0.93</b>	(0.89, 0.97)	<b>0.96</b>	(0.93, 1.00)	0.002	<0.85 <sup>(65)</sup>
Hombres	0.95	(0.89, 0.97)	0.95	(0.93, 1.00)		<0.90 <sup>(65)</sup>
IMC	28.2	(24.9, 33.2)	28.6	(25.7, 31.0)		<25 kg/cm <sup>2</sup> <sup>(66)</sup>
PAD	79.0	(73.0, 86.0)	80.0	(74.0, 79.0)		<120 mmHg
PAS	124	(116, 139)	132	(120, 146)		< 80 mmHg
Glucosa	<b>90.0</b>	(80.0, 96.0)	<b>134.0</b>	(99.5, 163.1)	5.939x10 <sup>-12</sup>	<100 mg/dl <sup>(67)</sup>
Colesterol total	<b>140</b>	(122, 162)	<b>158</b>	(131, 179)	0.006	<200 mg/dl <sup>(68)</sup>
Triglicéridos	<b>109</b>	(90.0, 160)	<b>137</b>	(109, 195)	0.002	<150 mg/dl <sup>(68)</sup>
Colesterol HDL	44.4	(38.4, 48.5)	41.2	(35.9, 49.9)		>50 mg/dl <sup>(68)</sup>
AST	28.0	(25.0, 31.0)	25.0	(22.5, 30.0)		4 – 40 mg/dl <sup>a</sup>
ALT	19.7	(15.5, 21.0)	15.0	(13.0, 21.5)		10 – 50 mg/dl <sup>a</sup>
Creatinina	0.70	(0.50, 0.77)	0.70	(0.61, 0.80)		0.5 – 1.3 mg/dl <sup>a</sup>
Ácido úrico	3.90	(3.20, 4.70)	3.80	(2.80, 4.53)		2.5 – 6.0 mg/dl <sup>a</sup>
Urea	21.0	(17.0, 29.0)	24.0	(19.0, 32.0)		10.0 -50.0 mg/dl <sup>a</sup>
Nitrógeno ureico	10.0	(8.00, 13.5)	11.0	(9.00, 15.0)		9.0 – 23.0 mg/dl <sup>a</sup>

Abreviaturas: n: número de individuos; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura/cadera; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; kg: kilogramos; cm<sup>2</sup>: centímetro cuadrado; mg: miligramos y dl: decilitro. Nivel de significancia P < 0.05. a: valores de referencia son pertenecientes al Hospital Juárez de México.

## Evaluación genética en la población de estudio

Las frecuencias alélicas y genotípicas para la población indígena Maya se muestran en la Tabla 5. Ambos polimorfismos se encontraron presentes en la población de estudio. Los genotipos homocigotos para las variantes en estudio (\*2/\*2 y \*3/\*3) no fueron observados en la población. Para ambas variantes no se encontraron desviaciones significativas en las proporciones de Hardy-Weinberg. Posteriormente, se realizó una comparación de las frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* entre la población de estudio y la frecuencia reportada previamente (0.010 y 0.028, respectivamente) <sup>(62)</sup>, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6).

Tabla 5. Frecuencias genotípicas y alélicas para los polimorfismos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en comunidades indígenas de Yucatán: Sabbaché, San José Oriente, Cuzamá, Papacal y Xocén.

SNP	Genotipo <i>CYP2C9</i>	Población indígena Maya n=189				
		n	Frecuencia genotípica	Frecuencia Alélica	IC 95%	
<b><i>CYP2C9*2</i></b> <i>rs1799853</i>	(*1/*1)	183	0.968	C(*1)	0.984	0.969-0.997
	(*1/*2)	6	0.032	T(*2)	0.016	0.003-0.028
	(*2/*2)	0	0.000			
<b><i>CYP2C9*3</i></b> <i>rs1057910</i>	(*1/*1)	183	0.968	A(*1)	0.984	0.969-0.996
	(*1/*3)	6	0.032	C(*3)	0.016	0.004-0.031
	(*3/*3)	0	0.000			

Abreviaturas: n: número de individuos; IC: intervalo de confianza

Tabla 6. Equilibrio de Hardy-Weinberg y comparación de las frecuencias alélicas

SNP	Equilibrio de HW		Alelo	Frecuencia alélica		$\rho^2$
	$\chi^2$	$\rho^1$		Este estudio	Reportado previamente <sup>(62)</sup>	
<b><i>CYP2C9*2</i></b> <i>rs1799853</i>	0.052	0.660	*1	0.984	0.990	0.534
			*2	0.016	0.010	
<b><i>CYP2C9*3</i></b> <i>rs1057910</i>	0.052	0.660	*1	0.984	0.972	0.332
			*3	0.016	0.028	

Abreviaturas: X2: prueba estadística de chi cuadrado, 1 p<0.05; 2 p <0.05 prueba exacta de Fisher

## Etapa A: Evaluación de la glibenclamida en el estado estacionario en pacientes con DT2

Se identificó a una población de 42 pacientes diabéticos en tratamiento farmacológico con glibenclamida 5mg, considerando a los dos grupos de estudio (descritos en la metodología) provenientes de la comunidad de Xocén, Valladolid, Yucatán. En la Tabla 7 se muestran los parámetros bioquímicos y antropométricos. El 83.3% y 52.4% de los pacientes tienen concentraciones de hemoglobina glicosilada (HbA1c) y glucosa por arriba de los valores de recomendados por la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010: para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Se encontraron 41 pacientes portadores del genotipo (\*I/\*I) y un paciente con el genotipo heterocigoto (\*I/\*2).

Tabla 7. Valores antropométricos y bioquímicos de la población diabética

Parámetro	Mediana (Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )	Valores de referencia-unidades
Mujeres/Hombres	31 (73.8%) / 11 (26.2%)	NA
Edad	57.5 (48.3, 65.5)	NA-Años
Peso	62.50 (54.2, 68.8)	NA-Kg
Talla	1.44 (1.41, 1.48)	NA-m
IMC	29.0 (26.6, 31.8)	Normal < 25 Kg/cm <sup>2</sup> Sobrepeso 25-30 Kg/cm <sup>2</sup> Obesidad > 30 Kg/cm <sup>2</sup>
Cintura		
Mujeres	93.0 (88.0, 103)	NA-cm
Hombres	90.5 (86.0, 92.0)	
Cadera		
Mujeres	96.0 (96.0, 102.0)	NA-cm
Hombres	96.0 (94.0, 104)	
ICC		
Mujeres	0.96 (0.92, 0.99)	Mujeres < 0.85
Hombres	0.94 (0.89, 0.99)	Hombres < 0.90
PAS	134 (122, 149)	<120 mmHg
PAD	83.0 (75.0, 91.0)	< 80 mmHg
HbA1c	8.75 (7.25, 11.1)	< 7%
Glucosa	138 (106, 170)	70 – 130 mg/dl
Nitrógeno ureico	10.0 (9.00, 12.0)	9 – 23 mg/dl
Urea	21.0 (19.0, 26.0)	10 – 50 mg/dl
Creatinina	0.66 (0.56, 0.75)	0.5 – 1.3 mg/dl

Tabla 7. Continuación

Parámetro	Mediana (Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )	Valores de referencia-unidades
Ácido úrico	3.80 (3.13, 4.30)	2.5 – 6 mg/dl
Colesterol total	160 (143, 182)	< 200 mg/dl
Triglicéridos	161 (126, 226)	<150 mg/dl
Colesterol HDL	41.6 (36.8, 47.3)	> 50 mg/dl
Colesterol VLDL	32.0 (25.0, 46.8)	< 50 mg/dl
Colesterol LDL	100 (85.8, 114)	< 100 mg/dl
Proteínas totales	7.30 (6.93, 7.78)	5.7 – 8.2 mg/dl
Albumina	4.00 (3.83, 4.30)	3.2 – 4.8 mg/dl
AST	24.5 (21.3, 29.0)	4 – 40 mg/dl
ALT	16.0 (12.3, 20.8)	10 – 50 mg/dl

Abreviaturas: NA: no aplica; Q<sub>1</sub>: cuartil 25; Q<sub>3</sub>: cuartil 75; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura/cadera; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; kg: kilogramos; cm<sup>2</sup>: centímetro cuadrado; mg: miligramos y dl: decilitro; HbA1c: hemoglobina glicosilada

### Concentraciones de glibenclamida en pacientes con DT2 del Grupo 1

Sólo en el 27.8% de la población del Grupo 1 se detectaron concentraciones de glibenclamida, el promedio fue de  $213 \pm 244$  ng/ml. Como se observa en la Figura 8, existe una variabilidad en las concentraciones de glibenclamida en los pacientes estudiados. Cabe destacar que todos los individuos de este grupo portan el genotipo (*\*1/\*1*), debido a que no fue posible captar a pacientes portadores de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*.

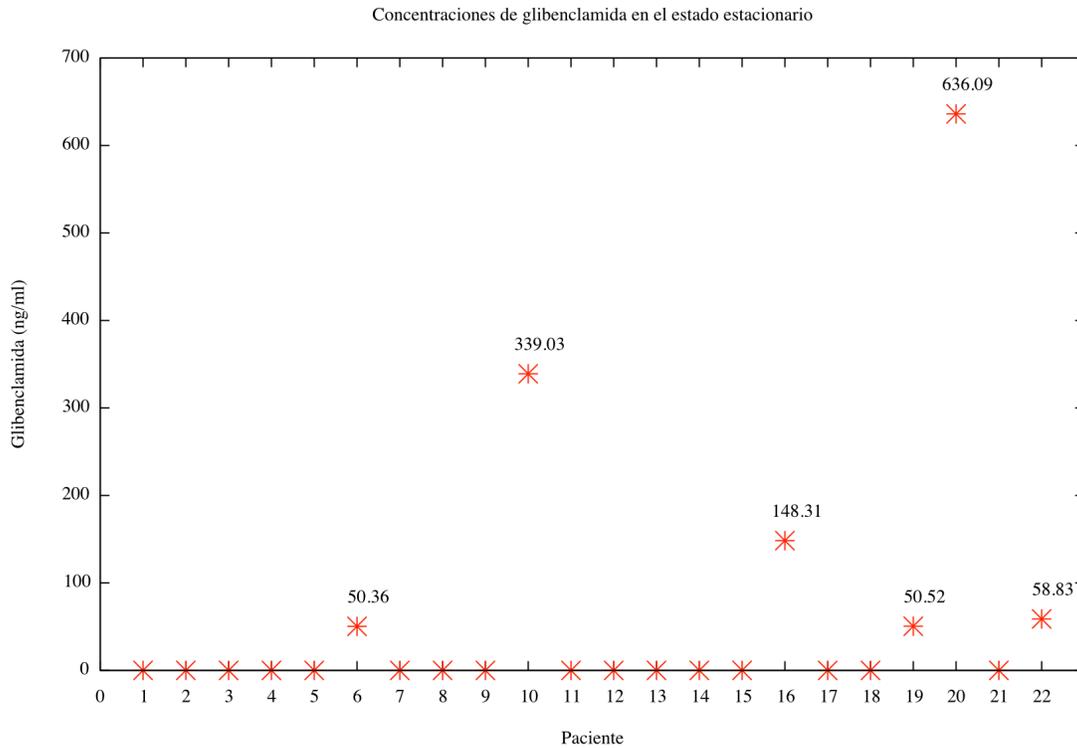


Figura 8. Concentraciones de glibenclamida en los pacientes con DT2 del grupo 1

Las datos antropométricos y bioquímicos del grupo uno se muestran en la Tabla 8. El 36.36%, 22.73% y 68.18% de la población tiene sobrepeso, obesidad y obesidad central, respectivamente. Por otro lado, adicional al tratamiento para DT2, el 42.45% de esta población toma algún medicamento para el control de la hipertensión, a pesar de ello la población tenía valores por arriba de los valores de referencia de presión arterial sistólica y/o diastólica. Se puede observar un descontrol metabólico de estos pacientes con base en las concentraciones de glucosa y HbA1c. La población en general muestra una función renal y hepática adecuada de acuerdo con sus concentraciones de creatinina y transaminasas.

