



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA

**ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 QUE
RECIBEN TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA, METFORMINA O AMBAS Y SU
RELACIÓN CON LA EFICACIA TERAPEÚTICA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. CUAUTLE RODRÍGUEZ PATRICIA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN ARCADIO MOLINA GUARNEROS

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

DR. SERGIO ALBERTO CUEVAS COVARRUBIAS

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

TUTOR INVITADO: DR. ADRIÁN LLERENA RUIZ

FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA, ESPAÑA

MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2019



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.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FMED

OFICIO CPCB/1094/2019

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

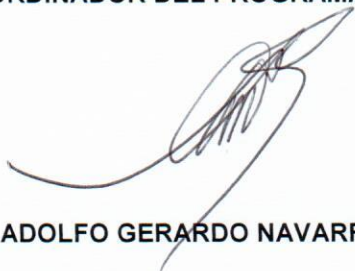
Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas(Biomedicina) del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **13 de mayo de 2019** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** del estudiante **CUAUTLE RODRÍGUEZ PATRICIA** con número de cuenta **98049064** con la tesis titulada **"ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DE CYP2C9 EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 QUE RECIBEN TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA, METFORMINA O AMBAS Y SU RELACIÓN CON LA EFICACIA TERAPÉUTICA"**, realizada bajo la dirección del **DR. JUAN ARCADIO MOLINA GUARNEROS**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
Vocal: DR. ABRAHAM LANDA PIEDRA
Secretario: DR. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA
Suplente: DRA. DIANA BARRERA OVIEDO
Suplente: DRA. MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 10 de octubre de 2019

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



c. c. p. Expediente del alumno

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX
Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

A los apoyos recibidos del Programa de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica de la Dirección General de Apoyo a Personal Académico UNAM: Proyecto PAPIIT No. IN218216 e IN203418.

A la AUIP (Asociación de Universidades de Iberoamérica de Posgrados) por la beca de Movilidad Académica, Convocatoria 2015.

Al apoyo recibido de la Junta de Extremadura, Agencia Extremeña de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AEXCID): Optimización del uso de Medicamentos en Poblaciones Indígenas y Mestizas Iberoamericanas (PATLI: 18IA003).



Al tutor del presente trabajo: Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros

A los miembros del Comité Tutor: Dr. Sergio Alberto Cuevas Covarrubias y Dr. Rafael Villalobos Molina

Al tutor invitado: Dr. Adrián Llerena Ruiz

LISTA DE FIGURAS
LISTA DE TABLAS
LISTA DE ABREVIACIONES

1. RESUMEN		1
1.1 Abstract		4
2. INTRODUCCIÓN		7
2.1 Diabetes Mellitus Tipo 2		8
2.2 Prevalencia y mortalidad de la DMT2 en el mundo y en México		10
2.3 Tratamiento farmacológico de la DMT2		12
2.4 Glibenclamida		13
2.5 Citcromo CYP2C9		15
2.6 Polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en voluntarios sanos		19
2.7 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en el metabolismo de glibenclamida en voluntarios sanos		21
2.8 Polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en pacientes con DMT2		23
2.9 Implicaciones clínicas de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en el tratamiento con glibenclamida		24
2.9.1 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en la respuesta a glibenclamida		24

	Página
2.9.2 Principal reacción adversa a glibenclamida: hipoglucemia	25
2.9.3 Interacciones con otros fármacos: sustratos, inhibidores e inductores de CYP2C9	26
2.10 Otros factores relacionados con DMT2 y CYP2C9	28
2.11 Biomarcadores de respuesta a glibenclamida	30
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	32
4. OBJETIVOS	34
4.1 Objetivo general	34
4.2 Objetivos particulares	35
5. METODOLOGÍA	36
5.1 Diseño del estudio y selección de los pacientes	36
5.2 Genotipificación de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3, *6 e <i>IVS8-109A>T</i>)	39
5.2.1 Colección de las muestras de sangre	39
5.2.2 Aislamiento de ADN genómico (ADNg)	39
5.2.3 Caracterización de las muestras de ADNg y acondicionamiento para amplificación (PCR en tiempo real)	40
5.2.4 PCR-RFLP: estandarización de condiciones y genotipificación de <i>CYP2C9</i> *2 y <i>CYP2C9</i> *3	41
5.2.5 PCR en tiempo real: genotipificación de mues- tras para <i>CYP2C9</i> *2, <i>CYP2C9</i> *3 y <i>CYP2C9</i> *6	42
5.2.6 PCR-RFLP: genotipificación <i>IVS8-109A>T</i>	43
5.3 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>): Implicaciones clínicas	44
5.3.1 Revisión de expedientes clínicos y generación de base de datos	44
5.4 Análisis estadístico	45

	Página
6. RESULTADOS	47
6.1. Genotipificación de <i>CYP2C9</i>	50
6.1.1 Descripción de frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) en pacientes con DMT2 Mexicanos	50
6.1.2 Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> (*2 y *3) en pacientes con DMT2 mexicanos y de diferentes poblaciones	51
6.1.3 Frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) en pacientes con DMT2 y voluntarios sanos mexicanos	54
6.1.4 Frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) en pacientes con DMT2 y voluntarios sanos de diferentes poblaciones	57
6.2 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>): Implicaciones clínicas	59
6.2.1 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) en los biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno, %HbA1c y control glucémico	61
6.2.2 Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) en los biomarcadores de respuesta en pacientes con DMT2 de diferentes poblaciones (México, Egipto e India)	64
6.2.3 Polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) y la principal reacción adversa a glibenclamida en pacientes con DMT2 mexicanos	66

	Página
6.2.4 Interacciones con otros fármacos: sustratos e inhibidores de CYP2C9 en pacientes con DMT2 mexicanos	67
6.2.5 Otros factores relacionados con DMT2 y CYP2C9 (dosis prescrita/día, género y obesidad)	68
6.2.5.1 Dosis prescrita/día	68
6.2.5.2 Género y Obesidad	70
7. DISCUSIÓN	73
8. CONCLUSIONES	90
9. LITERATURA CITADA	92
10. APÉNDICES	118
9.1 Apéndice I: Artículo requisito para obtención de grado de Doctora en Ciencias	118
9.2 Apéndice II: Dos artículos de investigación	131
9.3 Apéndice III: Tres artículos de revisión	149
10. Anexo I: Consentimiento Informado	179
10.1 Anexo II: Aprobación del Comité de Ética e Investigación, Facultad de Medicina, UNAM	186
10.2 Anexo III: Citas I	189
Citas II	190
10.3 Anexo IV: Comparaciones mediante χ^2 con Corrección de Yates y P-valor: Biomarcadores de respuesta en muestra ajustada por genotipos	192
10.4 Anexo V: Lista de sustratos e inhibidores de CYP2C9	193

FIGURAS

	Página
Figura 1. Principales complicaciones de la DMT2 [9]	9
Figura 2. Prevalencia de la diabetes en el mundo: 2013-2017 y proyecciones: 2035-2040 [12]	10
Figura 3. Países con mayor número de personas con diabetes en 2017 y la proyección para 2045 [12]	11
Figura 4. Principales causas de muerte en México: 2016 [9, 12]	11
Figura 5. Mecanismos de acción de los hipoglucemian- tes orales [23-25]	12
Figura 6. Estructura química de glibenclamida [27, 28]	14
Figura 7. Mecanismo de acción de glibenclamida: secreción de insulina [29]	14
Figura 8. Estructura molecular del gen <i>CYP2C9</i> y sus principales variantes alélicas [41-44]	16
Figura 9. Enzimas metabolizadoras de fármacos <i>CYP450</i> : participación en el metabolismo de fármacos [48, 6]	18
Figura 10. Distribución geográfica de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> en voluntarios sanos [49]	19
Figura 11. Identificación de los polimorfismos <i>CYP2C9</i> *2 y <i>CYP2C9</i> *3 en muestras de voluntarios sanos mexicanos-mestizos [36, 40]	20
Figura 12. Identificación de los polimorfismos <i>CYP2C9</i> *2 y <i>CYP2C9</i> *3 en muestras de pacientes con DMT2 en el mundo [64-66, 72- 74, 97, 124, 126-130]	24

	Página
Figura 13. Implicaciones clínicas de <i>CYP2C9</i> : polimorfismos, inducción, inhibición [86]	27
Figura 14. Métodos de genotipificación utilizados para las muestras de pacientes con DMT2 mexicanos [140, 141]	37
Figura 15. Cuantificación de ADNg de muestras de pacientes con DMT2 mexicanos	40
Figura 16. Integridad de las muestras de ADNg de pacientes con DMT2 mexicanos	41
Figura 17. Muestras ajustadas de ADNg de pacientes con DMT2 mexicanos	41
Figura 18. Polimorfismos *2, *3 e IVS8-109T en una Muestra de pacientes mexicanos con DMT2.	50

TABLAS

	Página
Tabla 1. Características demográficas, antropométricas clínicas y hábitos de la muestra de pacientes con DMT2 mexicanos	48
Tabla 2. Características clínicas y bioquímicas de la muestra de pacientes con DMT2 mexicanos	49
Tabla 3. Descripción de las frecuencias alélicas y geno- típicas de <i>CYP2C9</i> en los pacientes con DMT2 mexicanos	51
Tabla 4. Distribución y comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> en pacientes con DMT2 mexicanos y otras poblaciones del mundo	53
Tabla 5. Distribución y comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> en voluntarios sanos y pacientes con DMT2 mexicanos	55
Tabla 6. Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de México y otras poblaciones	58
Tabla 7. Comparación de frecuencias alélicas y genotípi- cas de <i>CYP2C9</i> (<i>IVS8-109A>T</i>) en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de México y otras poblaciones del mundo	59
Tabla 8. Frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2C9</i> en una muestra de pacientes con DMT2 mexicanos de acuerdo al tratamiento farma- cológico	60

Tabla 9. Combinación de polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>) con respecto a los biomarcadores de respuesta (glucosa en ayuno y %HbA1c)	62
Tabla 10. Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> en el biomarcador glucosa en ayuno y control glucémico en pacientes con DMT2 mexicanos y en otras poblaciones	65
Tabla 11. Efecto de los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> en el biomarcador %HbA1c y control glucémico en pacientes con DMT2 mexicanos	65
Tabla 12. Distribución de eventos hipoglucémicos de acuerdo a los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (biomarcador glucosa <70 mg/dL) en pacientes con DMT2 mexicanos	66
Tabla 13. Distribución de sustratos e inhibidores de acuerdo a la combinación de polimorfismos de <i>CYP2C9</i> en pacientes con DMT2 mexicanos	67
Tabla 14. Características antropométricas, clínicas y bioquímicas de los pacientes con DMT2 mexicanos de acuerdo al genotipo de <i>CYP2C9</i>	69
Tabla 15. Efecto del género en los biomarcadores de respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 Mexicanos de acuerdo a los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>)	71
Tabla 16. Efecto de la obesidad en los biomarcadores de respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 mexicanos de acuerdo a los polimorfismos de <i>CYP2C9</i> (*2, *3 e <i>IVS8-109A>T</i>)	72

Abreviaturas

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2

ATP: Trifosfato de adenosina

OMS: Organización Mundial de la Salud

WHO: World Health Organization

IDF: International Federation of Diabetes (IFD)

AFR: Región de África

EUR: Región de Europa

MENA: Región Medio Oriente y de África del Norte

NAC: Región de América del Norte y del Caribe

SACA: Región de América del Centro y Sur

SEA: Región de Asia del Sur Este

WP: Región de Pacífico Occidental

M: Millones

ENT: Enfermedad no transmisibles

GLP: Péptido similar al glucagon

DPP-4: Dipeptidil peptidasa-4

SUs: Sulfonilureas

SUR1: Receptor de sulfonilureas 1

NOM: Norma Oficial Mexicana

2016 MC: 2016 Medio Camino

K: potasio

Ca: Calcio

GLUT-2: Transportador de glucosa 2

ADP: Difosfato de adenosina

h: hora

AUC: area under curve

t_{1/2}: tiempo de vida media

C_p: Concentración plasmática

CYP2C9: Enzima metabolizadora de fármacos de la familia 2, subfamilia C proteína 9

M1: 4-trans-hidroxi-glibenclamida

M2: 3-cis-hidroxi-glibenclamida

K_b: kilo bases

p_b: pares de bases

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido

A: Adenina

C: Citosina

G: Guanina

T: Timina

P_x: Farmacogenética

P_k: Farmacocinética

Arg: Arginina

Cys: Cisteína

Ile: Isoleucina

Leu: Leucina

Thr: Treonina

Asp: Ácido aspártico

Glu: Ácido glutámico

IM: Índice Metabólico (concentración fármaco/concentración de metabolitos)

E-3174: Metabolito de losartán

CYP2C8: Enzima metabolizadora de fármacos fase I, familia 2, subfamilia C, proteína 8

CYP2C19: Enzima metabolizadora de fármacos fase I, familia 2, subfamilia C, proteína 19

CYP2C18: Enzima metabolizadora de fármacos fase I, familia 2, subfamilia C, proteína 18

HNF4 α: Factor nuclear 4 α (hepatocito)

PXR: Receptor X de pregnano

PPAR: Receptor activado por proliferadores de peroxisomas

CAR: receptor constitutivo de androstano

AhR: Receptor de hidrocarburos de arilos

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

Da: Daltones

PM: Metabolismo lento

IM: Metabolismo intermedio

EM: Metabolismo rápido

UM: Metabolismo ultra-rápido

AINES: Anti-inflamatorios no esteroideos

AA: Ácido Araquidónico

EETs: Ácidos Epoxieicosatrienólicos

HETEs: Ácidos hidro-epoxieicosatrienólicos

ADN: Ácido desoxiribonucleico

rs: referencia SNP

delA: delección de adenina

mm: mexicanos-mestizos

USA: Estados Unidos de Norte América

UK: Reino Unido

Cl: depuración

EUA: Estados Unidos de América

mg: miligramos

n: tamaño de la muestra

UI: Unidades internacionales

L: Litro

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social

CMNSXXI: Centro Médico Nacional Siglo XXI

OR: Odds Ratio (Razón de ventajas)