Tabla 8. Valores antropométricos y bioquímicos de la población diabética: GRUPO 1

Parámetro	Mediana (Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )	Valores de referencia-unidades
Mujeres/Hombres	15/7	NA
Edad	63.00 (53.00, 68.00)	NA-Años
Peso	59.60 (52.00, 65.60)	NA-Kg
Talla	1.44 (1.41, 1.52)	NA-m
IMC	27.78 (24.91, 30.59)	Normal < 25 Kg/cm <sup>2</sup> Sobrepeso 25-30 Kg/cm <sup>2</sup> Obesidad > 30 Kg/cm <sup>2</sup>
Cintura		
Mujeres	91.00 (83.00, 93.00)	
Hombres	88.80 (79.75, 92.50)	NA-cm
Cadera		
Mujeres	94.00 (90.00, 100.00)	
Hombres	96.00 (92.00, 99.00)	NA-cm
ICC		
Mujeres	0.96 (0.92, 0.99)	Mujeres < 0.85
Hombres	0.94 (0.89, 0.99)	Hombres < 0.90
PAS	136.00 (118.00, 147.00)	<120 mmHg
PAD	78.00 (73.00, 88.00)	< 80 mmHg
HbA1c	8.20 (7.20, 10.20)	< 7%
Glucosa	185.00 (136.00, 249.50)	70 – 130 mg/dl
Nitrógeno ureico	13.50 (10.00, 15.00)	9 – 23 mg/dl
Urea	29.00 (21.00, 32.00)	10 – 50 mg/dl
Creatinina	0.77 (0.64, 0.82)	0.5 – 1.3 mg/dl
Ácido úrico	4.05 (2.80, 5.15)	2.5 – 6 mg/dl
Colesterol total	173.00 (148.20, 179.20)	< 200 mg/dl
Triglicéridos	153.00 (155.00, 199.20)	<150 mg/dl
Colesterol HDL	42.65 (36.66, 51.75)	> 50 mg/dl
Colesterol VLDL	30.50 (22.75, 39.50)	< 50 mg/dl
Colesterol LDL	104.20 (93.60, 123.90)	< 100 mg/dl
Proteínas totales	7.40 (7.03, 7.70)	5.7 – 8.2 mg/dl
Albumina	4.30 (4.03, 4.48)	3.2 – 4.8 mg/dl
AST	26.00 (20.00, 31.00)	4 – 40 mg/dl
ALT	16.00 (13.00, 22.00)	10 – 50 mg/dl

Abreviaturas: n: número de individuos; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura/cadera; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; kg: kilogramos; cm<sup>2</sup>: centímetro cuadrado; mg: miligramos y dl: decilitro; HbA1c: hemoglobina glicosilada

Concentraciones de glibenclamida en pacientes del Grupo 2: Seguimiento farmacológico

Con base en los resultados anteriores se identificó un alto grado de desapego al tratamiento farmacológico por lo que se decidió realizar un seguimiento farmacológico en un periodo de un mes en pacientes diabéticos para monitorearlos y fomentar un mayor apego al tratamiento con glibenclamida. En la Tabla 9, se muestran los datos antropométricos y bioquímicos al inicio (T0) y a los treinta días (T30) de seguimiento farmacológico. Para el día T30 se descartaron dos pacientes que no acudieron a la toma de muestra.

Se observa que los parámetros bioquímicos de nitrógeno ureico, creatinina, colesterol total, colesterol HDL y LDL tienen un aumento significativo al término del seguimiento farmacológico. Sin embargo, estas concentraciones se mantienen dentro de los valores de referencia establecidos. Cabe destacar que no se observaron diferencias significativas para los datos antropométricos y glucosa.

Tabla 9. Valores antropométricos y bioquímicos en el periodo de un mes de tratamiento farmacológico: GRUPO 2

Parámetro	T1	T30	Unidades
	Mediana (Q <sub>1</sub> ,Q <sub>3</sub> )	Mediana (Q <sub>1</sub> ,Q <sub>3</sub> )	
Mujeres/Hombres	20/4	18/4	
Edad	50.0 (44.0, 56.0)	50.0 (44.0, 56.0)	NA-Años
Peso	61.2 (54.4, 73.0)	61.5 (56.6, 73.7)	NA-Kg
Talla	1.44 (1.41, 1.47)	1.44 (1.41, 1.47)	NA-m
IMC	29.49 (26.9, 33.2)	30.1 (27.9, 34.1)	Normal < 25 Kg/cm <sup>2</sup> Sobrepeso 25-30 Kg/cm <sup>2</sup> Obesidad > 30 Kg/cm
Cintura			
Mujeres	93.5 (87.8, 104)	93.5 (88.0, 99.8)	
Hombres	93.0 (91.3, 99.3)	97.00 (93.5, 103)	NA-cm
Cadera			
Mujeres	97.0 (93.8, 106)	93.5 (91.3, 107)	
Hombres	101 (94.8, 107.8)	101 (96, 107)	NA-cm
ICC			
Mujeres	0.98 (0.92, 0.99)	0.98 (0.94, 1.01)	Mujeres < 0.85
Hombres	0.96 (0.93, 1.00)	0.96 (0.93, 0.99)	Hombres < 0.90
PAS	144 (132, 151)	150 (141, 158)	<120 mmHg
PAD	87.5 (80.0, 97.0)	86.5 (81.0, 91.8)	< 80 mmHg
Hb1Ac	9.65 (7.80, 11.5)	NA	%
Glucosa	169 (123, 212)	165 (136, 221)	70 – 130 mg/dl
Nitrógeno ureico	9.50 (9.00, 12.00)	11.0 (10.0, 14.0)	9 – 23 mg/dl*



Urea	20.0 (19.0, 26.0)	24.0 (21.0, 30.0)	10 – 50 mg/dl
Creatinina	0.60 (0.53, 0.74)	0.75 (0.62, 0.91)	0.5 – 1.3 mg/dl*
Ácido úrico	3.65 (2.56, 4.33)	4.20 (3.30, 5.30)	2.5 – 6 mg/dl *
Colesterol total	162 (142, 180)	199 (175, 211)	< 200 mg/dl*
Triglicéridos	188 (126, 244)	180 (150, 219)	<150 mg/dl
Colesterol HDL	42.7 (37.3, 48.0)	52.5 (46.6, 55.1)	> 50 mg/dl*
Colesterol VLDL	39.0 (25.0, 54.3)	36.0 (30.0, 44.0)	< 50 mg/dl
Colesterol LDL	101.50 (89.1, 114)	128 (122, 153)	< 100 mg/dl*
AST	26.0 (22.8, 33.5)	30.0 (27.0, 41.0)	4 – 40 mg/dl
ALT	16.0 (14.5, 20.3)	18.0 (14.0, 26.0)	10 – 50 mg/dl

n: número de individuos; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura/cadera; kg: kilogramos; cm<sup>2</sup>: centímetro cuadrado; mg: miligramos; dl: decilitro; ng: nanogramos y ml: mililitro. \*P < 0.05 T0 vs T30

De acuerdo al seguimiento en el periodo de un mes, a los pacientes se les realizó una visita al día 0 (T0), día 15 (T15) y día 30 (T30) monitoreando en estas tres visitas sus concentraciones de glucosa. En la Tabla 10 se muestra el promedio de las concentraciones de glucosa clasificados con base a su genotipo. En la Figura 9 se observa que al día 15 las concentraciones de glucosa en la población se redujeron en promedio 14.2% respecto al día T0 y al día 30 nuevamente aumentaron las concentraciones 12.7% respecto al día T15, reflejo de una gran variación de las mismas en cada una de los días de seguimiento en los pacientes con genotipo *\*I/\*I*. Estos resultados arrojaron que el 29.2% de los pacientes disminuyeron sus concentraciones de glucosa al T30 incluyendo al paciente con genotipo *\*I/\*2*.

Tabla 10. Concentraciones de glucosa observadas a los días T0, T15 y T30 en los pacientes con genotipo *\*I/\*I* y *\*I/\*2*

Genotipo	n	Concentraciones de glucosa (mg/dl)		
		T0 ± DE	T15 ± DE	T30 ± DE
<i>*I/*I</i>	21	169.8 ± 72.18	145.4 ± 56.67	166.29 ± 77.06
<i>*I/*2</i>	1	189.0	153.0	120.0

Abreviaturas: n: número de individuos; T0: tiempo de inicio; T15: día 15 de tratamiento; T30: día 30 de tratamiento; DE: desviación estándar; mg: miligramos y dl: decilitro.

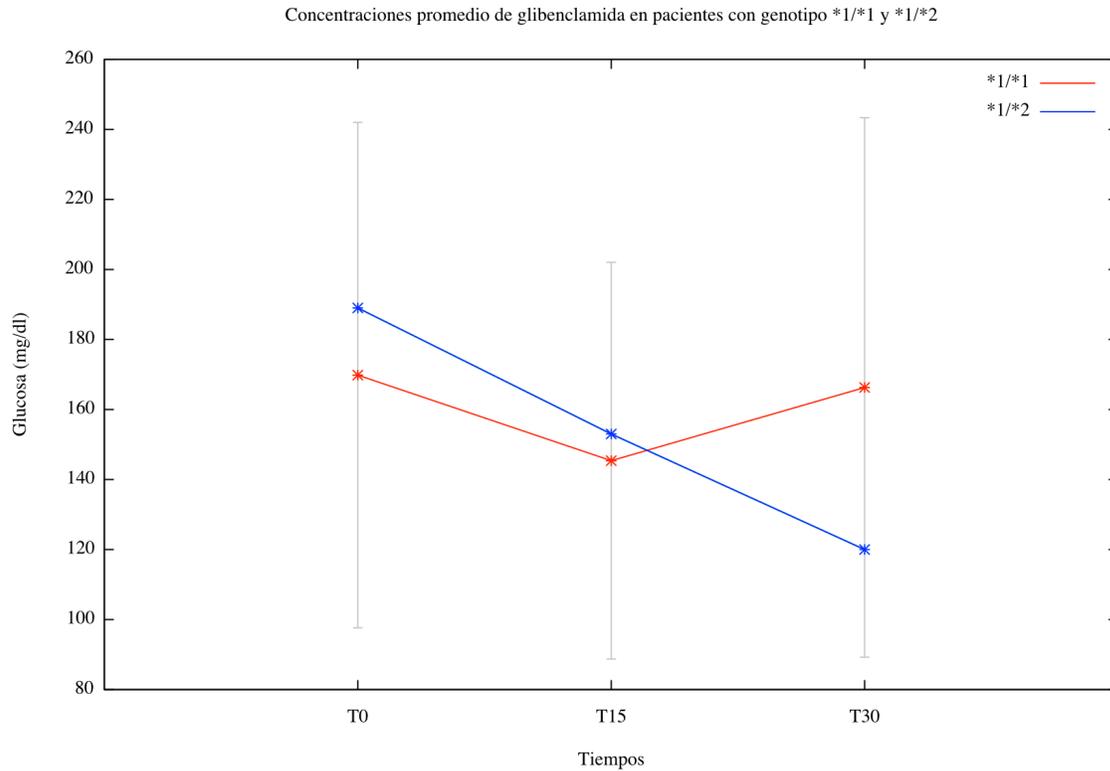


Figura 9. Representación de los promedios de concentración de glucosa durante las tres visitas al grupo 2

Al realizar un análisis sólo entre los pacientes que disminuyeron sus concentraciones de glucosa al día T30, se observa que existen diferencias estadísticamente significativas al comparar las concentraciones de glucosa al día T0 versus T15 y T30 (Figura 10). Este dato fue de gran ayuda para determinar que no toda la población llevó adecuadamente el seguimiento farmacológico, aún cuando se monitoreo a la población cada 15 días,. Por ello sólo se seleccionó de la población del Grupo 2, a cinco pacientes que estrictamente tuvieran una disminución de las concentraciones de glucosa a lo largo de los 30 días, incluyendo al portador del genotipo \*1/\*2, para cuantificar las concentraciones de glibenclamida en plasma.

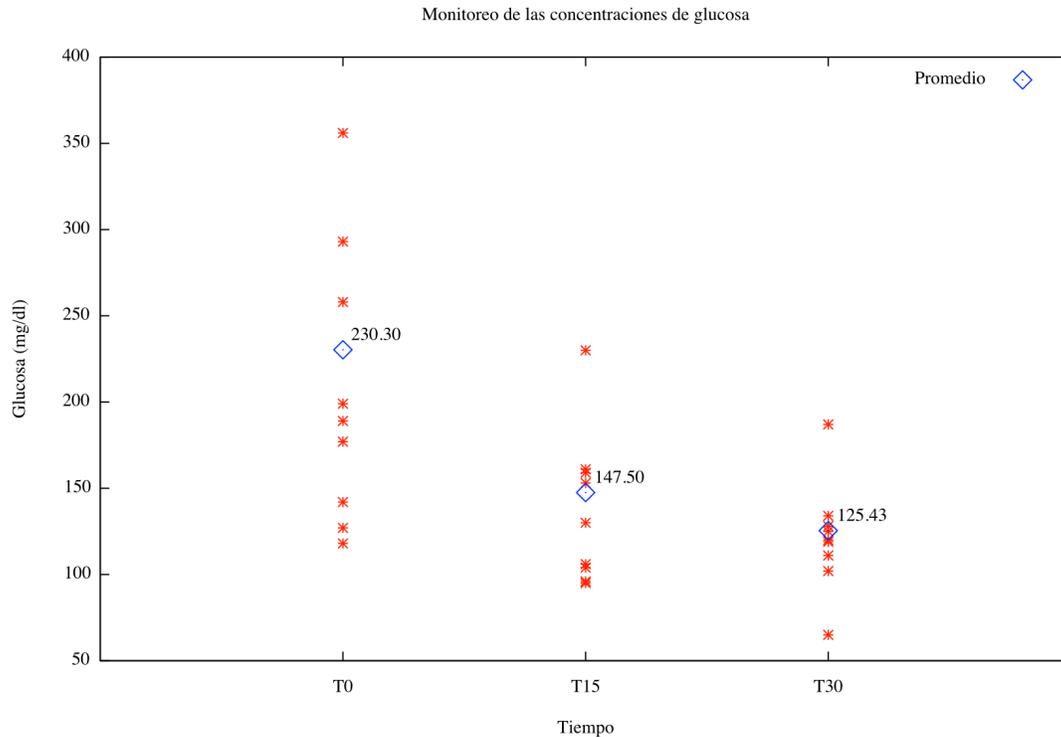


Figura 10. Pacientes que disminuyeron sus concentraciones de glucosa.  
\*p<0.05, test utilizado: Kruscal Wallis

La Tabla 11 y la Figura 11, muestran las concentraciones de glibenclamida en el estado estacionario de los cinco pacientes diabéticos seleccionados del Grupo 2. Todos los pacientes seleccionados al final del seguimiento tuvieron concentraciones de glibenclamida detectables, así como sus concentraciones de glucosa disminuyeron en un 44% en los treinta días de seguimiento farmacológico.

Tabla 11. Concentraciones de glibenclamida en los pacientes al inicio y término del seguimiento farmacológico

Genotipo	Paciente	Concentraciones de glibenclamida (ng/ml)	
		T0	T30
*1 / *1	1	0.00	179
	2	142	12.5
	3	0.00	16.6
	4	1.90	54.8
-----			
*1/*2	5	0.00	147

Abreviaturas: T0: tiempo de inicio; T30: día 30 de tratamiento; DE: desviación estándar; ng: nanogramos y ml: mililitro.

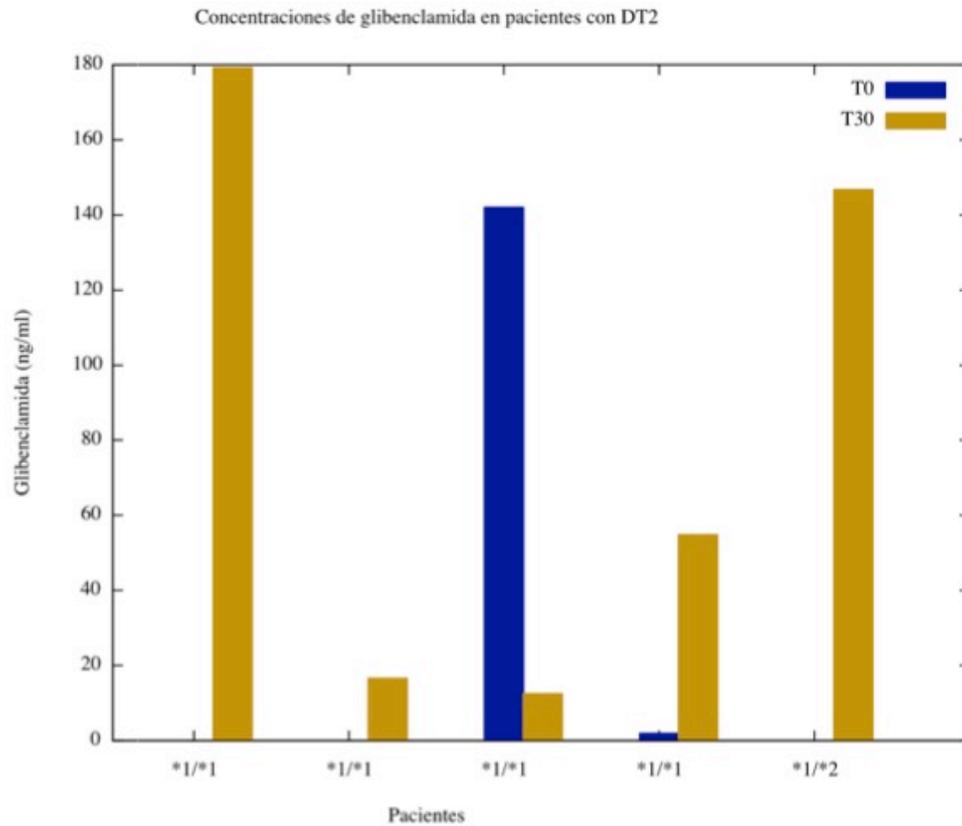


Figura 11. Concentraciones de glibenclamida en plasma a T0 y T30 en el estado estacionario

La Figura 12 conjunta a los pacientes del grupo 1 (n=6) y grupo 2 (n=5) al día T30 a los cuales se les detectó glibenclamida en plasma clasificados por el genotipo. Las concentraciones de glucosa en estos pacientes fueron de  $138.4 \pm 35.96$  mg/dl, al comparar esta concentración con el promedio de glucosa que tienen los pacientes que aparentemente no se toman el medicamento, la concentración de estos últimos es significativamente mayor ( $184.9 \pm 104.3$  mg/dl,  $p=0.041$ ).

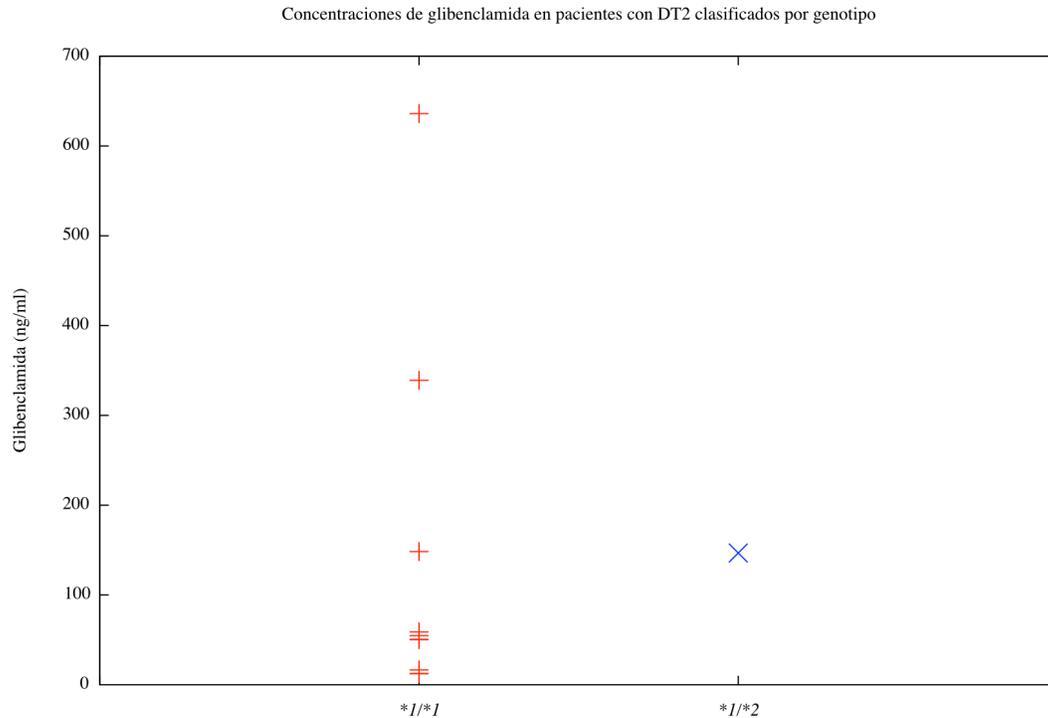


Figura 12. Concentración de glibenclamida en los pacientes con DT2

## Etapa B: Evaluación farmacocinética de la glibenclamida

Los voluntarios que acudieron a la prueba funcional presentaron signos vitales sin alteraciones antes, durante, al final y posterior a la prueba.

La Figura 13, muestra las concentraciones de glibenclamida contra el tiempo. Se observa que a las 8 horas posteriores a la administración del medicamento se incrementaron por segunda vez las concentraciones de glibenclamida en los voluntarios con genotipo  $*I/*I$  y  $*I/*2$ . Los parámetros farmacocinéticos fueron evaluados bajo un modelo no compartimental sin considerar este segundo pico de absorción a las 8 h (Figura 14). Con base a nuestros objetivos, nosotros quisimos determinar el grado de exposición después de la administración de la glibenclamida obteniendo los parámetros farmacocinéticos tales como  $k_e$ ,  $T_{1/2}$ , ABC y  $CL/F$  y  $V_d/F$ , por ello se decidió utilizar un modelo no compartimental, ya que este requiere de menos suposiciones que los enfoques basados en otros modelos.

En la Figura 14.1 las concentraciones de glibenclamida se expresan en escala logarítmica. Se puede observar con mayor claridad la diferencia entre las concentraciones de glibenclamida a las 24 horas de cada voluntario.