HbA1c: Hemoglobina glicada fracción A1c

RAM: Reacciones adversas a medicamentos

CPCNP: Cáncer de pulmón de células no pequeñas

PKC: Proteína Cinasa C

FG: Fasting Glucose

ADA: Asociación Americana de Diabetes

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

mL: mililitros

°C: grados Centígrados

nm: nanómetros

UV: ultra violeta

TAE: Amortiguador Tris-Acetato-EDTA

mM: mili Molar

pH: medida de acidez o alcalinidad

V: volt

Rt-PCR: reacción en cadena de polimerasa en tiempo real

Ile: Isoleucina

ng: nanogramos

μg: microgramo

mg: miligramos

TaqMan: Sondas de hidrólisis

PCR-PLFR: Reacción en cadena de polimerasa-polimorfismos en la longitud de los

fragmentos de restricción

dNTPs: trifosfatos de desoxirribonucleósidos

MgCl₂: Cloruro de magnesio

s: segundos

U: Unidades

TBE: Tris-Borato-EDTA

SPSS: Statistical Package for the Social Science

SSA: Secretaría de Salud

CAR: receptor constitutivo de androstano

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

CYP2C9: gen que codifica para la enzima CYP2C9

CYP2C8: gen que codifica para la enzima CYP2C8

CYP2C19: gen que codifica para la enzima CYP2C19

ABCC8: gen que codifica para 4 subunidades de la proteína Kir 6.2

KCNJ11: gen que codifica para 4 subunidades del receptor de sulfonilureas-1

ADNg: Ácido desoxirribonucleico genómico

HTA: Hipertensión arterial

IMC: Índice de masa corporal

Kg/m²: kilogramo por metro cuadrado

Kg: kilogramo

mmHg: milímetros de mercurio

%: por ciento

FID: Federación Internacional de Diabetes (FID)

ABC: Área bajo la curva

ADRs: Adverse Drug Reactions

SCLC: Small Cells Lung Cancer

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad multifactorial y crónica de alta prevalencia a nivel mundial (14.5%) y en México (14.7%), cuyo principal tratamiento farmacológico en la clínica es mediante el uso de sulfonilureas; particularmente en México, la más utilizada es glibenclamida. Sin embargo, se ha reportado una amplia variabilidad en la respuesta a sulfonilureas, 20% de reacciones adversas (hipoglucemia) y falla terapéutica o bajo porcentaje de eficacia (25-57%). De acuerdo a la literatura esta variabilidad se podría explicar por factores genéticos, principalmente por polimorfismos de un solo nucleótido en la enzimas metabolizadoras de fármacos, proteínas transportadoras, blancos farmacológicos; o bien por factores ambientales (edad, género, enfermedad, tratamientos concomitantes, co-morbilidades).

Glibenclamida y aproximadamente el 20% de los fármacos utilizados en la clínica son metabolizados por CYP2C9, cuyos principales polimorfismos (*CYP2C9**2, *3 y *6) se han asociado con un metabolismo lento de fármacos, mientras que para *IVS8-109A>T* no se ha definido su efecto y sólo se ha identificado en voluntarios sanos. Hasta el momento, no se conoce la distribución de los principales polimorfismos de *CYP2C9* en pacientes mexicanos con diabetes mellitus tipo 2, ni su efecto en los biomarcadores de respuesta más utilizados en la clínica.

El objetivo del presente estudio fue describir las frecuencias de las principales variantes alélicas de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109T*) en una muestra de 248 pacientes mexicanos con diabetes mellitus tipo 2 mediante la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (sondas TaqMan), así como compararlas con las de otras poblaciones y con respecto a voluntarios sanos mexicanos. Además,

describir si estas variantes tienen efectos observables en los biomarcadores de respuesta de uso rutinario en la clínica a partir de información de los expedientes clínicos de 199 pacientes.

Los principales resultados fueron los siguientes: 1) se observó una amplia variabilidad genética de *CYP2C9* descrita por primera vez en pacientes mexicanos, cuya frecuencia de la combinación del alelo *1 con alguna de las variantes *2, *3 o *T* fue del 36.29% y las frecuencias por genotipo fueron: *CYP2C9**1/*1-AT=20.97%, *CYP2C9**1/*1-TT=3.23%, *CYP2C9**1/*2-AA=4.84% y *CYP2C9**1/*3-AA=4.42%. Mientras que la frecuencia del genotipo *CYP2C9**1/*1-AA fue del 63.71%.

2) Las frecuencias de las variantes *2 y *3 en pacientes mexicanos fueron menores (*2: 4% y *3: 3% $p<0.05$) a las observadas en los pacientes de Europa (*2: 11-13% y *3: 0.3, 0.9 y 9-13%), África (*2: 15% y *3: 14%) y Asia (*2: 0 y 7% y *3: 7.5-9%). Sin embargo, las dosis de las sulfonilureas se han definido de acuerdo a los estudios en poblaciones europeas (más estudiadas), por ello la necesidad de establecer dosis heterogéneas entre individuos de una misma población o de diferentes poblaciones.

3) Con respecto a los voluntarios sanos mexicanos: se observó una mayor frecuencia de la variante *CYP2C9**2 en voluntarios sanos de la región norte de México (10%) que en pacientes (4%; $p<0.05$). Sin embargo, el tamaño reducido de las muestras de los estados del norte podría contribuir a esta diferencia. Mientras que la variante *IVS8-109T* fue menos frecuente en pacientes (16%; $p<0.05$) que en voluntarios sanos mexicanos (29%) y de otras poblaciones de Europa (32%) y Asia (37-42%).

4) Los efectos de los polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3 e *IVS8-109A>T*) en los biomarcadores de respuesta a glibenclamida más utilizados en la clínica: Se observaron tendencias de una menor concentración de glucosa en ayuno en los pacientes portadores de los genotipos *CYP2C9**1/*1-*AT* y *CYP2C9**1/*1-*TT* del grupo glibenclamida y glibenclamida/metformina con respecto a los portadores del genotipo *CYP2C9**1/*1-*AA*.

Además, se observó la tendencia a un mayor porcentaje de pacientes portadores de *CYP2C9**1/*3-*AA* con control glucémico (50%) con respecto a los portadores de *CYP2C9**1/*1-*AA* (24%) y *CYP2C9**1/*1-*AT* (25%) del grupo glibenclamida/metformina (glucosa en ayuno); de manera similar a lo reportado en pacientes de la India y de una muestra de pacientes de México (%HbA1c), donde se observó una asociación significativa del genotipo *CYP2C9**1/*3 y el control glucémico. En cambio, con respecto a los pacientes de Egipto, ésta asociación sólo se observó en portadores del genotipo *CYP2C9**2/*3.

5) En este estudio se observó que los pacientes portadores del genotipo *CYP2C9**1/*1-*AT* recibieron una menor dosis prescrita de glibenclamida comparada con los portadores de *CYP2C9**1/*1-*AA* (2.5 vs 10 mg; $p<0.05$) y tuvieron una tendencia a menor concentración de glucosa en ayuno (20 mg/dL).

6) Se describió por primera vez la prescripción de sustratos e inhibidores de *CYP2C9* con respecto a la combinación de polimorfismos y se observó una tendencia a una mayor prescripción de sustratos (50%) e inhibidores (60%) en pacientes portadores del genotipo *CYP2C9**1/*1-*AA*.

ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus is a multifactorial and chronic disease with high prevalence worldwide (14.5%) and in Mexico (14.7%), whose main pharmacological treatment in the clinic is through the use of sulphonylureas; particularly in Mexico, the most widely used is glibenclamide. However, wide variability has been reported in response to sulphonylureas, 20% adverse reactions (hypoglycaemia) and therapeutic failure or low percentage of efficacy (25-57%). According to the literature this variability could be explained by genetic factors, mainly by polymorphisms of a single nucleotide in the metabolising enzymes of drugs, transporting proteins, pharmacological targets; or environmental factors (age, gender, disease, concomitant treatments, co-morbidities). Glibenclamide and approximately 20% of the drugs used in the clinic are metabolized by CYP2C9, whose main polymorphisms (*CYP2C9**2, *3 and *6) have been associated with slow drug metabolism, while for *IVS8-109A>T* its have only been identified in healthy volunteers. So far, the distribution of the main *CYP2C9* polymorphisms in mexican patients with type 2 diabetes mellitus is not known, nor their effect on the most commonly used response biomarkers in the clinic. The objective of this study was to describe the frequencies of the main allelic variants of *CYP2C9* (*2, *3, *6 and *IVS8-109T*) in a sample of 248 mexican patients with type 2 diabetes mellitus by real-time polymerase chain reaction (TaqMan probes), as well as comparing them with those of other populations and with a review of healthy mexican volunteers. In addition, describe whether these variants have observable effects on routinely used response biomarkers in the clinic based on information from the clinical records of 199 patients.

The main results were as follows: 1) a wide genetic variability of *CYP2C9* first described in mexican patients was observed, whose frequency of the combination of allele *1 with one of the *2, *3 or *T* variants was 36.29% and the frequencies by genotype were: *CYP2C9**1/*1-*AT* 20.97%, *CYP2C9**1/*1-*TT* 3.23%, *CYP2C9**1/*2-*AA* 4.84% and *CYP2C9**1/*3-*AA* 4.42%. While the frequency of *CYP2C9**1/*1-*AA* genotype was 63.71%.

2) The frequencies of variants *2 and *3 in mexican patients were lower (*2: 4% and *3: 3% $p<0.05$) to those observed in patients in Europe (*2: 11-13% and *3: 0.3, 0.9 and 9-13%), Africa (*2: 15% and *3: 14%) Asia (*2: 0 and 7% and *3: 7.5-9%). However, the doses of sulphonylureas have been defined according to studies in European populations (more studied), therefore the need to establish heterogeneous doses between individuals of the same population or of different populations.

3) With respect to healthy mexican volunteers: a higher frequency of *CYP2C9**2 was observed in healthy volunteers from the northern region of Mexico (10%) (4%; $p<0.05$). However, the small size of samples from the northern states could contribute to this difference. While variant *IVS8-109T* was less common in patients (16%; $p<0.05$) than in healthy mexican volunteers (29%) and other populations in Europe (32%) Asia (37-42%).

4) The effects of *CYP2C9* polymorphisms (*2, *3 and *IVS8-109A>T*) on the glibenclamide response biomarkers most commonly used in the clinic: Trends of lower fasting glucose concentration were observed in patients carrying *CYP2C9**1/*1-*AT* and *CYP2C9**1/*1-*TT* genotypes of the glibenclamide and glibenclamide/metformin group with respect to carriers of the *CYP2C9**1/*1-*AA*

genotype. In addition, the trend to a higher percentage of patients carrying *CYP2C9**1/*3-AA with glycaemic control (50%) was observed. *CYP2C9**1/*1-AA carriers (24%), *CYP2C9**1/*1-AT (25%) of the glibenclamide/metformin group (glucose in fasting); similar to what was reported in patients in India and a sample of patients from Mexico (%HbA1c), where a significant association of *CYP2C9**1/*3 genotype and glycaemic control was observed. In contrast, for patients in Egypt, this association was only observed in carriers of the *CYP2C9**2/*3 genotype.

5) This study found that patients carrying *CYP2C9**1/*1-AT received a lower prescribed dose of glibenclamide compared to *CYP2C9**1/*1-AA carriers (2.5 vs 10 mg; $p<0.05$) and had a tendency to lower glucose concentrations in fasting (20 mg/dL).

6) The prescription of *CYP2C9* substrates and inhibitors with respect to the combination of polymorphisms was first described and a tendency to higher substrate prescribing (50%) was observed and inhibitors (60%) patients with *CYP2C9**1/*1-AA genotype.

2. INTRODUCCIÓN

La variabilidad en la respuesta a medicamentos, la heterogeneidad en los requerimientos de dosis, la interacción en el metabolismo de medicamentos y la presencia de efectos adversos entre individuos han sido ampliamente reportados y se atribuyen a factores ambientales (características de las enfermedades, género, co-morbididades, tratamientos concomitantes, etc.) y genéticos. Es por ello que áreas de estudio como la farmacogenética y más tarde la farmacogenómica, surgieron para explicar la variabilidad en el transporte, metabolismo de fármacos (farmacocinética), y en los receptores o blancos moleculares de fármacos (farmacodinamia) de acuerdo a factores genéticos, así como sus implicaciones clínicas para predecir y/o mejorar la respuesta en pacientes.

Enfermedades complejas como la Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), que se presentan con alta prevalencia (8.8%), un bajo porcentaje de eficacia de los tratamientos farmacológicos (25-57%), una variabilidad en la respuesta a los tratamientos farmacológicos, alto porcentaje de reacciones adversas (20% de hipoglucemias) y la presencia de complicaciones por falta de control glucémico, que impactan a la calidad de vida, productividad laboral, gastos de salud de los pacientes y a los sistemas de salud [1, 2, 3, 4].

2.1 DIABETES MELLITUS TIPO 2

La DMT2 es una enfermedad multifactorial, poligénica y crónica [4-7], considerada como la más prevalente de los tipos de diabetes (90-95% de los casos). Se caracteriza por condiciones de hiperglucemia debido a la disminución en la concentración de insulina secretada y en el número de células beta pancreáticas, así como por la resistencia a la insulina en tejidos (adiposo y muscular) [4-6]. Dichas condiciones se han asociado con el desarrollo y progresión hacia una hiperglucemia crónica, que más tarde dirige a complicaciones micro y macrovasculares al no mantenerse las concentraciones normales de glucosa (normoglucemia) [5-9].