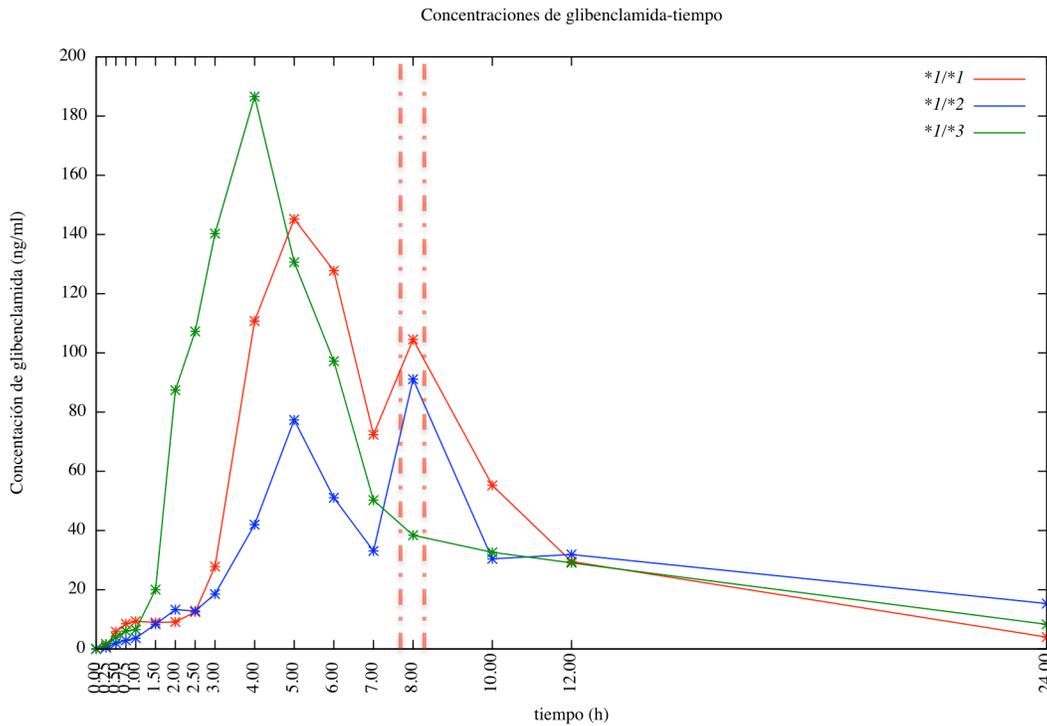


Figura 13. Concentración de glibenclamida vs tiempo

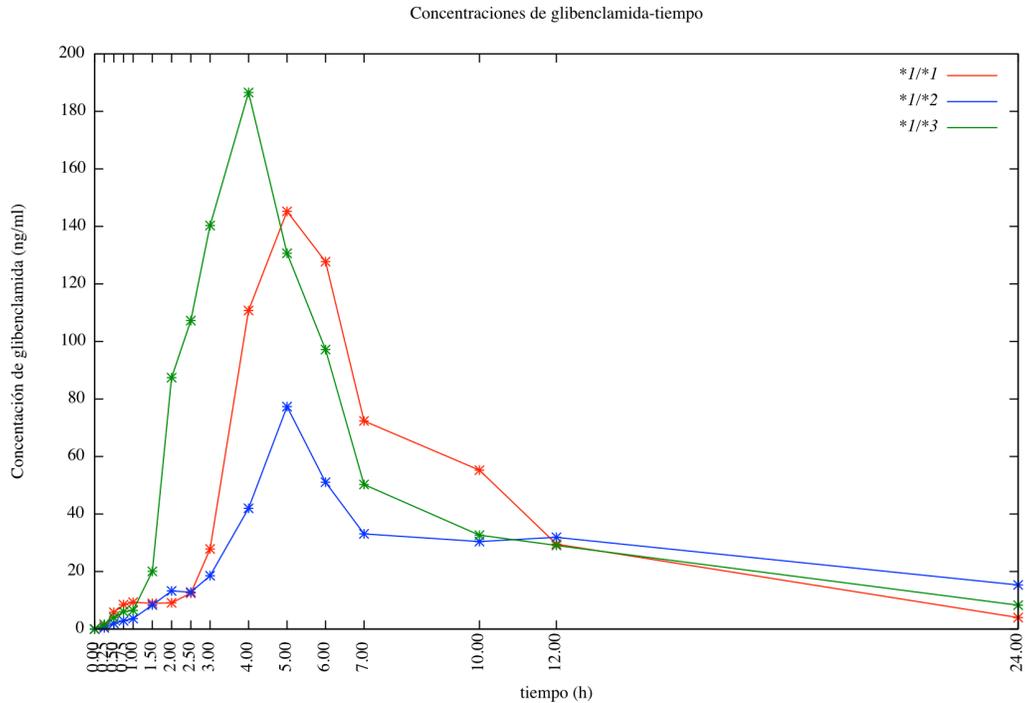


Figura 14. Gráfico de concentración de glibenclamide vs tiempo sin considerar el segundo pico de absorción a las 8 h

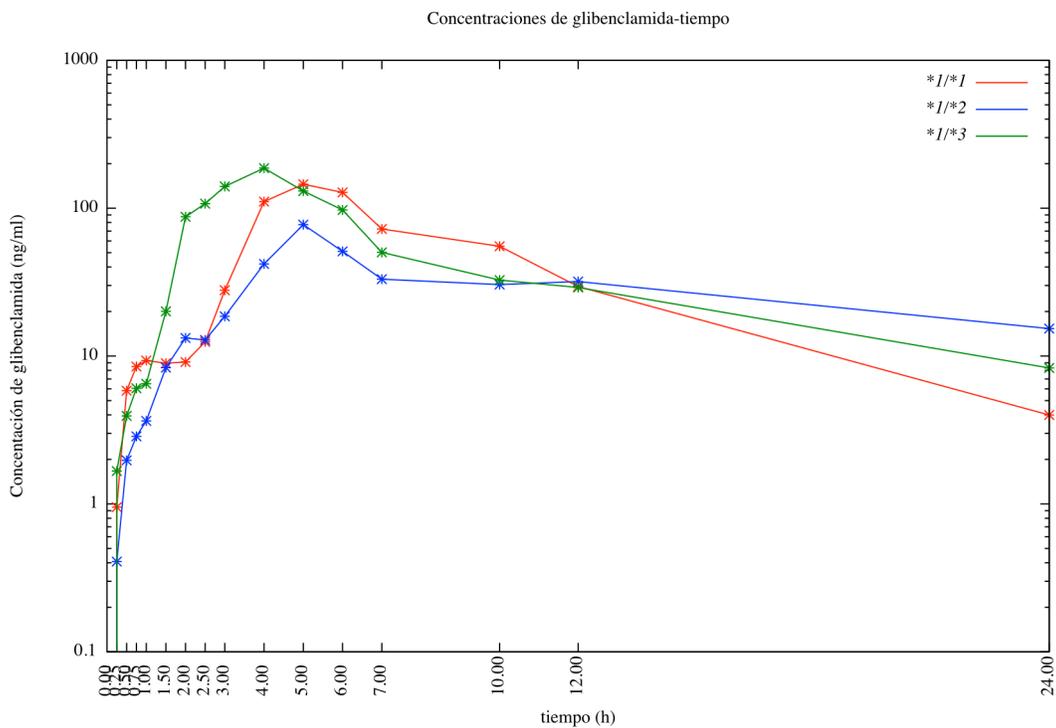


Figura 14.1 Gráfico de concentración de glibenclamide vs tiempo sin considerar el segundo pico de absorción a las 8 h en escala logarítmica.

### Evaluación de los parámetros farmacocinéticos

En la Tabla 12 se presenta un resumen de los parámetros farmacocinéticos de los tres voluntarios. El voluntario con genotipo *\*1/\*2* presentó el mayor tiempo de vida media, seguido del voluntario con genotipo *\*1/\*3* y finalmente *\*1/\*1*. Los voluntarios con el genotipo *\*1/\*1* y *\*1/\*2* tuvieron un tiempo máximo de absorción de 5 horas, el del voluntario con genotipo *\*1/\*3* fue de 4 h.

El voluntario *\*1/\*3* presentó un CL/F menor (4.355 l/h) de la glibenclamida comparado con el presentado por los individuos con genotipos *\*1/\*1* y *\*1/\*2* (5.189 y 5.088 l/h, respectivamente). Los individuos *\*1/\*2* y *\*1/\*3* tuvieron un tiempo medio de residencia mayores que el individuo *\*1/\*1*.

Dado que no fue una administración intravenosa, con el ABC no es posible determinar la biodisponibilidad. Sin embargo al dividir el  $ABC_{0-t}/ABC_{0-inf} * 100$ , en los voluntarios *\*1/\*1* y *\*1/\*3* el resultado es mayor al 80%, por lo tanto fue un muestreo adecuado para determinar el  $T_{1/2}$ .

Tabla 12. Parámetros farmacocinéticos de los voluntarios de acuerdo a su genotipo.

Parámetro farmacocinético	<i>CYP2C9*1</i> (C/C, A/A) <i>Sin t8</i>	<i>CYP2C9*2</i> (C/T) <i>Sin t8</i>	<i>CYP2C9*3 (A/C)</i> <i>Sin t8</i>	Unidades
ke	0.175	0.048	0.104	1/h
$T_{1/2}$	3.966	14.53	6.694	h
Tmax	5.000	5.000	4.000	h
Cmax	145.2	77.35	186.6	ng/ml
$ABC_{0-t}$	940.8	661.1	1068	h*ng/ml
$ABC_{0-inf}$	963.6	982.7	1148	h*ng/ml
Vd/F	29.69	106.7	42.05	l
CL/F	5.189	5.088	4.355	l/h
TMR	8.473	21.89	9.056	h

Abreviaturas: Ke: constante de eliminación;  $T_{1/2}$ : tiempo de vida media; Tmax: tiempo máximo de absorción; Cmax: concentración máxima de absorción;  $ABC_{0-t}$ : área bajo la curva de tiempo cero a tiempo 24h;  $ABC_{0-inf}$ : área bajo la curva de tiempo cero a infinito; Vd: volumen de distribución; CL: aclaramiento; TMR: tiempo medio de residencia; ng: nanogramos; ml: mililitros; h: horas. *Con t8: se considera t8h; Sin t8: NO considera t8 h.*

### Concentraciones de glucosa durante la prueba funcional

Los voluntarios se les monitoreó su glucosa durante cada tiempo de muestreo, las concentraciones de glucosa se muestran en la Figura 14. Los voluntarios con el genotipo  $*1/*1$  y  $*1/*2$ , recibieron al inicio 60 ml de una carga de glucosa al 20% con la administración oral del medicamento. El voluntario  $*1/*3$  no fue necesario la administración de la solución porque sus concentraciones de glucosa eran mayores a 100 mg/dl. El voluntario  $*1/*1$  recibió dos cargas de glucosa al 20% de glucosa (30 ml cada una) posterior a las 1.5 y 6.0 horas. El voluntario  $*1/*2$  recibió tres cargas de glucosa al 20% de glucosa (30 ml cada una) posterior a las 0.75, 2.0 y 6.0 horas. Las concentraciones de glucosa a las 24 h en los voluntarios  $*1/*1$ ,  $*1/*2$  y  $*1/*3$  fueron de 82, 78 y 147 mg/dl, respectivamente.

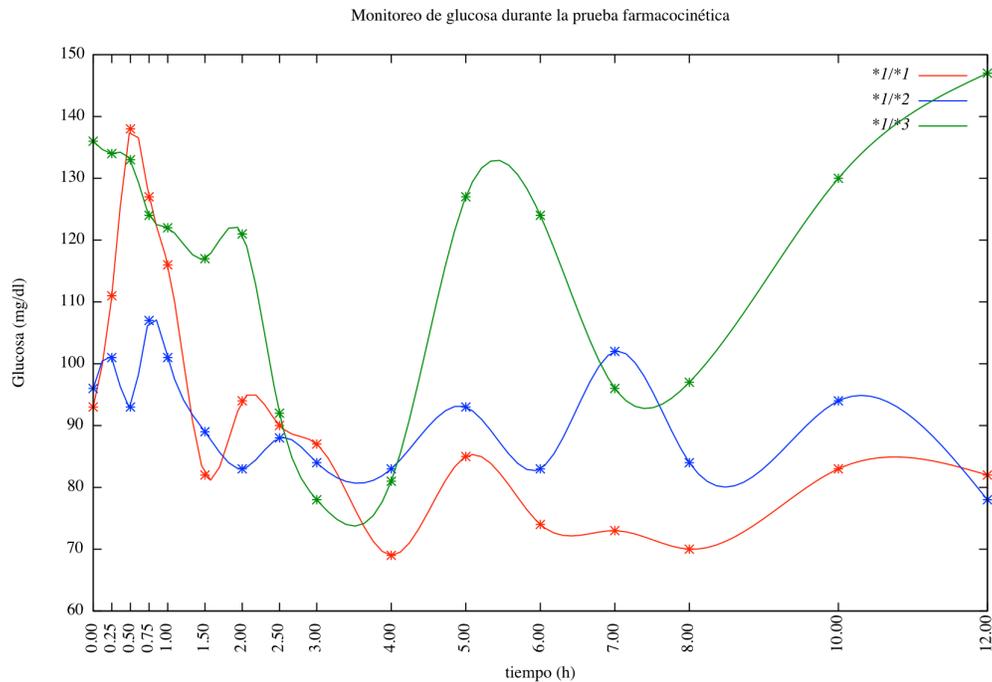


Figura 15. Concentraciones de glucosa durante la prueba

## Discusión

En este estudio se evaluó el efecto fenotípico de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* sobre las concentraciones de glibenclamida en plasma mediante una prueba farmacocinética en voluntarios sanos y la medición de las concentraciones de glibenclamida en el estado estacionario en pacientes con DT2 en población indígena Maya, con la finalidad de conocer los efectos funcionales de estas variantes genéticas en el tratamiento y control de la DT2.

Los polimorfismos son uno de los factores determinantes de la variabilidad en el aclaramiento y respuesta individual a diferentes fármacos de importancia clínica, como lo es la glibenclamida, la cual se encuentra entre las primeras líneas de prescripción médica para el tratamiento de la DT2<sup>(48, 69)</sup>. Diversos estudios han descrito la frecuencia para los alelos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en poblaciones mexicanas, a lo largo del noreste, centro, sur y sureste del país<sup>(62, 70, 71)</sup>, pero poco se ha estudiado sobre el impacto fenotípico que tienen estas variantes y más allá de este aspecto, la aplicación clínica que pueden tener estos resultados en las políticas de salud en México referente a la atención personalizada en pacientes con DT2.