En condiciones de normoglucemia, la concentración de glucosa regula la glucólisis, la concentración de ATP (trifosfato de adenosina) y de calcio intra-celular [10], así como a la insulina liberada por las células beta, que representan del 65-90% de los islotes de Langerhans; pero si la concentración de glucosa plasmática se incrementa (hiperglucemia) y la resistencia a la insulina no es compensada [9-11], entonces la secreción de insulina postprandial se desfasa y se genera una hiperglucemia postprandial, así como una continua e inapropiada producción de glucosa hepática [7, 8].

Los pacientes con DMT2 presentan con frecuencia diversas co-morbididades como depresión, enfermedades músculo-esqueléticas, enfermedades cardio-vasculares,

hipertensión arterial, enfermedades pulmonares, asma, obesidad, cáncer, etc., además de las complicaciones micro (retinopatía, nefropatías y neuropatías) y las macro vasculares (ateroesclerosis con alto riesgo de infarto al miocardio, eventos cerebro-vasculares, etc.) asociadas con la hiperglucemia crónica (Figura 1) [12, 11, 9].

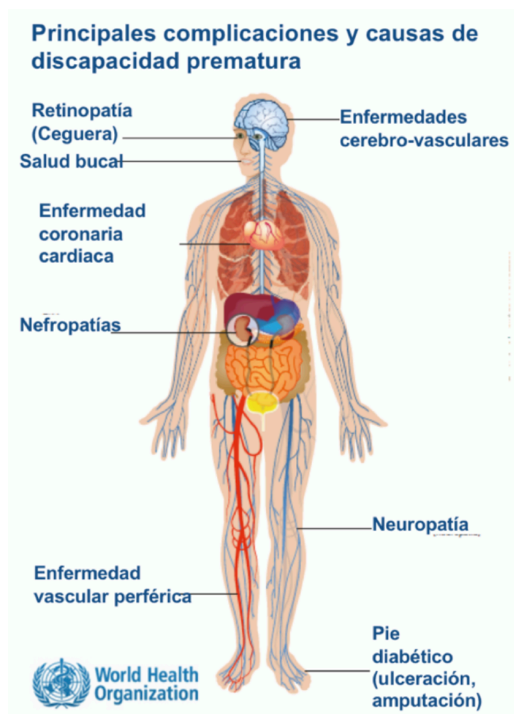


Figura 1. Principales complicaciones de la DMT2 [9].

Por ejemplo, la hiperglucemia en la retina dirige a la acumulación de sorbitol, a la pérdida de la capacidad contráctil, isquemia y hemorragias mayores que dañan los capilares e inducen la muerte celular [12-15]. En cambio, en otros tejidos produce vasodilatación de las arteriolas aferente y eferente, aumento del flujo plasmático renal que desencadena en nefropatía, mientras que la neuropatía se relaciona con la activación de la aldosa reductasa y la glucosilación de proteínas por disminución de inositol en los nervios que dirigen a una pérdida de la sensibilidad [15, 12].

2.2 PREVALENCIA Y MORTALIDAD DE LA DMT2 EN EL MUNDO Y EN MÉXICO

La DMT2 es considerada como un problema de salud mundial debido al incremento de su prevalencia de manera continua (Figura 2). Por ejemplo, en 2017 se identificaron 425 millones de pacientes (8.8%) [16, 12, 4] y se ha estimado que para el 2045 habrán 629 millones (9.9%) [4, 5, 12, 16]. Dentro de este contexto, México ocupa el quinto lugar en la lista de países con mayor número de casos, 12 millones de pacientes [6-9, 12] (Figura 3).

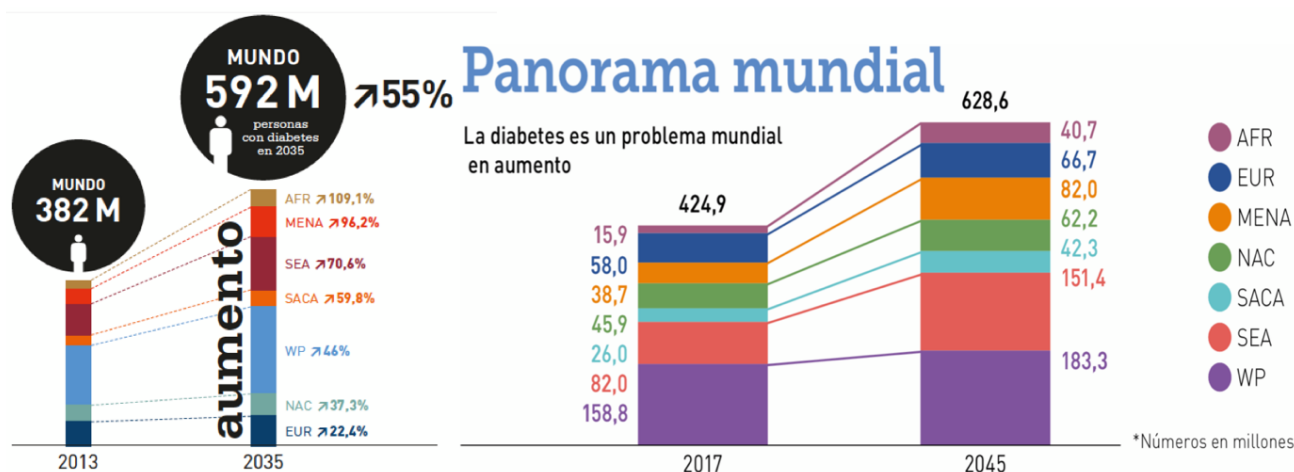


Figura 2. Prevalencia de la Diabetes en el mundo: 2013-2017 y proyecciones: 2035-2045 [12].

Además, la DMT2 es la primer causa de morbilidad y uno de los principales factores de riesgo de muerte y muerte prematura en el mundo (13.76%) [5, 7-9, 16, 17], ya que en 2017 se estimaron 4 millones de muertes (10.7%) [7, 9], mientras que en México es la segunda causa (Figura 4) [16, 17, 9]. Tanto la muerte prematura como

la discapacidad, las complicaciones y los costos de tratamientos farmacológicos, se han asociado con un impacto económico negativo para los servicios de salud y para los pacientes [16- 18].

Tabla 3.2 Los diez países/territorios con mayor número de personas con diabetes (20 a 79 años), 2017 y 2045

2017			2045		
Clasif.	País/ territorio	Número de personas con diabetes	Clasif.	País/ territorio	Número de personas con diabetes
1	China	114,4 millones (104,1-146,3)	1	India	134,3 millones (103,4-165,2)
2	India	72,9 millones (55,5-90,2)	2	China	119,8 millones (86,3-149,7)
3	Estados Unidos	30,2 millones (28,8-31,8)	3	Estados Unidos	35,6 millones (33,9-37,9)
4	Brasil	12,5 millones (11,4-13,5)	4	México	21,8 millones (11,0-26,2)
5	México	12,0 millones (6,0-14,3)	5	Brasil	20,3 millones (18,6-22,1)
6	Indonesia	10,3 millones (8,9-11,1)	6	Egipto	16,7 millones (9,0-19,1)
7	Federación Rusa	8,5 millones (6,7-11,0)	7	Indonesia	16,7 millones (14,6-18,2)
8	Egipto	8,2 millones (4,4-9,4)	8	Pakistán	16,1 millones (11,5-23,2)
9	Alemania	7,5 millones (6,1-8,3)	9	Bangladesh	13,7 millones (11,3-18,6)
10	Pakistán	7,5 millones (5,3-10,9)	10	Turquía	11,2 millones (10,1-13,3)

Figura 3. Países con mayor número de personas con diabetes en 2017 y proyección: 2045 [9, 12].

México

Mortalidad proporcional (% del total de muertes, todas las edades)

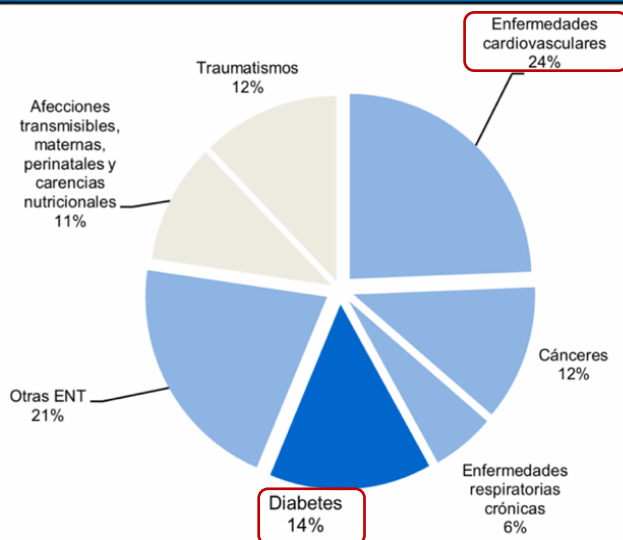


Figura 4. Principales causas de muerte en México: 2016 [9, 12].

2.3 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DMT2

De acuerdo a las guías actuales de práctica clínica (por ejemplo, Proyecto NOM-015-SSA2-2018 de observancia obligatoria en México) [18, 19], el tratamiento farmacológico para la DMT2 se enfoca en lograr el control glucémico ($\%HbA1c < 7$) y prevenir o evitar complicaciones [9, 18], y se ha reportado en la literatura que los hipoglucemiantes orales son los más utilizados entre el 50-66% de los pacientes. Dichos fármacos se agrupan en 5 categorías de acuerdo a su mecanismo de acción:

a) absorción de glucosa (inhibidores de α -glucosidasas), b) almacenamiento de la glucosa en hígado y producción de la glucosa hepática (biguanidas), c) secreción de insulina (sulfonilureas y meglitinidas), d) incremento en la sensibilidad de la insulina (tiazolidinidionas) y e) análogos de proteínas (Figura 5) [20-22, 3-5].

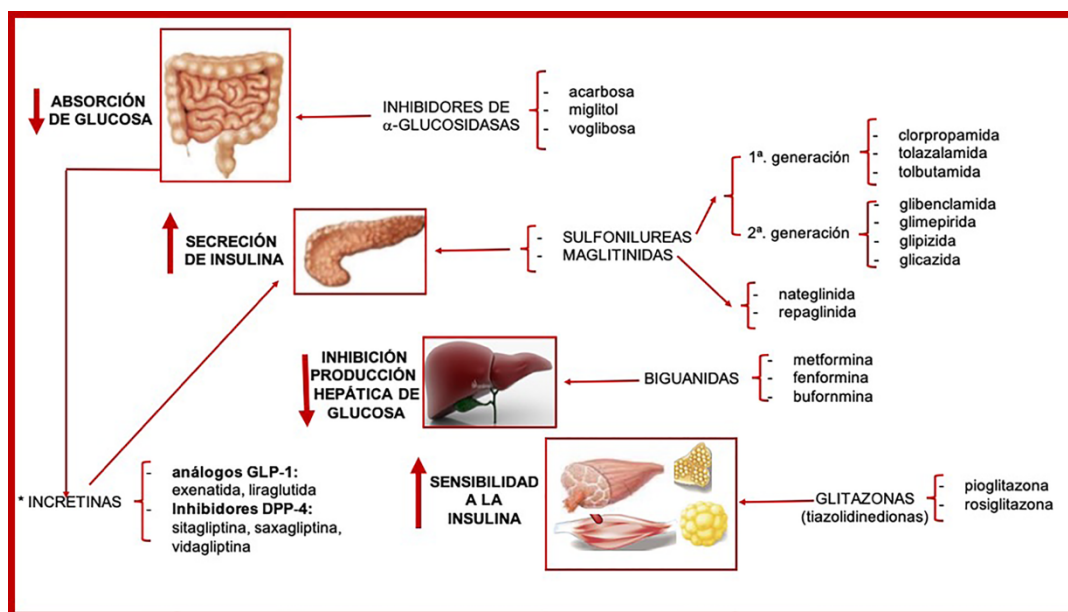


Figura 5. Mecanismos de acción de los hipoglucemiantes orales [23-25].

Las sulfonilureas (SUs: tolbutamida, glibenclamida, glimepirida, glipizida y glicazida) [26,14-15] disminuyen la concentración de glucosa en sangre tras promover la secreción de insulina [20, 26], y son las más utilizadas en la clínica como primera línea en pacientes no obesos y como segunda línea, en adición a la metformina [27, 28]. Sin embargo, se ha reportado una amplia variabilidad en la respuesta, falla al tratamiento o bajo porcentaje en la eficacia (25-57%) [3], interacciones en el metabolismo de fármacos y reacciones adversas (principalmente hipoglucemia: hasta el 20%), que se han reportado en diversos estudios y se atribuyen a factores genéticos, ambientales, patológicos, fisiológicos, etc. [7, 8, 20, 28, 29]. Es por ello que, la identificación de las variantes genéticas que influyen en la farmacocinética y farmacodinamia representan una oportunidad para mejorar los resultados al tratamiento y evitar reacciones adversas.

En México, el 67.9-76.7% de los pacientes con DMT2 reciben tratamiento con hipoglucemiantes orales, y dentro de estos porcentajes, el 80-85% reciben tratamiento con sulfonilureas, principalmente con glibenclamida (Encuesta Nacional de Salud: 2012 y 2016 MC) [13, 16].

2.4 GLIBENCLAMIDA

Glibenclamida (gliburida) es una sulfonilurea de segunda generación (Figura 6), que estimula la secreción de insulina mediante la inhibición de los canales de potasio

sensibles a ATP expresados en las células beta pancreáticas [21, 26, 28, 30]. Dicho bloqueo se da tras la interacción de glibenclamida en dos sitios distintos de unión, posiblemente a ambos lados de la membrana de las células beta. A su vez, se genera un incremento en la concentración de potasio intracelular, la despolarización de la membrana y el incremento de la concentración de calcio intracelular por la apertura de canales de calcio, lo que finalmente promueve el movimiento y exocitosis de gránulos transportadores de insulina (Figura 7) [21-28, 30-33].

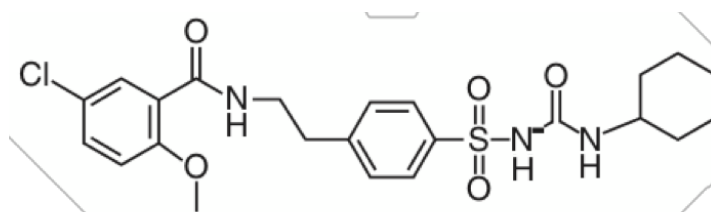


Figura 6. Estructura química de glibenclamida [27, 28].

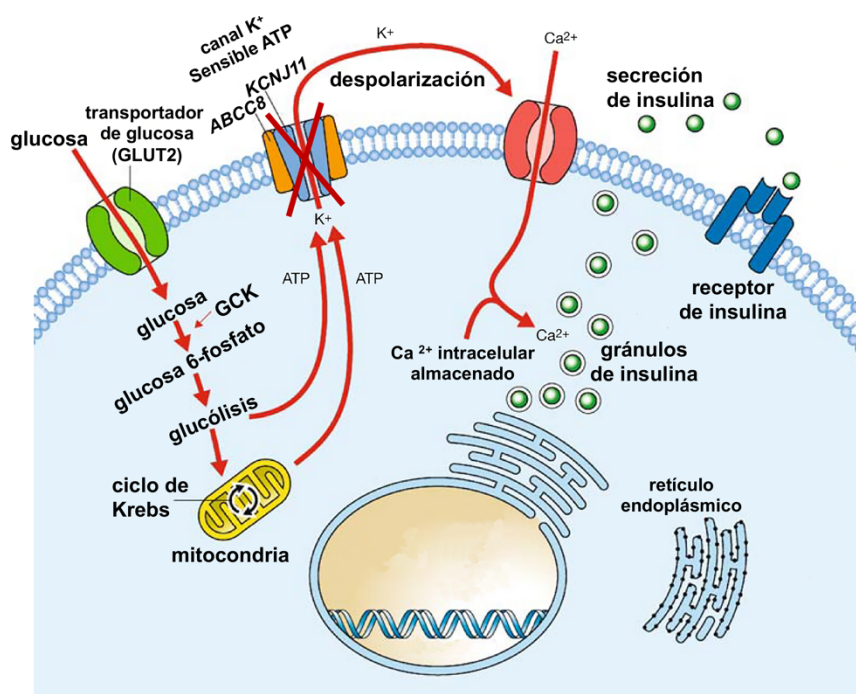


Figura 7. Mecanismo de acción de glibenclamida: secreción de insulina [29].

Tras la administración de glibenclamida, se ha observado que su biodisponibilidad es del 60-75%, mientras que existe una amplia variabilidad en su concentración plasmática y en su tiempo de vida media: 1.5-9.3 h (a una sola dosis), 10 h cuando se incluye a los metabolitos y una duración del efecto de 12 h a 15 días (dosis múltiples) [27, 28, 31-33].

Glibenclamida es metabolizada principalmente por la enzima CYP2C9 [9,10] a 4-trans-hidroxi-glibenclamida (M1) y 3-cis-hidroxi-glibenclamida (M2) [31, 32] en una proporción 3:1 ó 6:1 (M1:M2), estos metabolitos presentan un perfil farmacocinético y un efecto hipoglucemiante similar al fármaco parental, por ejemplo, el metabolito M1 presenta una actividad del 97% comparado con glibenclamida, es por ello que se ha asociado con el efecto prolongado y con hipoglucemia (principal reacción adversa) [27-29, 31-33].

2.5 CITOCROMO CYP2C9

El gen *CYP2C9* (55 kb) se encuentra en el cromosoma 10q23.33 [34-37] y se agrupa junto con otros miembros de la sub-familia 2C: *CYP2C8*, *CYP2C18* y *CYP2C19*. Aunque *CYP2C18* es altamente expresado, su transcrito no se traduce de manera eficiente y su contribución no es significativa en el metabolismo de fármacos, mientras que *CYP2C8* y *CYP2C19* tienen una menor expresión (2 a 10 veces) que *CYP2C9* [36-38].

La estructura molecular de *CYP2C9* consta de 8 intrones y 9 exones, dentro de los cuales se han descrito 6 sitios de reconocimiento de sustrato y 60 variantes alélicas (polimorfismos de un solo nucleótido; SNP). Los polimorfismos son variaciones estables en algún locus de la secuencia genética, detectados al menos en el 1% de la población [35-39].

Las variantes alélicas de *CYP2C9* observadas con mayor frecuencia en las poblaciones son *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*; la primera, es producto de un SNP en el exón 3 (C/T) y la segunda en el exón 7 (A/C) (Figura 8), y de acuerdo con varios estudios, los polimorfismos de *CYP2C9* pueden explicar hasta un 40% de la variabilidad en la respuesta a sulfonilureas (farmacogenética) entre individuos de la misma población (variabilidad interindividual) y también entre individuos de diferentes poblaciones (variabilidad inter-étnica) [35-44].

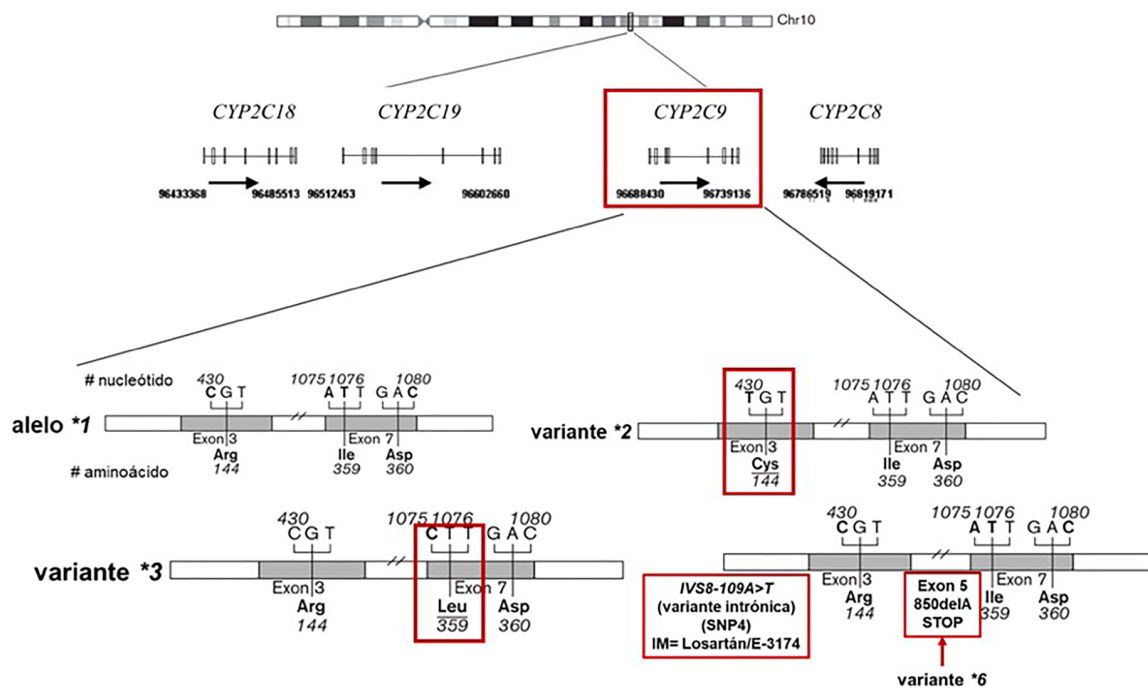


Figura 8. Estructura molecular del gen *CYP2C9* y sus principales variantes alélicas [40-44].

Entre los mecanismos de regulación específica del gen *CYP2C9* se encuentran al menos 3 elementos en la región promotora: un sitio HNF4 alpha (-139 a -125), un elemento de respuesta a glucocorticoides (-1676 a -1662) y un sitio de elemento de respuesta PXR (-1818) que parece ser el más importante para la inducción por rifampicina [35, 38]. Mientras que a nivel pos-transcripcional se ha descrito la estabilización y/o degradación del mRNA o la proteína por medio de compuestos endógenos o exógenos [35, 38, 45-47].

El sistema de enzimas CYP es una súper familia de más de 50 mono-oxigenasas (grupo hemo) localizadas en las membranas del retículo endoplásmico, principalmente en el hígado. En particular, *CYP2C9* (Arg144, Ile359, Asp360; 450 Da) se expresa de manera constitutiva (490 aminoácidos) en mayor proporción en hígado que en intestino delgado, páncreas y cerebro (humanos) [39-47] y su actividad puede inducirse por diversos sustratos (rifampicina, barbitúricos y glucocorticoides, etc.), pero también inhibirse o bien, disminuirse por otros sustratos (itraconazol, sulfafenazol, omeprazol) y/o factores genéticos (SNPs) [46, 47]. Además, las enzimas de la sub familia *CYP2C* presentan un alto grado de identidad en su secuencia de aminoácidos (80%). Sin embargo, solamente *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2C19* son considerados de importancia clínica (en general, metabolizan hipogucemiantes orales) [37, 40, 43, 45].

Las principales isoenzimas de *CYP2C9* tienen una menor actividad y se ha reportado que *CYP2C9*2* (Cys144, Ile359, Asp360) presenta una disminución del

35%, mientras que en CYP2C9*3 (Arg144, leu359, Asp360) la disminución es hasta del 85%, y CYP2C9*6 no tiene actividad al ser una proteína trunca (850delA) [35-38, 41-44]. Es por ello que los individuos homócigos con estas isoenzimas se conocen como "metabolizadores lentos" y tienen mayor probabilidad de presentar reacciones adversas y aquellos individuos con un metabolismo más rápido (metabolizadores ultra-rápidos) tendrían mayor probabilidad de no alcanzar el efecto farmacológico deseado (falla del tratamiento) [36, 39, 40, 45].

CYP2C9 metaboliza del 15-20% de los fármacos utilizados en la clínica (Figura 9) [46-50], tal es el caso de anti-inflamatorios no esteroideos (AINES), anti-epilépticos, anti-hipertensivos, cardiovasculares, anti-coagulantes y sulfonilureas como la glibenclamida [48] que es la prescrita con mayor frecuencia en México para el tratamiento de la DMT2 (80-85%) [6, 48, 40, 44-48].

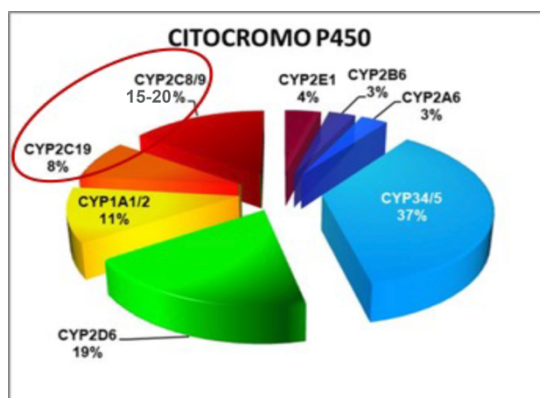


Figura 9. Enzimas metabolizadoras de fármacos CYP450: participación en el metabolismo de fármacos [48, 6].

Los citocromos de la subfamilia CYP2 (C y J) también metabolizan sustratos endógenos como el ácido araquidónico (AA) a sus metabolitos EETs y HETES que

actúan como mensajeros en varios sistemas biológicos, que incluyen la liberación de hormonas peptídicas como la insulina, y también catalizan las reacciones de síntesis de ácidos biliares e hidroxilación de andrógenos [41-44, 47].

2.6 POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2 , *3 e *IVS8-109A>T*) EN VOLUNTARIOS SANOS

Los polimorfismos más frecuentes de *CYP2C9* identificados en voluntarios sanos son *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3; mientras que *CYP2C9**6 (850delA) es poco común [35, 36, 38, 40, 49], además, se ha reportado una amplia variabilidad entre poblaciones, o bien en función del grupo étnico. Por ejemplo, la variante *2 es más frecuente entre caucásicos (13.21-14.68%) comparado con americanos-mestizos y nativos (7.12% y 1.25%) [36, 40, 45, 49, 50] y en mexicanos-mestizos su prevalencia oscila entre 3-14% [40, 49, 50]. En cambio, la variante *CYP2C9**3 se ha observado con mayor frecuencia entre asiáticos del sur (11.66%) comparado con americanos (3.94-2.38%), y la prevalencia en mexicanos-mestizos se ha reportado entre el 0.1-5% [36, 40, 45, 49, 50] (Figura 10).

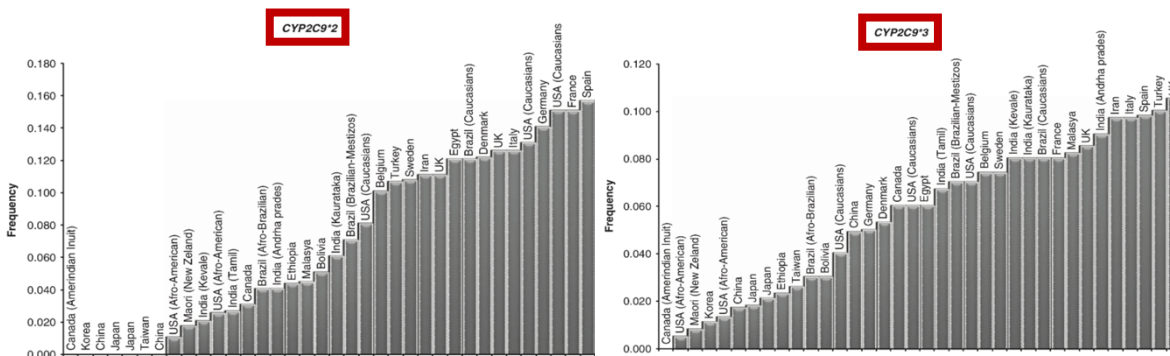


Figura 10. Distribución geográfica de los polimorfismos de *CYP2C9* en voluntarios sanos [49].