La DT2 está considerada como un problema de salud a nivel nacional. De acuerdo con la “ENSANUT 2016 a medio camino”, se estima que la prevalencia de diabetes se incrementaría al doble considerando a las personas que desconocen tener diabetes. En concordancia con este hecho, de los hallazgos fortuitos que encontramos en este estudio, el 3.31% de la población que se consideraba no diabética tenía concentraciones de glucosa arriba de 125 mg/dl, esto implica que la población esta en riesgo de presentar complicaciones de la enfermedad en menor tiempo debido a que no llevan un control de la enfermedad. Adicionalmente, el 13.22% de esa misma población presentó glucosa alterada en ayunas (mayor a 100 mg/dl y menos a 125 mg/dl), la cual es un factor de riesgo para el desarrollo de DT2<sup>(72)</sup>.

## Descripción general de la población de estudio

Con base en el índice de masa corporal (IMC), el 23.6% de la población se encontró en el peso ideal de acuerdo a su talla y el resto de la población presentó sobrepeso u obesidad. De acuerdo con la OMS, un valor de IMC entre 18.0 y 24.9 kg/m<sup>2</sup> en una persona es considerado como peso normal, de 25.0 a 29.9 kg/m<sup>2</sup> es considerado sobrepeso y arriba de 30.0 kg/m<sup>2</sup> se define como obesidad. El 73.6% y 80.9% de las personas no diabéticas y diabéticas, respectivamente tenían sobrepeso u obesidad, estos porcentajes superan la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos de acuerdo a la ENSANUT 2016 que es de 72.5% <sup>(73)</sup>. El índice cintura/cadera (ICC), refleja la acumulación de grasa abdominal y es una medida de la distribución de la grasa corporal<sup>(65)</sup>. Este parámetro continúa asociándose de manera positiva al desarrollo de DT2 en diferentes poblaciones a pesar de nuevos índices que se han ido desarrollando a partir de datos antropométricos<sup>(74)</sup>. Más del 90% de los mayas con DT2 presenta valores de ICC por arriba de los valores de riesgo (para mujeres > 0.85 y para hombres > 0.90). Esto se ha convertido en un problema mayor debido a que más del 65% de la población sin DT2 e incluso más joven, tiene riesgo incrementado a desarrollar DT2 debido al sobrepeso, obesidad e ICC elevado.

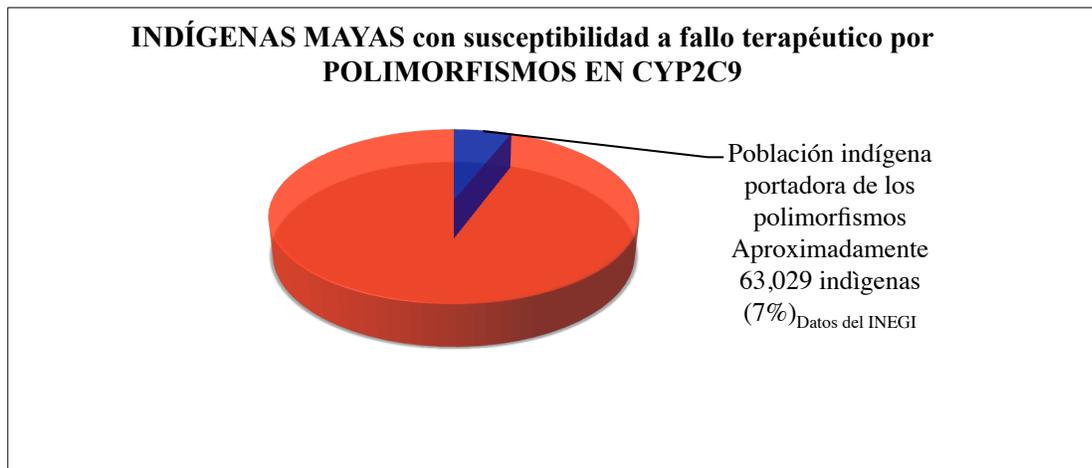
Más del 50% de la población total estudiada presenta PAS o PAD por arriba de 120 mm Hg u 80 mm Hg, respectivamente, cabe resaltar que los individuos diabéticos son los que presentan el mayor número de casos de presión arterial elevada. Lograr mantener un control óptimo de la presión arterial representa un reto así como un problema para la población puesto que la presión arterial elevada es un factor de riesgo para sufrir daños macro y microvasculares en pacientes con DT2<sup>(75)</sup>.

En referencia al perfil de lípidos, como se observa en la Tabla 4, a pesar de que la población con DT2 tiene concentraciones de colesterol total significativamente más altas que los no diabéticos (p=0.006), más del 80% de la población tiene concentraciones menores a 200 mg/dl que con base a la ATPIII<sup>(68)</sup> son las concentraciones óptimas. De manera interesante el 29.8% de la población sin DT2 presenta concentraciones de triglicéridos 45.3% más arriba que el valor de referencia (<150mg/dl) y 44.1% más

elevados en los pacientes diabéticos. De acuerdo con los cuestionarios realizados a cada participante, su dieta está basada en alimentos con alto valor calórico principalmente provenientes de carbohidratos y lípidos, lo cual podría explicar las concentraciones elevadas de triglicéridos en la población. Las concentraciones de cHDL en más del 70% de la población estuvieron debajo de 50 mg/dl. Se ha estudiado que el riesgo elevado de presentar enfermedad aterosclerótica cardiovascular en pacientes con DT2 se debe en parte a la disminución de la concentración de cHDL. Así, la dislipidemia crónica que presentó la población, aumenta la probabilidad de aparición de diabetes en personas que por ahora no la padecen y mayor riesgo de complicaciones en los pacientes diabéticos<sup>(76)</sup>.

### Evaluación genética de los polimorfismos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*

Como se observa en la Tabla 5, las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* están presentes en la población indígena Maya estudiada, su frecuencia es similar a datos reportados previamente en esta misma población indígena (0.010 y 0.028, respectivamente)<sup>(62)</sup>. Al comparar la frecuencia de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* de la población estudiada con otras poblaciones europeas e inclusive mestizas mexicanas, la cual está por arriba del 10%, esta es más baja. Más allá de hablar de una frecuencia baja de estos polimorfismos en los mayas, al traducirlo a número de personas, de acuerdo con el INEGI en su última edición, en el Estado de Yucatán existe una población de aproximadamente 1,500,000<sup>(77)</sup> habitantes indígenas, al sumar las frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* cerca del 7% de la población portaría al menos una de las dos variantes en estudio (Figura 16), lo que representa que más de 50 mil individuos indígenas estén susceptibles a un fallo terapéutico en los medicamentos que se metabolizan por la vía del CYP2C9, probablemente atribuidas a su genética.



*Figura 16. Impacto de la frecuencia de los polimorfismos en población indígena Maya*

## Evaluación de la glibenclamida en el estado estacionario en pacientes con DT2

Los pacientes con DT2 seleccionados para la evaluación de glibenclamida en el estado estacionario presentaron un descontrol metabólico, reflejado en los índices de sobrepeso y obesidad, ICC, presión arterial elevada y dislipidemia, así como en las concentraciones de glucosa, y HbA1c. Este hecho los puede llevar a complicaciones de la propia enfermedad en un menor tiempo, siendo más susceptibles los pacientes que presentan comorbilidades. De acuerdo con los cuestionarios, más del 20% de los pacientes evaluados tenían hipertensión y más de un tratamiento farmacológico. Aproximadamente el 50% de la población presentó al menos una RAM, entre las que destacan una reducción en la fuerza muscular, náuseas, cansancio y pérdida del apetito. Estas RAM están asociadas a la glibenclamida como a otros fármacos que se prescriben en la población como lo es el captopril. La presencia de reacciones adversas representa un problema de salud pública y una importante causa de morbilidad a nivel mundial, además los pacientes que presentan RAMs pueden requerir hospitalización o alargar su estancia hospitalaria, lo cual incrementa los costos de tratamiento<sup>(78)</sup>.

Uno de los primeros acercamientos para la optimización del tratamiento farmacológico realizado en esta investigación se basó en conocer si los pacientes responden o no a la glibenclamida mediante la cuantificación de este fármaco, las concentraciones de glucosa y HbA1c en cada paciente, además de considerar su genotipo.

En el Grupo 1, se encontró un severo problema de desapego al tratamiento farmacológico. Sólo se detectaron concentraciones del fármaco en el 25% de la población estudiada aún cuando en los cuestionarios afirmaban tomar el medicamento. Esto se ve reflejado en sus concentraciones elevadas de glucosa y HbA1c. Existen reportes en la literatura que indican que a pesar de los beneficios que trae el tratamiento farmacológico adecuado, el control de la glucosa sanguínea se logra en menos del 50% de los pacientes, lo que puede estar asociado con una menor adherencia a la terapia<sup>(79)</sup>. Con lo que respecta al genotipo, el portar alguna de las variantes en estudio y estar bajo prescripción con glibenclamida está asociado con eventos hipoglicemiantes. Todos los pacientes del Grupo 1 tenían el genotipo *\*I/\*I*, ninguno de ellos refirió algún evento hipoglicemiante pero sí al menos alguna otra una reacción adversa, entre las que destacan náuseas, cansancio y pérdida del apetito. Estas RAM entre muchos factores podrían estar atribuidas al tratamiento concomitante que llevan la mayoría de los pacientes, ya que como se mencionó anteriormente, en los cuestionarios la mayoría de los pacientes toman más de un medicamento.

Frente a los resultados anteriores, en el Grupo 2, se buscó mejorar la adherencia al tratamiento, brindándole a los pacientes una orientación para el uso adecuado del fármaco, un calendario para el registro de su medicamento, así como el servicio médico y medicamento gratuito por parte del centro de salud. Al comparar las concentraciones de glucosa a los días T0 y T15, de manera satisfactoria el 66.67% de la población disminuyó de manera satisfactoria sus concentraciones de glucosa. Sin embargo, al día T30 sólo el 29% de la población disminuyó estrictamente sus concentraciones de glucosa comparados con el día T0 y T15. Por ello se decidió sólo determinar las concentraciones de glibenclamida en pacientes que sí siguieron el tratamiento farmacológico en la que incluimos a cuatro pacientes con el genotipo *\*I/\*I* y una paciente con el genotipo *\*I/\*2*. Como se esperaba, en todos los pacientes evaluados se detectaron niveles de glibenclamida al final del seguimiento por un mes. Al día T0, no se encontraron concentraciones en tres pacientes, lo cual lo atribuimos a que previo al seguimiento no se estaban tomando adecuadamente el tratamiento pero, con la intervención, los pacientes tuvieron una mayor adherencia al tratamiento.

Se demostró que llevar un monitoreo del paciente, así como una comunicación directa con el mismo, brindándole una atención médica, se logra mejorar las concentraciones de

glucosa manteniéndolas dentro del valor de referencia (Figura 10). Estas concentraciones de glucosa redujeron en promedio un 60.3%, hallazgo que reconoce la importancia de brindarle al paciente un seguimiento durante su tratamiento farmacológico. En confirmación a estos resultados, un estudio en Irán, pone en evidencia que las actividades de apoyo mutuo se pueden aplicar con éxito en el autocontrol de la diabetes, especialmente en áreas con escasez de profesionales y recursos económicos. Esto implica que en la práctica clínica, las estrategias de apoyo entre los pacientes así como dar un seguimiento por parte de los profesionales deben integrarse en el sistema de atención médica para satisfacer las necesidades mínimas de las personas con DT2<sup>(80)</sup>.

Al comparar las concentraciones de glibenclamida en el Grupo 2, el paciente con genotipo \*1/\*2 (146.8 ng/ml) y compararla con la de los pacientes con genotipo \*1/\*1 (65.74 ± 78.00 ng/ml), las concentraciones tienden ser mayores en el paciente portador de la variante \*1/\*2, esto es lo que se esperaría tomando en cuenta que debido a la funcionalidad del alelo, las concentraciones del fármaco tienden a acumularse en los portadores de esta variante y por tanto se esperaría una mayor respuesta al medicamento <sup>(81)</sup>. Adicional a ello es complicado establecer un rango terapéutico específico para esta población ya que no se conocen los parámetros farmacocinéticos de cada individuo incluido en el estudio y los reportados en la literatura no podrían ser equiparables ya que las estrategias para la medición del C<sub>SS</sub> así como el tipo de población son distintas.