Antes del 2011 no se habían descrito las frecuencias de estas variantes en voluntarios sanos mexicanos y hasta el momento (2019), se han descrito las frecuencias de las primeras muestras de la población mexicana-mestiza (México: 9 estados) (Figura 11).

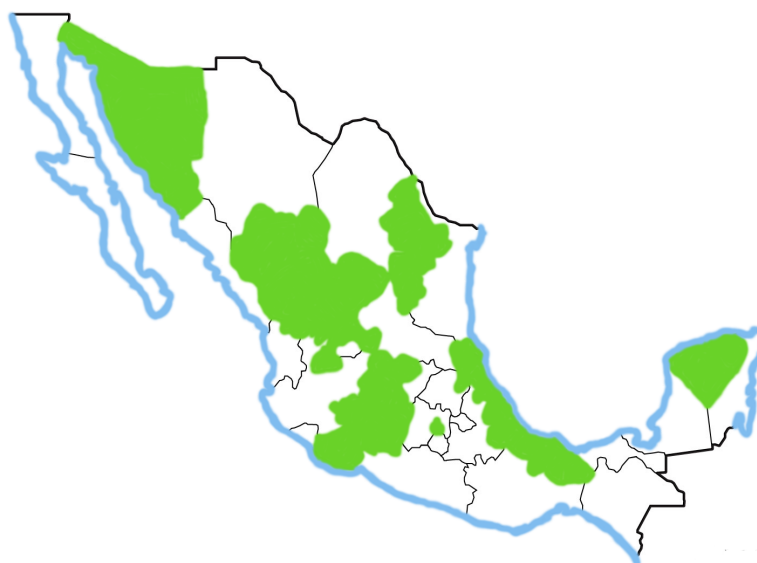


Figura 11. Identificación de los polimorfismos *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en muestras de voluntarios sanos mexicanos-mestizos (2011-2016) [36, 40].

Mientras que, el polimorfismo intrónico *IVS8-109T* (*CYP2C9*) fue descrito por primera vez en voluntarios sanos suecos, en quienes su ausencia se asoció con el metabolismo ultra-rápido de losartán. Más tarde, este polimorfismo se identificó en muestras de individuos de Corea, Japón y Ecuador, pero no se observó el mismo fenotipo; y en mexicanos, sólo se ha descrito la frecuencia del alelo *T* en voluntarios sanos y aún no se ha estudiado su efecto en el metabolismo de fármacos en voluntarios sanos ni en pacientes [39, 45, 51].

2.7 EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2 y *3) EN EL METABOLISMO DE GLIBENCLAMIDA EN VOLUNTARIOS SANOS

La relación del genotipo con la capacidad de hidroxilación de las enzimas CYP (fenotipo metabólico), según varios autores, se ha clasificado principalmente en 2 tipos de metabolismo: lento (portadores de dos alelos no funcionales o bien, portadores de un alelo funcional y otro no) y rápido (portadores de dos alelos funcionales). Sin embargo, otros autores mencionan dos categorías más, que no son tan evidentes como las anteriores: metabolismo intermedio (generalmente, un alelo funcional y otro no) y ultra-rápido (portadores de más de dos copias de genes activos) [6, 36, 40, 45, 48, 51, 53-55].

La influencia de los polimorfismos de *CYP2C9* en el metabolismo de las SUs se estudió inicialmente con la administración de una dosis de tolbutamida como fármaco prueba (fenotipificación) y se observó la asociación de las variantes *2 y *3 con el metabolismo lento de tolbutamida mediante la determinación de los parámetros farmacocinéticos (área bajo la curva: ABC; concentración plasmática: Cp; tiempo de vida media: $t_{1/2}$; y depuración: Cl) en muestras de las poblaciones de EUA (Estados Unidos de América), Alemania y China (9 estudios) [56-59]. Sin embargo, tolbutamida tiene propiedades y características estructurales distintas a glibenclamida, y en estudios previos se ha observado que cada una de las sulfonilureas presenta su propio perfil farmacocinético. Por ejemplo, glipizida y

glibenclamida (sulfonilureas de segunda generación) a dosis casi idénticas, la primera estimula una mayor concentración de insulina postprandial y una menor concentración de glucosa en ayuno comparado con glibenclamida [55-59].

La influencia de los polimorfismos de *CYP2C9* en el metabolismo de glibenclamida (farmacocinética) sólo se ha estudiado en caucásicos (1.75 y 3.5 mg) y en orientales, (5 mg) [26, 28, 30] en quienes se observó un metabolismo lento en portadores del genotipo *CYP2C9**1/*3 comparado con portadores de *CYP2C9**1/*1 tras la administración de 1.75 mg ($t_{1/2}$: 2.6 vs 1.7 h; $p < 0.05$) ó 5 mg ($t_{1/2}$: 3.58 vs 2.09; $p < 0.05$), y con 3.5 mg de glibenclamida sólo se observó un efecto similar en los portadores de *CYP2C9**3/*3 ($t_{1/2}$: 6.20 vs 2.56 h; $p < 0.05$) [60-63]. Mientras que, respecto a la respuesta a glibenclamida (farmacodinamia), se observó una mayor concentración de insulina en europeos portadores de *CYP**3/*3 (Alemania: 0.86 vs 0.56 UI/L; $n = 21$) y en orientales portadores *CYP2C9**1/*3 (China: 2h – basal; 278.02 vs 105.73 UI/L; $n = 18$), comparado con los portadores de *CYP**1/*1 [55, 61].

Sin embargo, diferencias entre voluntarios sanos [8] y pacientes con DMT2 se han observado en la regulación de la secreción de insulina endógena, en umbrales variables e influenciados por el control glucémico, cambios en la absorción (absorción reducida: ampicilina, metoclopramida; o aumentada: glipizida) [60-63], distribución (aumento en la concentración de ácidos grasos libres, glicación no enzimática albúmina, fracción de fármaco libre), metabolismo de fármacos y de sustratos endógenos (incremento contenido hepático), etc; adicional a ello, SNPs que no se hayan identificado aún en pacientes con DMT2 también podrían influir.

Un ejemplo de lo anterior podría ser la variante intrónica *IVS8-109>T* cuyo efecto aún es controversial, puesto que en voluntarios sanos de Suecia se asoció con un mayor índice metabólico de losartán (IM= concentración de fármaco/metabolito) [39, 45, 51] comparado con los portadores de *AA*; pero en ecuatorianos se observó un efecto contrario. Hasta el momento no se ha descrito este polimorfismo en pacientes con DMT2, por ello la necesidad de realizar estudios sobre la influencia de los polimorfismos de *CYP2C9* en pacientes con DMT2 en poblaciones como la mexicana, ya que la extrapolación de información observada en voluntarios sanos puede diferir con la observada en pacientes y también entre poblaciones.

2.8 POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2 y *3) EN PACIENTES CON DMT2

En pacientes con DMT2 se ha observado una mayor frecuencia de la variantes *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3 en una muestra de africanos (15% y 14%, respectivamente) [64], mientras que la primera no se observó y la segunda (*3) osciló entre 5-7% en asiáticos [64-66]. Sin embargo, estos polimorfismos sólo se han estudiado en muestras de 10 poblaciones en el mundo (Figura 12).

Recientemente, la frecuencia de estas variantes y algunos genotipos se describieron para pacientes con DMT2 mexicanos-mestizos adscritos al Instituto Mexicano del Seguro Social (Centro Médico Nacional Siglo XXI) [67]. Sin embargo, hasta el momento no se han reportado las frecuencias de los principales

polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109T*) y los genotipos en pacientes con DMT2 mexicanos ni de alguna población de América.

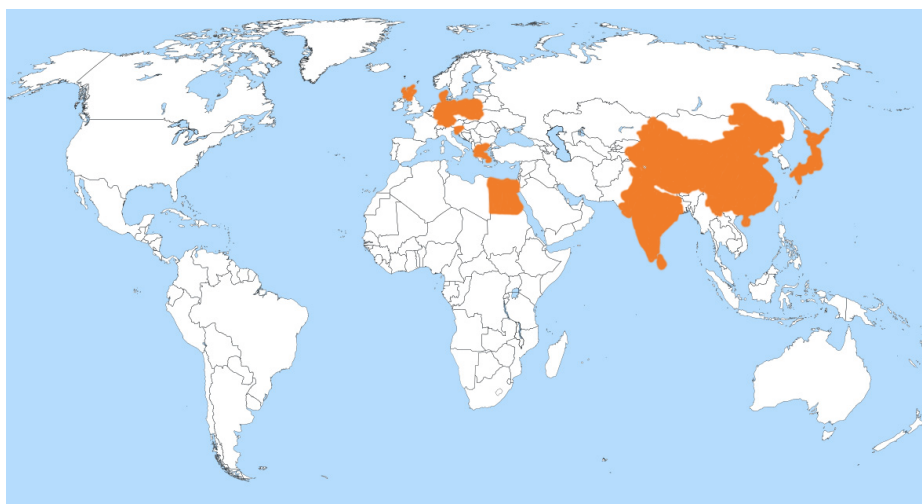


Figura 12. Identificación de los polimorfismos *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3 en muestras de pacientes con DMT2 en el mundo (2005-2016). Datos tomados de [64-66, 72-74, 97, 124, 126-130].

2.9 IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2 Y *3) EN PACIENTES EN TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA

2.9.1 EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2 y *3) EN LA RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA

Las sulfonilureas son los hipoglucemiantes orales más prescritos, pero los efectos de los polimorfismos de *CYP2C9* en la variabilidad en la respuesta sólo se han descrito en 15 estudios. En particular, glibenclamida sólo se ha estudiado en pacientes de India y Egipto, en quienes se observó una mayor frecuencia de

portadores de *CYP2C9**1/*2, *1/*3 y *CYP2C9**2/*3 con control glucémico (glucosa en ayuno: <110 y 130 mg/dL) que los portadores de *CYP2C9**1/*1 (50%, India y 89%, Egipto; $p<0.01$) [64-68]. Mientras que, en pacientes de China se observó que la variante *CYP2C9**3 no se asoció con la eficacia al tratamiento ($OR=1.038$, $p>0.05$); y recientemente se observó en una muestra de pacientes mexicanos que, sólo la variante *CYP2C9**3 se asoció con el control glucémico ($\%HbA1c<7$; $OR=2.779$, $p<0.05$) [64-68]. Por otro lado, *IVS8-109T* aún no ha sido estudiada en pacientes con DMT2, y sólo se ha estudiado en voluntarios sanos y en una pequeña muestra de pacientes con epilepsia, donde la prevalencia del alelo *T* se asoció con concentraciones supra-terapéuticas (0.13 vs 0.03, $p<0.05$) [39, 45, 51].

2.9.2 PRINCIPAL REACCIÓN ADVERSA A GLIBENCLAMIDA: HIPOGLUCEMIA

Las reacciones adversas a medicamentos (RAMs) se definen como una respuesta nociva o no deseada, no intencional, que ocurre con el uso de fármacos normalmente usados para profilaxis, diagnóstico o tratamiento de alguna enfermedad [69-72], las cuales tienen un impacto en la salud pública debido a que reducen la calidad de vida de los pacientes, incrementan la mortalidad (hipoglucemias severas), morbilidad (demencia, convulsiones, eventos cardiovasculares mayores) y se han asociado con el 7% de las admisiones hospitalarias [73-75].

La incidencia de hipoglucemias en pacientes en tratamiento con sulfonilureas es mayor al 20%, principalmente con el uso de sulfonilureas con metabolitos activos como glibenclamida, o por la acumulación del fármaco debido a la inhibición de las enzimas CYP (interacciones con inhibidores y/o sustratos) [76, 77]. Debido a ello la importancia de identificar biomarcadores farmacogenéticos que ayuden a predecir las reacciones adversas [74, 75].

La asociación de eventos hipoglucémicos con los polimorfismos de *CYP2C9* (*2 y *3) en pacientes en tratamiento con sulfonilureas se ha reportado en 6 estudios, pero sólo en 4 la asociación fue positiva, pero glibenclamida sólo se consideró en un estudio y no se encontró asociación con los polimorfismos de *CYP2C9* [74].

2.9.3 INTERACCIONES CON OTROS FÁRMACOS: SUSTRATOS, INHIBIDORES E INDUCTORES DE CYP2C9

La interacción de fármacos se define como la interferencia de los efectos de un fármaco por la co-administración de otros fármacos, nutrientes, hierbas, alcohol o tabaco; dicha interacción en el metabolismo de fármacos (farmacocinética) resulta en el incremento o disminución de efectos benéficos, falla terapéutica o reacciones adversas [77-80]. En pacientes con DM2 el riesgo de interacciones en el metabolismo de fármacos es alto debido a la polifarmacia o politerapia para el manejo de co-morbididades (dislipidemia, hipertensión, enfermedades del corazón,

depresión, infecciones, etc.), ya que podrían modificar la respuesta a los hipoglucemiantes [80-82], además de los SNPs (Figura 13).

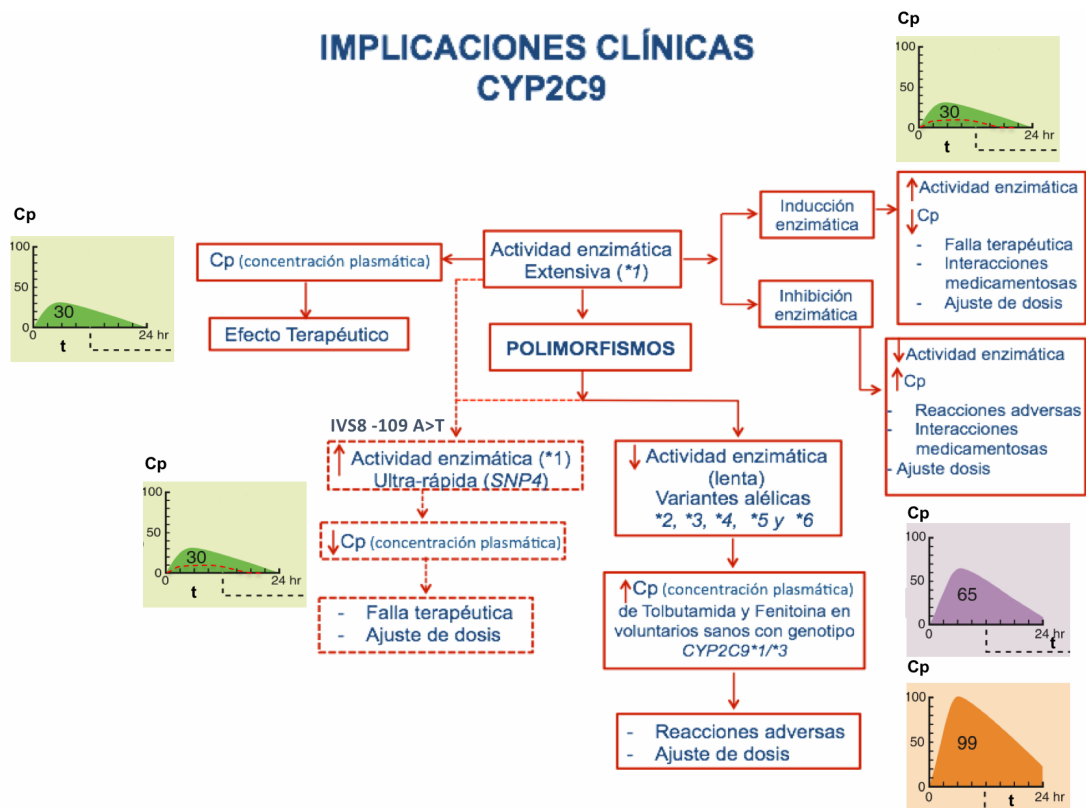


Figura 13. Implicaciones clínicas de CYP2C9: polimorfismos, inducción, inhibición [86].

Por ejemplo, en una muestra de pacientes con DMT2 de Brasil, la prevalencia de posibles interacciones con metronidazol, fluconazol y amiodarona fue 75% y en pacientes de Croacia se identificó en el 80.9% al menos una interacción [79-84]. Sin embargo, la información es limitada para los estudios de *CYP2C9*-sulfonilureas, donde sólo se ha reportado en pacientes de Finlandia la frecuencia del uso de inhibidores [81] y sustratos de *CYP2C9* y en pacientes de Alemania, [84-87], pero aún no hay reportes de este tipo de interacciones con el uso de glibenclamida, ni con los principales polimorfismos *CYP2C9**2, *3 e *IVS8-109T*, y tampoco en la población mexicana.

2.10 OTROS FACTORES RELACIONADOS CON DMT2 Y CYP2C9

Las enzimas CYP2C también se han vinculado con algunas enfermedades y sus características, como es la disminución de crecimiento de tumor y metástasis en cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC; humanos), la agresividad de algunas células cancerosas (incremento en la expresión de CYP2C9), el desarrollo de enfermedades vasculares, alta incidencia de disfunción eréctil en ratones con diabetes, hipertensión y DMT2 (ratones) [87-90]. Sin embargo, las evidencias de la asociación de CYP2C y diabetes en humanos es escasa.

Las enzimas de la sub familia CYP2C y en particular CYP2C9, metabolizan el 77% del AA; que es un ácido graso (20 carbonos, 6-poli-insaturado) liberado de las membranas celulares por la fosfolipasa A2 y que tiene funciones fisiológicas importantes en la inflamación, la permeabilidad y fluidez de la membrana celular, la modulación de canales iónicos, en la apoptosis, etc. [91-95]. Los principales metabolitos del AA son los ácidos epoxi eicosatrienoicos (EETs) y ácidos hidroxiepoxi eicosatrienoicos (HETES), los cuales también tienen propiedades anti-inflamatorias, vasodilatadoras (disminución de la presión sanguínea), vasoconstrictoras, de inhibición de la biosíntesis de tromboxanos (plaquetas) y disminución de la agregación plaquetaria, entre otros [96-99].

En estudios realizados en modelos murinos de diabetes e *in vitro* (líneas celulares y hepatocitos primarios) se observaron mayores concentraciones de insulina a bajas concentraciones de EETs, ya sea mediante regulación negativa con inhibidores, por

regulación en la expresión de CYP2C o por polimorfismos (*2 y *3). Sin embargo, también se ha reportado que el AA, podría estimular la secreción de insulina mediante la activación de la vía PKC (Protein Kinase C) y la movilización de calcio a partir de almacenes intra-celulares o por el metabolismo de moléculas de señalización. Además, la secreción de insulina inducida por glucosa podría estar acoplada a la activación de las fosfolipasas para la liberación del AA [91-99]. Dicha controversia observada en la secreción de insulina inducida por EETs y/o por AA en diabetes es de interés para la etiología y para el tratamiento de la DMT2 en humanos, de ahí la necesidad de más estudios que vinculen a la enzima CYP con la DMT2.

Otros factores distintos a los genéticos que podrían influir en la respuesta a medicamentos son: a) el género: debido a hormonas sexuales, en particular los estrógenos que podrían modular la expresión de las enzimas CYP[100-102], y asociarse con una mayor secreción de insulina [103-106] y con la susceptibilidad a enfermedades crónicas (esclerosis múltiple, artritis reumatoide, etc.) en mujeres [102-103, 107]; b) la edad: debido a diferencias en la composición de masa muscular y grasa corporal, ya que las personas mayores de 60 años suelen tener una menor masa muscular y mayor cantidad de grasa [108, 109]. Además, la edad podría modificar la actividad de algunas enzimas de fase I, pero aún no es claro. Por ejemplo, se han observado diferentes concentraciones de fenitoína (metabolizada por CYP2C9) en pacientes con diferentes edades, y en algunos estudios se ha observado la disminución en el número de células beta pancreáticas a mayor edad [108, 109]; c) otras enfermedades: la obesidad se ha asociado con la resistencia a

la insulina, lipotoxicidad e inclusive con el aumento o disminución del número de células beta y su función [110-126].

2.11 BIOMARCADORES DE RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA

La utilidad de los biomarcadores farmacogenéticos en la práctica clínica ayudarían a evitar o prevenir efectos adversos, fallas farmacológicas, al ajuste de dosis y la identificación de subgrupos de pacientes que requieran tratamientos específicos (medicina de precisión), y aún no hay disponibles para todos los fármacos [127-131]. Los polimorfismos genéticos de las enzimas metabolizadoras de fármacos y los biomarcadores clínicos asociados a la respuesta farmacológica son los más estudiados, y aunque los genotipos son estables en el tiempo, los fenotipos metabólicos pueden ser afectados por diversos factores (interacciones fármaco-fármaco, progreso de la enfermedad, etc.) y presentarse el fenómeno de fenocopia. Es por ello que el monitoreo de fármacos en pacientes podría proporcionar información relevante para el tratamiento [131-134].

La glucosa en ayuno (GA) y la hemoglobina glicada (HbA1c) son los biomarcadores de respuesta y monitoreo del control glucémico recomendados por la ADA y la OMS para el tratamiento de la DMT2 y que son utilizados de forma rutinaria en la clínica. La GA es el biomarcador más económico y disponible en los Centros de Salud, particularmente en México, pero depende de las variaciones del ritmo circadiano, la ingesta previa al ayuno, ayuno de 8 h, etc. [131-35].

En cambio, la HbA1c es la fracción de hemoglobina (%) que se une a la glucosa circulante de manera irreversible (glicación no enzimática) y permite conocer el grado de exposición a la glucemia (3 meses), así como la relación directa con el desarrollo y progreso de las complicaciones propias de la DMT2 [131-135]. Entre sus principales ventajas están la independencia de la concentración de la glucosa en sangre con respecto a factores agudos (estrés, ejercicio, dieta, etc.) y que no requiere ayuno para su determinación. Sin embargo, esta se utiliza en menor grado en México, ya que representa un costo mayor que la glucosa en ayuno y tiene desventajas como la variabilidad biológica (alta y baja glicación), la influencia de la etnicidad (mayores niveles en africanos-americanos que en asiáticos e hispanos), variabilidad por enfermedades hemolíticas, contribución de la dieta (hiperglucemia postprandial corresponde al 40% de la HbA1c) y depende del %HbA1c basal [131-135].

Cabe mencionar que, existe controversia en los resultados de estudios que evaluaron la correlación entre ambos biomarcadores; por ejemplo, en asiáticos se reportó correlación entre HbA1c y glucosa en ayuno, pero no en caucásicos. Ambos biomarcadores se han estudiado con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9* (*2 y *3) en pacientes caucásicos (Holanda e Inglaterra) en tratamiento con glicazida y en asiáticos (Japón y China) en tratamiento con glimepirida y glicazida [135-139]. Sin embargo, la GA se ha utilizado principalmente en pacientes de India, Egipto y China en tratamiento con glibenclamida, y sólo un estudio con %HbA1c<7 en pacientes de México [64-67].

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La DMT2 es una enfermedad compleja que representa un problema de salud pública debido a la alta prevalencia y a su crecimiento continuo en el mundo y en México, así como por la baja adherencia y/o abandono al tratamiento farmacológico que podrían estar relacionadas con las reacciones adversas (20% en tratamientos con sulfonilureas) o bien con una baja eficacia al tratamiento farmacológico (25-57%), que en conjunto reflejan una amplia variabilidad en la respuesta a las sulfonilureas (hipoglucemiantes orales).

En México, el 68-85% de los pacientes con DMT2 reciben tratamiento con glibenclamida y sólo el 25% están en control glucémico ($\%HbA1c < 7$; Encuesta Nacional de Salud 2012). Es decir, el 75% de los pacientes no tienen control glucémico a pesar del tratamiento, por lo que su probabilidad para desarrollar complicaciones micro y macrovasculares es mayor, así como también lo es el impacto a la calidad de vida, productividad laboral y la economía de los pacientes y sistemas de salud (costos directos e indirectos), además de las consecuencias fatales como la muerte prematura y muerte, que en México, la diabetes es la segunda causa.

Debido a lo anterior, la necesidad de realizar más estudios que incluyan factores que expliquen la amplia variabilidad en la respuesta a glibenclamida, ya que de acuerdo a la literatura, los polimorfismos podrían hacerlo hasta en un 40% para las sulfonilureas como toblutamida en muestras de poblaciones caucásicas y orientales. Sin embargo, glibenclamida y sus metabolitos activos que ejercen un

efecto prolongado comparado con otras sulfonilureas, y sólo se han estudiado en pacientes de Egipto, India y recientemente, en una muestra de mexicanos-mestizos. Cabe mencionar la importancia de considerar las diferencias entre poblaciones, la variedad de biomarcadores de respuesta utilizados entre estudios y factores como la interacción con sustratos e inhibidores, eventos hipoglucémicos, además de factores como el género, obesidad y dosis, que en un mismo estudio no se han considerado.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Describir las frecuencias de los principales polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*) en una muestra de pacientes mexicanos-mestizos con DMT2 que reciben tratamiento con glibenclamida, metformina o ambos y su relación con la eficacia terapéutica.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Describir las frecuencias de las principales variantes alélicas y genotípicas de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*) asociadas a los diferentes tipos de metabolismo en una muestra de pacientes mexicanos con DMT2 que reciben tratamiento con glibenclamida, metformina o ambas.
2. Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*) de pacientes mexicanos con DMT2 con las de otras poblaciones del mundo.
3. Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*) de mexicanos: voluntarios sanos y pacientes con DMT2.
4. Analizar los biomarcadores de respuesta a glibenclamida (concentración de glucosa en ayuno y % HbA1c) con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*).
5. Analizar la presencia de eventos hipoglucémicos, sustratos, inhibidores o ambos con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109A>T*).

5. METODOLOGÍA

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN DE PACIENTES

El presente estudio observacional se llevó a cabo con 248 muestras de pacientes mexicanos con DMT2 incluidos entre julio de 2014 a octubre de 2016 que recibieron atención médica en los Centros de Salud del Primer Nivel de Atención (Jurisdicción Benito Juárez, Ciudad de México). Los participantes fueron diagnosticados previamente, de acuerdo con los criterios de la OMS y la ADA. Todos ellos fueron adultos (18 años o más) con al menos tres generaciones de antepasados nacidos en México y sin parentesco entre ellos.

El estudio consistió en la genotipificación de las variantes alélicas de *CYP2C9* y en la revisión de expedientes clínicos para identificar los biomarcadores de respuesta a glibenclamida y otras variables (antropométricas, clínicas y bioquímicas) para analizar con respecto a los polimorfismos *CYP2C9*.

I. GENOTIPIFICACIÓN

El tamaño de la muestra se determinó de acuerdo a la prevalencia de la variante alélica menos frecuente (*CYP2C9*3*) reportada para voluntarios sanos mexicanos-mestizos de acuerdo a la fórmula para calcular el tamaño de muestra en estudios descriptivos, cualitativos para población infinita ($n=Z^2pq/d^2$). Participaron 248 pacientes con DMT2 en tratamiento con hipoglucemiantes orales, insulina, o sin tratamiento. Las muestras de sangre fueron obtenidas por el personal del laboratorio de los Centros de Salud, quienes asignaron el código de identificación, que se respetó y continuó con el inicial (Figura 14) [140, 141]).