Aún cuando se ha reportado que pacientes con DT2 portadores de las variantes *CYP2C9\*2* y/o *CYP2C9\*3*, presentan a una respuesta mejor a las sulfonilureas, mostrando una mayor capacidad para reducir las concentraciones de Hb1Ac así como una menor tasa de fracaso al tratamiento, particularmente más marcado en pacientes con genotipo homocigoto para las variantes *CYP2C9\*2* y/o *CYP2C9\*3* <sup>(49)</sup>, para poder observar este efecto en los pacientes de nuestro estudio, requerimos de un periodo más largo de evaluación y aumentar el número de pacientes para así demostrar el efecto positivo que pudiese tener en la población.

Con respecto a la variabilidad en las concentraciones de glibenclamida, diversos estudios han reportado de manera similar la variabilidad inter-paciente en la respuesta a la glibenclamida en pacientes con DT2, inclusive un efecto de metabolizadores rápidos en pacientes portadores del genotipo \*1/\*1<sup>(82, 83)</sup>. Por otro lado, las diferencias entre los diseños de los diversos estudios, las definiciones de los puntos finales clínicos (fenotipos),

los tipos de sulfonilureas, los regímenes de dosificación utilizados y uno de los aspectos más relevantes la variabilidad étnica, han dado como resultado una respuesta altamente variable a las sulfonilureas incluyendo a la glibenclamida entre los pacientes con DT2<sup>(25)</sup>.

Con base a los resultados obtenidos, observamos que la genética forma parte de la variabilidad en la respuesta al tratamiento. Más allá del efecto de las variantes en estudio, el éxito en la terapia farmacológica, que también se vio en el estudio al comparar las concentraciones de glucosa significativamente menores en los pacientes que sí presentaron niveles de glibenclamida en plasma contra los que no, esta depende de muchos otros factores que favorecen la mejoría en las concentraciones de glucosa, entre las que destacan la reducción en el consumo de múltiples tabletas, regímenes de dosificación menos frecuentes, uso de medicamentos asociados con menos reacciones adversas e iniciativas educativas con una comunicación mejor entre el paciente y el proveedor de atención médica.

## Evaluación de la farmacocinética de la glibenclamida

Para examinar el efecto de los polimorfismos genéticos del *CYP2C9* en el metabolismo de la glibenclamida en voluntarios provenientes del poblado de Xocén, Yucatán, se realizó una farmacocinética durante 24 horas y 17 tiempos de muestreo. Como se observa en la figura 13, los voluntarios con el genotipo *\*1/\*1* y *\*1/\*2* presentaron un doble pico de absorción, así como un retraso en el tiempo de absorción máxima en comparación con el sujeto de genotipo *\*1/\*3*. Diversos autores han contribuido a modelar el fenómeno de doble pico después de una dosis oral única del fármaco, para el cual proponen tres razones principales para explicar este fenómeno: recirculación enterohepática, retraso en el vaciado gástrico y variabilidad de la absorción. Nosotros atribuimos que la variabilidad en la absorción se presentó en estos dos voluntarios porque se les dio una carga de glucosa para evitar efectos hipoglucemiantes lo cual pudo retrasar la absorción de la glibenclamida<sup>(84, 85)</sup>. Sin embargo, se observó que los parámetros farmacocinéticos no se vieron afectados por este fenómeno al eliminar la concentración al tiempo 4h en los tres voluntarios (Tabla 12). De manera interesante, encontramos la posible influencia que tienen las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en los procesos de eliminación de la glibenclamida en la población indígena Maya ya que en los portadores de las variantes *\*1/\*2* y *\*1/\*3* el parámetro CL/F tiende a ser menor y el TMR tiende a ser mayor (Tabla 12), por lo cual se infiere que tienen una capacidad de eliminación de la glibenclamida más lento que el portador del genotipo *\*1/\*1*. Diversos estudios en voluntarios sanos y en pacientes con DT2, apoyan que portadores de la variante *CYP2C9\*3* presentan un aclaramiento significativamente menor comparados con los no portadores de esta variante<sup>(86-88)</sup>, en concordancia con nuestro estudio, el individuo con genotipo *\*1/\*3* fue quien presentó el menor valor de depuración. Además, este individuo tuvo una tasa de reducción de la glucosa del 40% en las cuatro horas posteriores a la administración de la glibenclamida, este hecho se puede aseverar ya que este individuo no ingirió una carga de glucosa al momento de la administración del medicamento. Por otro lado, la vida media de la glibenclamida difiere entre los tres individuos, siendo el individuo *\*1/\*2* quién presentó el  $T_{1/2}$  más largo. La literatura refiere que considerando a los metabolitos, el  $T_{1/2}$  de la glibenclamida es de 10 horas aproximadamente, en nuestro estudio sin considerar los metabolitos el  $T_{1/2}$  más largo fue de

14 h para el individuo  $*1/*2$ . Esto implica que entre más larga sea la vida media, la depuración será más lenta y la acumulación del fármaco en el paciente puede traer efectos adversos como es la hipoglicemia.

Como se ha ido explicando a lo largo del trabajo, diversos estudios atribuyen que el efecto farmacocinético y farmacodinámico observado para la glibenclamida así como para otros medicamentos que se metabolizan por el CYP2C9 se podría atribuir en parte al genotipo de *CYP2C9*, sin embargo para poderlo confirmar en nuestro estudio requerimos de un número mayor de muestras. A pesar de ello las tendencias observadas en este estudio nos dan luz del comportamiento farmacocinético que tienen la población, la cual no se había explorado y que forma parte de las bases para modificar las estrategias de salud y mejorar el tratamiento farmacológico en la población.

Complementado la idea anterior, las diferencias interindividuales en los diferentes parámetros farmacocinéticos evaluados pueden atribuirse al genotipo *CYP2C9*. Sin embargo, estudios *in vitro* han demostrado que, parte de la variabilidad farmacocinética de la glibenclamida radica en la absorción, en su metabolismo así como de la absorción hepática<sup>(29)</sup>.

Finalmente, la arquitectura genética de la respuesta a la glibenclamida, a la cual determinamos farmacogenética aún no está claramente establecida. Si bien en este estudio describimos algunos efectos genéticos moderados de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3*, existen diversos polimorfismos en genes implicados al efecto y acción de las sulfonilureas, entre los que destacan *ABCC8*, *KCNJ11*, *POR*, *CAPN10*, *TF7L2* e *IRS* donde el espectro del tamaño del efecto de los SNPs en estos genes e inclusive la cantidad de variación en la respuesta al fármaco explicada por variantes genéticas aún no está claramente estudiado<sup>(14, 44, 81, 89)</sup>. Por ello, el presente trabajo contribuye al conocimiento de los aspectos antes mencionados y abre camino a la investigación de nuevas estrategias para un mejoramiento en el tratamiento farmacológico de la glibenclamida en poblaciones vulnerables como los son las poblaciones indígenas logrando un mayor apego y control glucémico, lo cual dará pie a la implementación de una medicina personalizada en pacientes con DT2 en México.

## Conclusiones

La población indígena Maya es portadora de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en una frecuencia de 0.032 ambas variantes. Esta frecuencia es similar a la reportada previamente. Sólo se encontraron genotipos heterocigotos para ambas variantes, a los cuales se les evaluó el efecto funcional de los alelos en estudio en pacientes con DT2 y voluntarios sanos en la misma población indígena, encontrando que el factor genético forma parte de la variabilidad en la respuesta a la glibenclamida.

Los pacientes indígenas mayas con DT2 sufren un descontrol metabólico reflejado en las concentraciones elevadas de HbA1c y glucosa en ayunas y sólo en el 25% de la población estudiada se detectaron niveles de glibenclamida en plasma, resultado de una falta de apego al tratamiento farmacológico. Sin embargo, la atención al paciente mediante un seguimiento farmacológico es importante para mejora del tratamiento ya que se las concentraciones de glucosa redujeron en promedio un 60.3% y son significativamente menores en pacientes que sí tomaron adecuadamente la glibenclamida comparado contra los que no tomaron el medicamento.

Dentro de la población estudiada se encontró 1 paciente portador del genotipo *\*1/\*2*, donde su concentración de glibenclamida en el estado estacionario fue de 146.8 ng/ml, al compararla con la de los pacientes con genotipo *\*1/\*1* ( $65.74 \pm 78.00$  ng/ml), estos niveles tienden a ser mayores en el paciente portador de la variante *\*1/\*2*, para confirmar el efecto que tienen las variantes en estudio se requiere aumentar el número de muestras y el periodo de seguimiento.

Se evaluó la posible influencia que tienen las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en los procesos de eliminación de la glibenclamida en la población indígena Maya ya que en los portadores de las variantes *\*1/\*2* y *\*1/\*3* el parámetro CL/F tiende a ser menor y el TMR tiende a ser mayor

En este estudio describimos algunos efectos genéticos moderados de las variantes *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* en indígenas mayas. En estudios futuros se requiere evaluar en

conjunto otros de los factores implicados en la variabilidad a la respuesta a la glibenclamida, siendo el factor genético uno de los evaluados por primera vez en esta población.

## Bibliografía

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.
2. Ad SIA. Diabetes: An Old Disease, a New Insight *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012;771:xxvii-xxxiii.
3. World Health Organization. Diabetes Geneva2016 [Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>].
4. Hernández SF, Reyes H, Morales, Villalpando S, Noverón NR, Ávila MH. Diabetes en adultos: urgente mejorar la atención y el control México2012 [Available from: [http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/Calid\\_ProceDiabet.pdf](http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/Calid_ProceDiabet.pdf)].
5. Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino2016. Available from: <https://www.insp.mx/ensanut/medio-camino-16.html>.
6. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*. 2012;27(4):269-73.
7. Prasad RB, Groop L. Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes (Basel)*. 2015;6(1):87-123.
8. Ali O. Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes*. 2013;4(4):114-23.
9. Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, Mahajan A, Agarwala V, Gaulton KJ, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature*. 2016;536(7614):41-7.
10. Staiger H, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. Pathomechanisms of type 2 diabetes genes. *Endocr Rev*. 2009;30(6):557-85.
11. Sánchez-Pozos K, Menjivar M. Genetic Component of Type 2 Diabetes in a Mexican Population. *Arch Med Res*. 2016;47(7):496-505.
12. Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macías H, Huerta-Chagoya A, Churchhouse C, Márquez-Luna C, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature*. 2014;506(7486):97-101.
13. Introduction. *Diabetes care*. 2016;39 Suppl 1:S1-2.
14. Pollastro C, Ziviello C, Costa V, Ciccodicola A. Pharmacogenomics of Drug Response in Type 2 Diabetes: Toward the Definition of Tailored Therapies? *PPAR Res*. 2015;2015:415149.
15. Sun X, Yu W, Hu C. Genetics of type 2 diabetes: insights into the pathogenesis and its clinical application. *BioMed research international*. 2014;2014:926713.
16. Adak T, Samadi A, Ünal AZ, Sabuncuoğlu S. A reappraisal on metformin. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2017;92:324-32.
17. Wilding JP, Rajeev SP, DeFronzo RA. Positioning SGLT2 Inhibitors/Incretin-Based Therapies in the Treatment Algorithm. *Diabetes care*. 2016;39 Suppl 2:S154-64.