II. REVISIÓN DE EXPEDIENTES CLÍNICOS

La revisión de expedientes clínicos se realizó a partir de los números de expedientes asignados por los Centros de Salud y de los códigos de las muestras asignados por ellos, por lo que el estudio fue doble ciego. A partir de estos expedientes, se obtuvo la información de acuerdo a la base de datos previamente diseñada: variables antropométricas (edad, género, IMC; etc.), bioquímicas (glucosa en ayuno, HbA1c, colesterol, triglicéridos, etc.) y clínicas (tiempo de diagnóstico, dosis promedio/día, presión arterial, etc.).

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: 1) pacientes en tratamiento con glibenclamida, metformina o ambas; 2) pacientes con dosis estable (concentración plasmática en estado estacionario: misma dosis durante 3 meses previo a la medición de los biomarcadores); 3) pacientes con expediente y registro médico en el centro de salud (características del tratamiento e informes de laboratorio con: %HbA1c, concentración de glucosa en ayunas, triglicéridos, colesterol, etc.).

Criterios de exclusión: pacientes con alcoholismo crónico, patología pancreática, insuficiencia renal, tratamiento con insulina u otro hipoglucemiante diferente o adicional, registros médicos insuficientes, DMT1 y retiro voluntario.

El protocolo de investigación fue aprobado por la Comisión de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina, UNAM; de conformidad con la Declaración de Helsinki sobre Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos.

Los pacientes que decidieron participar firmaron voluntariamente un consentimiento informado.

5.2 GENOTIPIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* **(*2, *3, *6 *E IVS8-109A>T*)**

5.2.1 COLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

Las muestras de sangre (6 mL) fueron tomadas y rotuladas con el código asignado por el personal del laboratorio de los Centros de Salud en tubos estériles con anticoagulante EDTA-potásico (Vacutainer®, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.) y se almacenaron a 4°C. Las muestras se trasladaron al laboratorio de Inmunofarmacología, donde se alicuotaron y almacenaron (4°C) hasta su análisis, se respeto el código asignado previamente.

5.2.2 AISLAMIENTO DE ADN GENÓMICO (ADNg)

A partir de 200 µl de la sangre periférica venosa de cada paciente, se extrajo el ADN genómico mediante los reactivos de ADN UltraClean® BloodSpin® (Mo Bio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, EE. UU.) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (incubación con proteinasa K, unión a membrana sílica-gel para adhesión de ADN, separación de contaminantes y lavados). El ADN fue eluido en 100 µL de amortiguador TE, se hicieron dos alícuotas de 50 µL y se almacenaron a -20 °C.

5.2.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ADN_g Y ACONDICIONAMIENTO PARA REACCIONES DE AMPLIFICACIÓN EN TIEMPO REAL

La pureza y cuantificación del ADN genómico se realizó mediante determinaciones espectrofotométricas a 260 y 280 nm en el equipo 7305 UV Jenway (Cole-Parker Ltd., Staffordshire, Reino Unido), la pureza se determinó mediante la relación $260/280 > 1.8$ (Figura 15). La integridad se verificó mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% (UltraPure™ Agarose, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) en amortiguador TAE 1X (Tris 40 mM, EDTA 1 mM, pH 8,3; Thermo Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) y se corrió la electrophoresis (Mini-Sub® Cell GT Cell Chamber, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) a 80 V por 40 minutos (Hoeffer power source).

Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0.5 g/L) por 10 minutos (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), se visualizaron en un transiluminador con luz UV (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) y se capturaron las imágenes digitales (Figuras 16 y 17). Una vez caracterizadas las muestras, se ajustaron sus concentraciones a 30 ng/μL en dos alícuotas de 50 μL que fueron almacenadas a -20 °C.

gADN-CUANTIFICACIÓN						
NÚMERO	No. MUESTRA	ALÍCUOTA	CUANTIFICACIÓN			
			260	260/280	μg gDNA	[ng/μL]
1	001	2/2 (1)	0.043	1.95	2.15	21.15
2	001	2/2 (2)	0.086	2	4.3	43
3	002	1/2 (1)	0.069	1.85	3.45	34.51
4	002	2/2 (2)	0.097	1.81	4.85	48.5
5	003	1/2 (1)	0.1	1.76	4.99	49.9
6	003	2/2 (2)	0.044	1.83	2.207	22.07
7	004	1/2 (1)	0.065	1.78	3.264	32.64
8	004	2/2 (2)	0.055	1.91	2.758	27.58
9	005	1/2 (1)	0.055	1.67	2.758	27.58
10	005	2/2 (2)	0.053	1.69	2.641	26.41
11	006	1/2 (1)	0.062	1.82	3.081	30.81
12	006	2/2 (2)	0.084	1.79	4.181	41.81
13	007	1/2 (1)	0.057	1.68	2.875	28.75
14	007	2/2 (2)	0.161	1.93	8.048	80.48
15	008	1/2 (1)	0.06	1.68	3.019	30.19
16	008	2/2 (2)	0.06	1.67	3.019	30.19
17	009	1/2 (1)	0.08	1.78	3.991	39.91
18	009	2/2 (2)	0.083	1.66	4.143	41.43
19	010	1/2 (1)	0.044	1.84	2.183	21.83
20	010	2/2 (2)	0.023	1.82	1.126	12.6

Figura 15. Cuantificación de ADN_g de muestras de pacientes con DMT2 Mexicanos

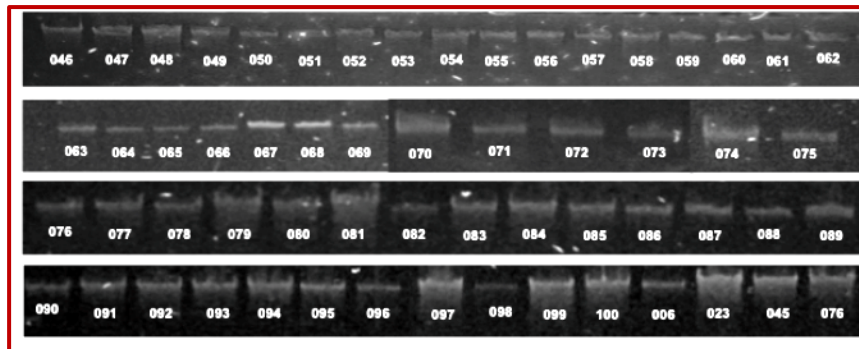


Figura 16. Integridad de las muestras de ADNg de pacientes con DMT2 Mexicanos

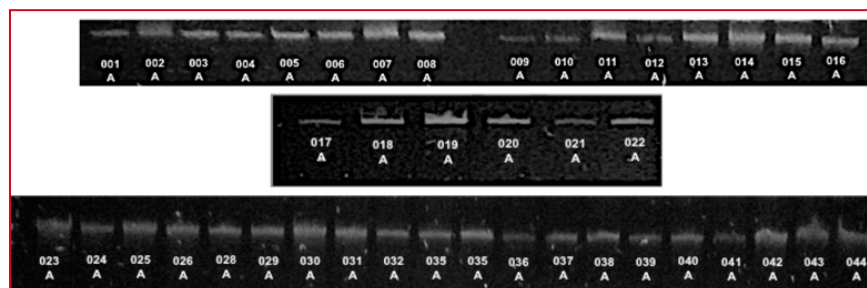


Figura 17. Muestras ajustadas de ADNg de pacientes con DMT2 Mexicanos

5.2.4 GENOTIPIFICACIÓN DE *CYP2C9*2* Y *CYP2C9*3*: PCR-PLFR

La identificación de la variante *CYP2C9*2* se realizó con los oligonucleótidos 2C9*2-F (5'GTATTTTGGCCTGAAACCCATA3') y 2C9*2-R (5'GGCCTTGGTTTTTCTCAACTC3') y las siguientes condiciones óptimas: a) concentración de oligonucleótidos: 1.0 μ M, b) temperatura de alineamiento: 59°C, c) cantidad de Taq polimerasa: 1.35 U y d) $MgCl_2$: 2 mM, para obtener un fragmento de 454 pb. La identificación de la variante *CYP2C9*3* se realizó con los oligonucleótidos C2C9*3-F (5'AATAATAATATGCACGAGGTCCAGAGATGC 3') y C2C9*3-R (5'GATACTATGAATTTGGGACTTC 3') y las condiciones óptimas: a) temperatura

de alineamiento: 59 °C, b) cantidad de Taq polimerasa: 1.5 U y c) MgCl₂: 2.0 mM, para obtener un fragmento de 137 pb.

La amplificación en punto final (PCR) y restricción enzimática (RFLP-PCR) se realizaron en un Mastercycler® personal (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) en un volumen final de 25 µL con 100 (*2) y 120 ng (*3) de ADN genómico, 0.2 mM de dNTPs (grado PCR Roche Diagnostics GmbH, Alemania), 2 mM de MgCl₂ y agua, de acuerdo a las siguientes condiciones: desnaturalización inicial durante 5 minutos a 95°C; treinta y cinco ciclos de 30 segundos a 95 °C; alineamiento a 59 °C durante 30 segundos; una extensión de 30 segundos a 72 °C y una extensión final de 7 minutos a 72 °C.

Los productos de amplificación se sometieron a digestión enzimática con Avall para la variante *2 (454 (*2): 397 + 57 (*1 ó *3)) y para la *3 Nsil (141 (*3): 110 + 31 (*1 ó *2)). Los productos de las digestiones se corrieron en geles de agarosa al 3 % para visualizar el patrón de bandeo en geles teñidos con bromuro de etidio (0.5 g/L) por 10 minutos (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), se visualizaron en un transiluminador con luz UV (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) y se capturaron las imágenes digitales.

5.2.5 PCR-TIEMPO REAL: GENOTIPIFICACIÓN DE MUESTRAS *CYP2C92, *CYP2C9**3 Y *CYP2C9**6**

El estudio de las variantes alélicas *CYP2C9**2, *3 y *6 se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real con sondas

TaqMan® (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) y por discriminación alélica con un sistema Fast 7300 en tiempo real (Applied Biosystems, Forster City, CA, EE. UU.). El volumen final de reacción fue 10 µL con 30 ng de ADN genómico (templado), 1X TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Forster City, CA, EE. UU.), 1X de cada sonda (*CYP2C9**2: C_25625805_10; *CYP2C9**3: C_27104892_10 y *CYP2C9**6: C_32287221_20) y agua. Las condiciones de amplificación fueron: 10 minutos para la desnaturalización inicial a 95 °C, seguido por cuarenta ciclos de 15 segundos de desnaturalización a 92 °C, y el alineamiento a 60 °C durante 1 minuto y 7 minutos de extensión final a 60 °C.

5.2.6 PCR-PLFR: GENOTIPIFICACIÓN DE *CYP2C9* (*IVS8-109A>T*)

El polimorfismo *IVS8-109A>T* se determinó mediante amplificación en punto final y restricción enzimática en el equipo Mastercycler® 384 (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania), con los oligonucleótidos (sentido: 5'CTGTTAAGATCTGATATTAGG3' y antisentido: 5'TGAAACATAAGGAACTCTCCG3'), en un volumen final de 25 µL con 30 ng de ADN genómico, 0.5 U EcoTaq polimerasa (Ecogen, Barcelona, España), 0.8 µL de oligonucleótidos, 0.2 mM de dNTPs (grado PCR Roche Diagnostics GmbH, Alemania), 2 mM de MgCl₂ y agua. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial durante 8 minutos a 95°C; treinta y cinco ciclos de 30 segundos a 95 °C; alineamiento a 54 °C durante 30 segundos; una extensión de 30 segundos a 72 °C y una extensión final de 7

minutos a 72 °C. Los productos de amplificación generados tuvieron un tamaño de 622 pb.

Las restricciones enzimáticas se realizaron con 10 U de enzima HinfI (New England Biolabs, Herts, Reino Unido) en un volumen final de 20 µL, 2 µL del producto de amplificación, amortiguador de restricción y agua. Se realizó la incubación durante 16 horas a 37 °C para lograr una digestión completa. La electroforesis se realizó en geles de agarosa al 2.5% (UltraPure™ Agarose, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) con amortiguador TBE 1X (Tris 89 mM, ácido bórico 89 mM, EDTA 2 mM; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.), el gel se tiñó con GelRed (GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000X; Biotium, Hayward, CA, USA) y se visualizó en el transiluminador Gel Doc 1000 (Bio-Rad Laboratories, Inc.). La variante *IVS8-109>T* se observó con la presencia de dos bandas: 468 y 154 pb.

5.3 BIOMARCADORES DE RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA CON RESPECTO A LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109A>T*)

5.3.1 REVISIÓN DE EXPEDIENTES CLÍNICOS Y GENERACIÓN DE BASE DE DATOS

Se realizó la revisión de expedientes clínicos y se capturó la información en una base de datos previamente diseñada para la obtención de información de interés

para el análisis. Se aplicaron los criterios de inclusión, exclusión y eliminación, y se determinó el número de pacientes incluidos en el análisis de los biomarcadores de respuesta a glibenclamida con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9*.

La información se clasificó como variables antropométricas y demográficas (edad, peso, IMC, obesidad, etc.), variables clínicas (tiempo de diagnóstico, tipo de hipoglucemiante ora, dosis promedio/día, co-morbilidades, tratamientos concomitantes, etc.) y variables bioquímicas (concentración de glucosa en ayuno, colesterol, triglicéridos, %HbA1c, etc). Además, otras variables de interés como los sustratos, inhibidores e inductores de *CYP2C9*. Los pacientes se agruparon de acuerdo con el hipoglucemiante prescrito: glibenclamida, metformina y glibenclamida/metformina.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos de la genotipificación de *CYP2C9* se realizó mediante la determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos estudiados en cada paciente. Se elaboró una base de datos y se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante X^2 . Las comparaciones estadísticas de las frecuencias de los polimorfismos de *CYP2C9* en pacientes mexicanos con DMT2 con las frecuencias reportadas en otras poblaciones, así como con respecto a las frecuencias reportadas en voluntarios sanos mexicanos, mediante la prueba exacta de Fisher o X^2 ; valores $p < 0.05$ se consideraron

estadísticamente significativos. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS IBM V24 (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.).