18. Torres Arreola LdP, Gil Velázquez LE, Sil Acosta MJ, Domínguez Sánchez ER, Padilla Ortíz JI, Santillana Hernández SP. Guía Práctica Clínica: Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el primer nivel de atención. In: Social IMdS, editor. Catálogo Maestro de Guías de Práctica Clínica. México2014. p. 135.
19. Aquilante CL. Sulfonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: the influence of drug target and diabetes risk polymorphisms. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2010;8(3):359-72.
20. Introduction. *Diabetes Care.* 2017;40(Suppl 1):S1-S2.
21. Cuautle-Rodriguez P, Llerena A, Molina-Guarneros J. Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico. *Drug metabolism and drug interactions.* 2014;29(1):37-45.
22. Song J, Yang Y, Mauvais-Jarvis F, Wang YP, Niu T. KCNJ11, ABCC8 and TCF7L2 polymorphisms and the response to sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes: a bioinformatics assessment. *BMC Med Genet.* 2017;18(1):64.
23. Zeise L, Bois FY, Chiu WA, Hattis D, Rusyn I, Guyton KZ. Addressing human variability in next-generation human health risk assessments of environmental chemicals. *Environmental health perspectives.* 2013;121(1):23-31.
24. Lorenzo Velazquez B. *Farmacología básica y clínica-Velázquez* 18ª Edición. Panamericana M, editor. Buenos Aires-Madrid2008. 1369 p.
25. Loganadan NK, Huri HZ, Vethakkan SR, Hussein Z. Genetic markers predicting sulphonylurea treatment outcomes in type 2 diabetes patients: current evidence and challenges for clinical implementation. *Pharmacogenomics J.* 2016;16(3):209-19.
26. Becker ML, Pearson ER, Tkáč I. Pharmacogenetics of oral antidiabetic drugs. *International journal of endocrinology.* 2013;2013:686315.
27. Haghvirdizadeh PaM, Zahurin and Abdullah, Nor and Haghvirdizadeh, Pantea and Haerian, Monir and Sadat Haerian, Batoul. KCNJ11: Genetic Polymorphisms and Risk of Diabetes Mellitus. *Experimental Diabetes Research*2015.
28. Oncohem K. Oral Antidiabetic Agents2016. Available from: <https://oncohemakey.com/oral-antidiabetic-agents/>.
29. Varma MV, Scialis RJ, Lin J, Bi YA, Rotter CJ, Goosen TC, et al. Mechanism-based pharmacokinetic modeling to evaluate transporter-enzyme interplay in drug interactions and pharmacogenetics of glyburide. *AAPS J.* 2014;16(4):736-48.
30. Law V, Knox C, Djoumbou Y, Jewison T, Guo AC, Liu Y, et al. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(Database issue):D1091-7.
31. Hohl CM, Kuramoto L, Yu E, Rogula B, Stausberg J, Sobolev B. Evaluating adverse drug event reporting in administrative data from emergency departments: a validation study. *BMC Health Serv Res.* 2013;13:473.
32. 2014. *Diccionario de especialidades farmacéuticas.*
33. Turner RM, Park BK, Pirmohamed M. Parsing interindividual drug variability: an emerging role for systems pharmacology. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2015;7(4):221-41.
34. Mauricio Hernández Ávila ea. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 20162016. Available from: <https://www.insp.mx/ensanut/medio-camino-16.html>.

35. Hernández SF RH, Morales, Villalpando S,, Noverón NR ÁM. Diabetes en adultos: urgente mejorar la atención y el control. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición [Internet]. 2012.
36. Barraza-Lloréns M G-BnV, Picó J, García R, Hernández C, Mora F, Athié J, Crable E, Urtiz A. Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013. DR © Fundación Mexicana para la Salud, AC. Mexico2015.
37. Reyes-Morales H, Mino-Leon D, Doubova SV, Flores-Hernandez S. Postmarketing pharmacovigilance of adverse drug reactions: the case of rosiglitazone in Mexico. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2012;50(1):1-9.
38. Ahmed S, Zhou Z, Zhou J, Chen SQ. Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2016;14(5):298-313.
39. Pirmohamed M. Pharmacogenetics: past, present and future. *Drug Discov Today*. 2011;16(19-20):852-61.
40. Committee for proprietary medicinal products E. Position paper on terminology in pharmacogenetics2002 Dec 17 2013; (Pharmacogenomics). Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003889.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003889.pdf).
41. Singh S, Usman K, Banerjee M. Pharmacogenetic studies update in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2016;7(15):302-15.
42. Lindpaintner K. Pharmacogenetics and the future of medical practice. *British journal of clinical pharmacology*. 2002;54(2):221-30.
43. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *The New England journal of medicine*. 2003;348(6):538-49.
44. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts EH, El-Din J, Brockmöller J, et al. Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol*. 2005;60(1):103-6.
45. Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE, et al. Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenet Genomics*. 2010;20(4):277-81.
46. Gaedigk A, Ingelman-Sundberg M, Miller NA, Leeder JS, Whirl-Carrillo M, Klein TE, et al. The Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium: Incorporation of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. *Clin Pharmacol Ther*. 2017.
47. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013;138(1):103-41.
48. Zhou SF, Zhou ZW, Huang M. Polymorphisms of human cytochrome P450 2C9 and the functional relevance. *Toxicology*. 2010;278(2):165-88.
49. Zhou K, Donnelly L, Burch L, Tavendale R, Doney AS, Leese G, et al. Loss-of-function CYP2C9 variants improve therapeutic response to sulfonylureas in type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(1):52-6.
50. Sheffield LJ, Phillimore HE. Clinical use of pharmacogenomic tests in 2009. *Clin Biochem Rev*. 2009;30(2):55-65.
51. Lam YWFe, Cavallari LHea, Lam YWFPop. Pharmacogenomics : challenges and opportunities in therapeutic implementation.

52. Dawed AY, Zhou K, Pearson ER. Pharmacogenetics in type 2 diabetes: influence on response to oral hypoglycemic agents. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2016;9:17-29.
53. Scott SA. Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics. *Genet Med*. 2011;13(12):987-95.
54. FDA. Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling USA2016 [Available from: <https://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm>].
55. Flynn AA. Pharmacogenetics: practices and opportunities for study design and data analysis. *Drug Discov Today*. 2011;16(19-20):862-6.
56. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(21):8611-6.
57. Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Fernandez-Lopez JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras AV, et al. Human genetics. The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science*. 2014;344(6189):1280-5.
58. Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Llerena A, López-López M. Interethnic variability of pharmacogenetic biomarkers in Mexican healthy volunteers: a report from the RIBEF (Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics). *Drug Metab Pers Ther*. 2016;31(2):61-81.
59. INEGI. Estadísticas del... A propósito del Día Intencional de los Pueblos Indígenas 2016. Available from: [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/indigenas2016\\_0.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/indigenas2016_0.pdf).
60. Cuautle-Rodríguez P, Llerena A, Molina-Guarneros J. Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico. *Drug Metabol Drug Interact*. 2014;29(1):37-45.
61. Lara-Riegos JC, Ortiz-Lopez MG, Pena-Espinoza BI, Montufar-Robles I, Pena-Rico MA, Sanchez-Pozos K, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4alpha, KCNJ11, PPARgamma, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene*. 2015;565(1):68-75.
62. Sánchez-Pozos K, Rivera-Santiago C, García-Rodríguez MH, Ortiz-López MG, Peña-Espinoza BI, Granados-Silvestre ML, et al. Genetic variability of CYP2C9\*2 and CYP2C9\*3 in seven indigenous groups from Mexico. *Pharmacogenomics*. 2016.
63. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
64. Jambhekar SS, Breen PJ. *Basic pharmacokinetics*. London ; Chicago: Pharmaceutical Press; 2009. xiv, 407 p. p.
65. World Health Organization W. Waist Circumference and waist-hip ratio: Report of a WHO expert consultation2011:[39 p.]. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44583/1/9789241501491\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44583/1/9789241501491_eng.pdf?ua=1).
66. World Health Organization. Mean Body Mass Index (BMI) Génova2014 [Available from: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/bmi\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/bmi_text/en/)].
67. Mauricio HÁ. NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. In: gobernación Sd, editor.

- México 2010.
68. National Heart L, and Blood Institute. Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATPIII). 2002.
  69. Bae JW, Choi CI, Kim MJ, Oh DH, Keum SK, Park JI, et al. Frequency of CYP2C9 alleles in Koreans and their effects on losartan pharmacokinetics. *Acta pharmacologica Sinica*. 2011;32(10):1303-8.
  70. Castelán-Martínez OD, Hoyo-Vadillo C, Sandoval-García E, Sandoval-Ramírez L, González-Ibarra M, Solano-Solano G, et al. Allele frequency distribution of CYP2C9 2 and CYP2C9 3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene*. 2013;523(2):167-72.
  71. Sosa-Macías M, Lazalde-Ramos BP, Galaviz-Hernández C, Rangel-Villalobos H, Salazar-Flores J, Martínez-Sevilla VM, et al. Influence of admixture components on CYP2C9\*2 allele frequency in eight indigenous populations from Northwest Mexico. *Pharmacogenomics J*. 2013;13(6):567-72.
  72. Tirosh A, Shai I, Tekes-Manova D, Israeli E, Pereg D, Shochat T, et al. Normal fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes in young men. *N Engl J Med*. 2005;353(14):1454-62.
  73. ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 20162016. Available from: <https://www.insp.mx/ensanut/medio-camino-16.html>.
  74. He S, Zheng Y, Chen X. Assessing a new hip index as a risk predictor for diabetes mellitus. *J Diabetes Investig*. 2017.
  75. Kengne AP, Libend CN, Dzudie A, Menanga A, Dehayem MY, Kingue S, et al. An assessment of discriminatory power of office blood pressure measurements in predicting optimal ambulatory blood pressure control in people with type 2 diabetes. *Pan Afr Med J*. 2014;19:231.
  76. Wolide AD, Zawdie B, Alemayehu T, Tadesse S. Association of trace metal elements with lipid profiles in type 2 diabetes mellitus patients: a cross sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2017;17(1):64.
  77. INEGI INdEyG. México en cifras. Información nacional, por entidad federativa y municipios México2012 [Available from: <http://www.inegi.org.mx/>].
  78. Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Llerena A, López-López M. Pharmacogenetics of adverse reactions to antiepileptic drugs. *Neurologia*. 2015.
  79. García-Pérez LE, Alvarez M, Dilla T, Gil-Guillén V, Orozco-Beltrán D. Adherence to therapies in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Ther*. 2013;4(2):175-94.
  80. Peimani M, Monjazebi F, Ghodssi-Ghassemabadi R, Nasli-Esfahani E. A peer support intervention in improving glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Patient Educ Couns*. 2017.
  81. Dujic T, Zhou K, Donnelly LA, Leese G, Palmer CNA, Pearson ER. Interaction between variants in the CYP2C9 and POR genes and the risk of sulfonylurea-induced hypoglycaemia: A GoDARTS Study. *Diabetes Obes Metab*. 2017.
  82. Manitpisitkul P, Curtin CR, Shalayda K, Wang SS, Ford L, Heald DL. An open-label drug-drug interaction study of the steady-state pharmacokinetics of topiramate and glyburide in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Drug Investig*. 2013;33(12):929-38.

83. Helldén A, Bergman U, Engström Hellgren K, Masquelier M, Nilsson Remahl I, Odar-Cederlöf I, et al. Fluconazole-induced intoxication with phenytoin in a patient with ultra-high activity of CYP2C9. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010;66(8):791-5.
84. Godfrey KR, Arundel PA, Dong Z, Bryant R. Modelling the Double Peak Phenomenon in pharmacokinetics. *Comput Methods Programs Biomed*. 2011;104(2):62-9.
85. O S. The bioavailability of glyburide (glibenclamide) under fasting and feeding conditions: a comparative study: *International Journal of Pharmaceutical Medicine*; 2001.
86. Kirchheiner J, Brockmoller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, et al. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;71(4):286-96.
87. Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. CYP2C9, but not CYP2C19, polymorphisms affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78(4):370-7.
88. Surendiran A, Pradhan SC, Agrawal A, Subrahmanyam DK, Rajan S, Anichavezhi D, et al. Influence of CYP2C9 gene polymorphisms on response to glibenclamide in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011;67(8):797-801.
89. Zhou K, Pedersen HK, Dawed AY, Pearson ER. Pharmacogenomics in diabetes mellitus: insights into drug action and drug discovery. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(6):337-46.

ANEXOS

ANEXO 1: Carta de consentimiento informado y carta de aceptación del comité de ética

Hospital Juárez de México  
Laboratorio de diabetes  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química

**CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Título del Estudio:	Papel de los polimorfismos en los genes CYP2C9, OCT1, OCT2, MATE1 y MATE2 en la eficacia del tratamiento con sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2 de la Península de Yucatán
Nombre del Investigador Responsable:	Dra. María Marjary Trujano
Dirección:	Laboratorio de Diabetes, Facultad de Química, UNAM, CU, y Unidad de Medicina Especializada, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, Calle 7, No. 433 por 20 y 22, Fracc. Altabrisa Mérida, Yucatán CP. 97130
Teléfono de contacto:	56-22-38-22-UNAM y 9 942 7600 EXT: 54024RRAE/PPY

**Introducción:**  
El documento que se expone a continuación cumple con lo dispuesto por el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud, Artículos 1o., 2o., fracción VII, 3o. fracción IX, 4o., 7o., 13 apartado "A" fracciones I, IX, X, apartado "B" fracciones I y VI, 9o, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103 y demás relativos a la Ley General de Salud.

Queremos invitarte a formar parte del proyecto "Papel de los polimorfismos en los genes CYP2C9, OCT1, OCT2, MATE1 y MATE2 en la eficacia del tratamiento con sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2 de la Península de Yucatán", que será desarrollado por investigadoras de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, preocupadas por el aumento de personas que son afectadas de diabetes en nuestra país. Esta enfermedad se caracteriza por aumentar el azúcar en sangre y que con el tiempo daña los riñones, los ojos y el corazón entre otras cosas. La metformina y glibenclamida, son los medicamentos principales para el control de la diabetes tipo 2. Estos tratamientos son caracterizados por una variabilidad interindividual, eficacia clínica y presencia de reacciones adversas (RAM). El desarrollo de estudios farmacogenéticos en poblaciones mexicanas representa una contribución al conocimiento sobre la variabilidad genética en la respuesta a los fármacos para mejoramiento del tratamiento y control de la enfermedad.

Este estudio tiene como objetivo principal: Evaluar el efecto de los polimorfismos en los genes CYP2C9, OCT1, OCT2, MATE1 y MATE2 en la eficacia de sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2, que afecta en la disminución de la calidad de vida de las personas que la presentan.

Antes de que usted acepte participar en este estudio, se le presenta este documento de nombre "Consentimiento Informado", que tiene como objetivo comunicarle de los posibles riesgos y beneficios para que usted pueda tomar una decisión informada y voluntaria.

El consentimiento informado le proporciona información sobre el estudio al que se le está invitando a participar, por ello es de suma importancia que lo lea cuidadosamente antes de tomar alguna decisión y si usted lo desea, puede comentarlo con quien desea (un amigo, un familiar de confianza, etc.). Si usted tiene preguntas puede hacerlas directamente a su médico tratante o al personal del estudio quienes le ayudarán a resolver cualquier duda.

Una vez que tenga conocimiento sobre el estudio y los procedimientos que se llevarán a cabo, se le pedirá que firme esta forma para poder participar en el estudio. Su decisión de que es voluntaria, lo que significa que usted es totalmente libre de ingresar o no en el estudio. Podrá retirar su consentimiento en cualquier momento y sin tener que explicar las razones sin que esto signifique una disminución en la calidad de la atención médica que se le brinde, ni afectará la relación con su médico. Si decide no participar, usted puede platicar con su médico sobre los cuidados médicos regulares. Su médico puede retirarlo o recomendarle no participar en caso de que así lo considere.

1

Hospital Juárez de México  
Laboratorio de diabetes  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química

Este estudio representará un recurso de investigación útil para conocer sobre la variabilidad genética en la respuesta a los fármacos para mejoramiento del tratamiento para la diabetes en población mexicana que implicará:

Toma de una muestra de sangre, mediante punción venosa del brazo de un volumen de aproximadamente 20 ml para que con su sangre se hagan 3 cosas:

- (1) La extracción de material genético (ADN) para el estudio de los genes especificados en el protocolo "Búsqueda de polimorfismos y mutaciones en genes relacionados con la aparición de diabetes, en población indígena mexicana".
- (2) Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la "Diabetes", por ello se le solicita que autorice al investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en la Diabetes y no se realizarán otros estudios con ella.
- (3) Evaluación de azúcar y grasas en sangre.

- Usted también puede aceptar que en dicha muestra de sangre donde se extraerá el material de herencia (ADN) se realicen otros estudios para estudiar otras enfermedades diferentes.
- Si usted acepta sólo los estudios de herencia descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en el punto 2, el investigador garantiza que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más. Una vez separada la muestra no podrá ser destruida, pero no se podrá relacionar con usted.
- Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de la obtención del material genético.

En caso de ser voluntario:

1. Cada voluntario será recibido en la unidad metabólica del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán por 12h.
2. Se le realizará una punción venosa en el brazo para colocar un catéter que se dejará durante las 12 horas de estancia en el hospital.
3. Se administrará una dosis única de glibenclamida o metformina.
4. Se tomarán 3ml de muestra sanguínea en diferentes intervalos de tiempo durante 12h.

**Procedimiento**

- Si acepta a participar en el estudio, tendrá lugar lo siguiente:
- Se le examinará físicamente, tomarán medidas de peso, estatura, cintura y cadera para determinar el Índice de Masa Corporal (IMC) y presión arterial.
- Se someterá a un análisis de laboratorio en el cual le harán una extracción de sangre. Le pedirán que mantenga un ayuno de al menos 8 horas antes de la toma de muestra.
- Le solicitarán que responda a un cuestionario para evaluar sus hábitos alimenticios, nivel de estrés y actividad física. En el mismo cuestionario le pedirán algunos datos personales y antecedentes de enfermedades.

**Riesgos**

Los riesgos de la extracción de sangre incluyen molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y/o hematomas.

**Beneficios**

Se le entregarán al participante los resultados bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina) y será de su conocimiento si es diabético, propenso a la diabetes o una persona sana.

2

Continuación



Hospital Juárez de México  
Laboratorio de diabetes  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química



**Confidencialidad**

Usted tiene derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La información será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto es con la finalidad de proteger la integridad del estudio.

No se revelará la identidad de las personas que participen en el estudio en ningún informe o publicación que se genere a partir de este trabajo.

**¿A quién puedo llamar si tengo preguntas sobre este proyecto?**

Si usted tiene preguntas acerca de la recolección de muestras, sus derechos en este proyecto o sobre el almacenamiento de las mismas, puede llamar al Hospital Juárez de México con la Dra. Ma. Guadalupe Ortiz López 015557477684, o a la Facultad de Química, UNAM con la Dra. Marta Menjivar Inaheta al 015556223822

**Consentimiento**

- Yo \_\_\_\_\_ declaro bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
- Se me ha entregado una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
- Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de material genético (ADN) con un número codificado.
- Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
- Me han informado que la evaluación física, de laboratorio clínico y el estudio genético no tiene ningún costo, y no habrá ningún gasto adicional para mí.
- En que toda la información genética de la muestra sea depositada en bases de datos científicas de libre acceso (públicas) en Internet.
- En que una vez que la muestra haya sido estudiada, no podré retirar la información de mi muestra de las bases de datos científicas.

He leído o escuchado toda la información, he hecho todas las preguntas que he tenido, y todas mis preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. Soy consciente que dar una muestra es mi decisión.

Medite su elección, elija uno de los siguientes puntos y firme si usted está de acuerdo.

**Punto 1.** Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético referente a la "Diabetes" en mi muestra de material genético (ADN).

**Punto 2.** Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra material genético (ADN), con desvinculación de la identidad. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la "Diabetes".

**Punto 3.** Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de material genético (ADN) desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades.



Hospital Juárez de México  
Laboratorio de diabetes  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química



**Acepto que se me realice la toma de muestra de sangre periférica.**

Lugar y fecha \_\_\_\_\_

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma del participante: \_\_\_\_\_

¿Se le otorgó copia al participante?  Sí  No

Firma del Investigador \_\_\_\_\_

Nombre del testigo:	
Firma: _____	Fecha: _____
Dirección: _____	Relación con el participante: _____

Nombre del testigo:	
Firma: _____	Fecha: _____
Dirección: _____	Relación con el participante: _____

**Nombre escrito de la persona que explica el consentimiento**

Firma de la persona que explica el consentimiento \_\_\_\_\_

dd-mmm-aaaa  
Fecha

## Carta de aceptación por parte del Comité de Ética del Hospital Juárez de México



Hospital Juárez de México  
Dirección General



"2016, Año del Nuevo Sistema de Justicia Penal"

México, Ciudad de México, a 20 de octubre de 2016.

**M. en C. María Guadalupe Ortiz Lopez**  
Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas y Endocrinas  
Presente

Me permito comunicarle que su protocolo titulado: "Papel de los polimorfismos en los genes CYP2C9, OCT1, OCT2, MATE1 y MATE2 en la eficacia del tratamiento con sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2", con número de registro HJM 0227/16-I, fue evaluado por el Comité de Investigación en su sesión ordinaria No.10 del día 06/10/2016, en conjunto con los Comités de Ética en Investigación y de Bioseguridad del Hospital Juárez de México, habiendo dictaminado su aceptación, por lo cual a partir de esta fecha queda autorizado y podrá dar inicio el protocolo, con una duración de 2 años.

Le informo que cualquier enmienda o prorroga deberá estar plenamente justificada y deberá ser solicitada oportunamente ante el Comité de Investigación.

ATENTAMENTE

  
DR. MARTÍN ANTONIO MANRIQUE  
DIRECTOR GENERAL  
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

X cop. Dr. José Moreno Rodríguez.- Director de Investigación y Enseñanza, HJM

ANEXO 2: Calendario del seguimiento farmacológico en los pacientes diabéticos

k'aaba': \_\_\_\_\_

Bax hora tah luká a ts'aak

LUNES	MARTES	MIERCOLES	JUEVES	VIERNES	S ABADO	DOMINGO
		22  K'iin hun ts'aak hun: ts'aak ka'a:	23 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	24 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	25 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	26 ts'aak hun: ts'aak ka'a:
27 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	28 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	29 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	30 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	31 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	1 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	2 ts'aak hun: ts'aak ka'a:
3 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	4 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	5 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	6 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	7 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	8 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	9 ts'aak hun: ts'aak ka'a:
10 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	11 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	12 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	13 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	14 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	15 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	16 ts'aak hun: ts'aak ka'a:
17 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	18 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	19 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	20 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	21 ts'aak hun: ts'aak ka'a:	22  K'iin Lahun ca-kal ts'aak hun: ts'aak ka'a:	23 ts'aak hun: ts'aak ka'a:

ANEXO 3: Hoja de registro de los voluntarios en la prueba farmacocinética



Hospital Juárez de México  
Laboratorio de diabetes  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química



HOJA DE DATOS DE RECOLECCIÓN

**Proyecto: *Papel de los polimorfismos en los genes CYP2C9, OCT1, OCT2, MATE1 y MATE2 en la eficacia del tratamiento con sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2 de la Península de Yucatán***

Fecha: 06 de junio de 2017      Lugar: Centro de salud de Xocén, Valladolid

Nombre del voluntario:

Edad:      Sexo:

Temperatura Corporal:      Pulso:      Frecuencia Respiratoria:

Presión Sanguínea:      Oximetría capilar:

Fondo de ojo:

Hora de administración de medicamento:

Tipo de muestra Sangre total	Tiempo de muestreo	Hora de la toma	Volumen extraído (ml)	Persona quien extrajo la muestra	Valor de glucosa (mg/dl)
1	t0				
2	t15'				
3	t30'				
4	T45'				
5	t1h				
6	t1.5h				
7	t2h				
8	t2.5h				
9	t3h				
10	t4h				
11	t5h				
12	t6h				
13	t7h				
14	t8h				
15	t10h				
16	t12h				
17	t24h				

## ANEXO 4: Condiciones cromatográficas y de espectrometría de masas

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS						
COLUMNA	KINETEX C18 , 50 X 4.6 mm y 5µm C229-1					
PRECOLUMNA	NA					
FASE MÓVIL	ACETONITRILO:ÁCIDO FÓRMICO 0.1% (75:25 VV)					
FLUJO	0.8 ml/min					
VOL. DE INYECCION	10µl					
TEMPERATURA DE LA COLUMNA	35°C					
TEMPERATURA DE AUTOMUESTREADOR	5°C					
LAVADO DE LA AGUJA	Antes y después de cada corrida, sol. De lavado METANOL:H <sub>2</sub> O (50:50 VV)					
TIEMPO DE CORRIDA	2.7 min					
CONDICIONES ESPECTOMETRÍA DE MASAS						
ESI	POSITIVO					
MOLÉCULA	Q1			Q2		
GLIBENCLAMIDA	494.1			369.100		
GLIMEPIRIDA	491.098			126.083		
COMPOUNDS						
MOLÉCULA	DP	EP	CEP	CE	CXP	DWELL TIME
GLIBENCLAMIDA	38	5	16	23	3	400
GLIMEPIRIDA	33	5	25	40	3.8	400
SOURCE/GAS						
CURTAIN GAS	CUR		20			
COLLISION GAS	CAD		8			
IÓN SPRAY VOLTAGE	IS		4500			
TEMPERATURA	TEM		500			
ION SOURCE GAS 1	GS1		30			
ION SOURCE GAS 2	GS2		30			
RESOLUTION						
Q1	Bajo					
Q3	Bajo					