Las variables continuas se analizaron para determinar la distribución normal de los datos (Shapiro y Kolmogorov-Smirnov con corrección de Lilliefors) y las pruebas de homogeneidad de la varianza (prueba de Levene). Para las variables con distribución normal se obtuvieron los promedios y las desviaciones estándar, y las comparaciones se realizaron mediante ANOVA de una vía o t-Student. Para aquellas variables en que la distribución de datos no cumplieron con las pruebas de normalidad, se determinaron las medianas y los rangos intercuartílicos; y las comparaciones estadísticas se realizaron las pruebas de U Mann-Whitney o Kruskal-Wallis. Mientras que, las variables cualitativas se expresaron como frecuencias y porcentajes, las comparaciones se realizaron mediante χ^2 o Exacta de Fisher, para el control glucémico, la presencia de eventos hipoglucémicos (glucosa en ayunas <70 mg/dL; NOM-015-SSA2A1), la presencia de sustratos e inhibidores, el género, obesidad y dosis prescrita/día con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9* [43, 73].

El análisis de regresión logística se realizó para la asociación del control glucémico con respecto a los genotipos y las variantes alélicas de *CYP2C9*, así como para ajustar por factores independientes o co-variables (edad, género, IMC, dosis prescrita, etc.), las diferencias se consideraron significativas con $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el software SPSS IBM V24.

6. RESULTADOS

Los pacientes que participaron en este estudio fueron adultos (49-71 años) con un tiempo de diagnóstico entre 2 a 13 años, de los cuales, 62 (31.16%) fueron hombres y 137 (68.84%) mujeres. Cabe mencionar que, el 83.92% de los pacientes presentaron algún tipo de comorbilidad; dentro de éstas, las más frecuentes fueron: hipertensión arterial (54.8%), dislipidemia (31.0%) y obesidad (31.70%). Mientras que las enfermedades vasculares periféricas fueron las más frecuentes de las complicaciones propias de la DMT2 (16.26%).

Los pacientes se agruparon de acuerdo al tratamiento farmacológico (glibenclamida, metformina o glibenclamida/metformina); las características demográficas y clínicas se describen en la Tabla 1.

Las dosis prescritas/día para los pacientes del grupo de glibenclamida fueron menores (30%; $p < 0.01$) que las del grupo glibenclamida/metformina y se observó el mismo efecto después de ajustar las dosis prescritas día/peso ($p < 0.01$). De la misma manera, los biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno (127.9 vs 148; $p < 0.027$) y HbA1c (%HbA1c: 6.5 vs 7.7; $p < 0.01$) fueron menores para el mismo grupo de pacientes que para el grupo glibenclamida/metformina.

La prescripción de medicamentos adicionales a los hipoglucemiantes orales se observó en el 97.56% de los pacientes, donde el 44.71% de los medicamentos son sustratos de CYP2C9 (diclofenaco, ibuprofeno, trimetoprima, entre otros) y el 48.78% inhibidores (fluoxetina, itraconazol, losartan, etc.). Las características clínicas y bioquímicas de la muestra se describen en la Tabla 2.

Tabla 1. Características demográficas, antropométricas, clínicas y hábitos de la muestra de pacientes mexicanos con DMT2.

Características	Tratamiento farmacológico (hipoglucemiantes orales)			P-valor
	Glibenclamida (n= 11, 5.53%)	Metformina (n= 76, 38.19%)	Glibenclamida + Metformina (n= 112, 56.28%)	
Edad (años)	65.00±5.50	61.03±10.99	59.99±11.24	0.33
Peso (Kg)	64.5 ^a [61.50-67.50]	71.8 ^a [60.51-73.60]	67.5 ^a [59.00-75.30]	0.53
Género, n (%)				
Mujeres	7 (63.60 %)	57 (75.00 %)	74 (65.10 %)	0.54
Hombres	4 (36.40 %)	19 (25.00 %)	38 (34.90 %)	0.67
Duración DMT2 (años)	6.50 [2.00-11.00]	5.00 ^a [1.00-9.00]	8.00 ^a [2.00-13.00]	0.22
IMC	28.27 ^a [24.88-31.11]	29.39 ^a [22.36-33.2]	27.58 ^a [24.97-32.59]	0.14
Obesidad^b				0.54
I	4 (100 %)	21 (58.3 %)	26 (74.3 %)	
II	0	8 (22.2 %)	6 (17.1 %)	
III	0	7 (19.4 %)	3 (8.6 %)	
Tabaco	0 (0 %)	10 (26.3 %)	22 (33.8 %)	0.63
Alcohol	0 (0 %)	11 (31.4 %)	24 (38.1 %)	0.81
Menopausia	4 (36.4 %)	17 (22.4 %)	11 (10.1 %)	0.74
Lugar de origen	Ciudad de México, Puebla, Veracruz	Ciudad de México, Chiapas, Estado de México, Hidalgo, Michoacán, Oaxaca, Querétaro, Tlaxcala	Ciudad de México, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala	

Datos expresados como promedio ± desviación estándar; ^a= mediana; RIC (Rango intercuartílico)=[Q3-Q1]; n (%); * p< 0.05 con respecto al grupo glibenclamida; ^b= OMS, 2017.

Tabla 2. Características clínicas y bioquímicas de la muestra de pacientes mexicanos con DMT2.

Características	Tratamiento farmacológico (hipoglucemiantes orales)			P-valor
	Glibenclamida (n= 11, 5.53 %)	Metformina (n= 76, 38.19%)	Glibenclamida + Metformina (n= 112, 56.28%)	
Dosis/día (mg/día)	10.00 ^a [3.75-10.00]	1700 ^a [850-1750]	Glibenclamida: 15.00 ^{a*} [10-00-15.00] Metformina: 2550 ^a [1700-2550]	<0.01 0.52
Dosis/peso/día [mg/Kg/día]	0.12 ^a [0.06-0.15]	34.14 ^a [20.42-36.11]	Glibenclamida: 0.18 ^{a*} [0.13-0.23] Metformina: 32.44 ^a [24.55-39.26]	0.01
Comorbilidades, n (%)	9 (81.80 %)	72 (94.70 %)	96 (89.70 %)	0.62
Complicaciones; DMT2 n (%)				
1. Nefropatía	0 (0%)	1 (1.32%)	6 (5.50%)	
2. Retinopatía	0 (0%)	1 (1.32%)	2 (1.83%)	
3. Neuropatía	2 (18.20%)	1 (1.32%)	5 (4.59%)	
4. Pie diabético, amputaciones	1 (9.10%)	0 (0%)	1 (0.92%)	
5. Enfermedades vasculares periféricas	0 (0%)	16 (21.05%)	20 (18.35%)	
6. Cardiopatías	0 (0%)	4 (5.26%)	4 (3.67%)	
Politerapia, n (%)	10 (90.91%)	67 (88.16%)	109 (100%)	0.33
Sustratos CYP2C9, n (%)	5 (45.45%)	36 (47.37%)	50 (45.87%)	0.86
Inhibidores CYP2C9, n (%)	9 (81.82%)	41 (53.95%)*	51 (46.79%*)	0.01
Presión sistólica (mmHg)	110.00 ^a [110-120]	110.00 ^a [110-130]	120.00 ^a [110-130]	0.12
Presión diastólica (mmHg)	80.00 ^a [70-80]	70.00 ^a [60-80]	80.00 ^a [70-80]	0.86
% Hemoglobina A1c	6.5 ^a [5.65-6.9]	7.2 ^a [5.96-7.8]	7.7 ^{a*} [6.75-9.1]	0.01
Glucosa en ayuno (mg/dL)	127.9 ^a [97.5-149.77]	141.3 ^a [91.5-165.6]	148.00 ^{a*} [139.87-175.00]	0.03
Colesterol (mg/dL)	212.00 ^a [200.4-212]	196.00 ^a [189-232]	188.00 ^a [167.82-212.86]	0.12
Triglicéridos (mg/dL)	238.00 ^a [200-250]	225.00 ^a [185-280]	175.00 ^a [136-225]	0.05

Datos expresados como ^a= mediana; RIC (Rango intercuartílico)=[Q3-Q1]; n (%); * p< 0.05 con respecto al grupo glibenclamida.

6.1 GENOTIPIFICACIÓN DE *CYP2C9*

6.1.1 DESCRIPCIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE *CYP2C9* (*2, *3, *6 e *IVS8-109T*) EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2

El 11.7% de los pacientes fueron portadores de *CYP2C9**1/*2 y *1/*3, mientras que el 0.8% fueron portadores de *CYP2C9**2/*2 y *2/*3 (confirmación de genotipos en 15 pacientes genotipificados mediante PCR-PLFR y PCR-tiempo). Mientras que la frecuencia del polimorfismo *T* (*A/T* y *T/T*) se observó en el 28.6% de los pacientes. Por otro lado, la frecuencia de los alelos *2 y *3 fue del 6.6% y la del alelo *T* fue 16.1%, entonces los tres polimorfismos de *CYP2C9* estuvieron presentes en el 22.7% de los pacientes y como heterócigos y homócigos en el 41.1%.

Los genotipos *CYP2C9**1/*1 y *AA* (sin SNPs) se observaron en el 87.5 y 71.4% de los pacientes, mientras que la variante *6 y el genotipo *CYP2C9**3/*3 no se identificaron. Los polimorfismos *CYP2C9**2 y *3 ($\chi^2=1.99$; $p<0.05$) e *IVS8-109T* ($\chi^2=1.43$; $p<0.05$) estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* se describen en la Figura 18 y en la Tabla 3.

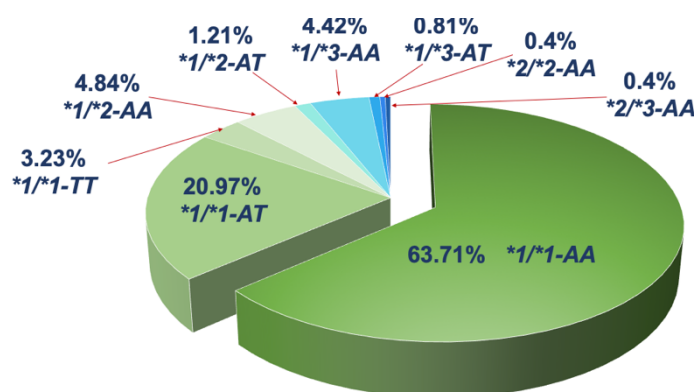


Figura 18. Polimorfismos *2, *3 e *IVS8-109T* en una muestra de pacientes mexicanos con DMT2.

Tabla 3. Descripción de las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* en los pacientes mexicanos con DMT2.

Polimorfismos *2, *3, e <i>IVS8-109A>T</i> de <i>CYP2C9</i>		
Genotipo	Frecuencia	<i>n</i>
*1/*1	0.875	217
*1/*2	0.065	16
*2/*2	0.004	1
*1/*3	0.052	13
*2/*3	0.004	1
<i>IVS8-109A>T</i>		
A/A	0.714	177
A/T	0.250	62
T/T	0.036	9
Alelos <i>CYP2C9</i>		
*1	0.933	463
*2	0.038	19
*3	0.028	14
<i>IVS8-109A>T</i>		
A	0.839	416
T	0.161	80

Todas los alelos estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg (X^2 , $p < 0.05$).

6.1.2 COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE *CYP2C9* (*2 y *3) EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2 Y DE DIFERENTES POBLACIONES

Los polimorfismos *CYP2C9**2 y *3 se han descrito en muestras de pacientes de poblaciones europeas ($n=3,279$) y asiáticas ($n=880$), principalmente. Sin

embargo, sólo en europeos se ha reportado una mayor frecuencia de la variante *2, mientras que en asiáticos, no se ha identificado o en menor porcentaje (12% y 0-7%; $p<0.01$), y en americanos sólo se ha estudiado en mexicanos (en este estudio, $n=248$) en quienes se identificó en el 4% [31,34-37,65-70].

Por otro lado, la frecuencia de la variante *3 en los pacientes europeos varió del 0.3 al 8% y en asiáticos del 5-9%, mientras que en americanos (pacientes mexicanos de este estudio) fue del 3% ($p<0.05$). De manera similar, la frecuencia de los genotipos *CYP2C9**1/*2 fue mayor en los pacientes europeos y en africanos (18-24% y 20%, $p<0.05$), pero no en asiáticos (Japón y China), en quienes sólo se identificó en una muestra de pacientes de India (8%). Mientras que, en americanos se identificó en el 6% de los mexicanos (este estudio). Contrario a lo anterior, la frecuencia de *CYP2C9**1/*3 fue mayor en pacientes africanos (18%) y asiáticos (India:13-19%), mientras que en europeos fue del 6-13% y en mexicanos fue del 5% (este estudio).

Finalmente, los portadores de los genotipos *CYP2C9**2/*2, *2/*3 y *3/*3 fueron hasta 50 y 80% más bajas en pacientes mexicanos comparada con las otras poblaciones, excepto para los pacientes de Grecia. Sin embargo, las diferencias fueron significativas sólo para pacientes de Eslovenia, India y Egipto. Las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* (*2 y *3) en pacientes con DMT2 de diferentes regiones del mundo se comparan en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución y comparación de frecuencias alélicas y genotípicas de CYP2C9 en muestras de pacientes con DMT2 de México y otras poblaciones.

Región geográfica	País	N	Distribución de frecuencias genotípicas y alélicas de CYP2C9 en pacientes con DMT2									Ref.
			*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*2/*3 (n)	*1/*3 (n)	*3/*3 (n)	*1	*2	*3	
Europa	Alemania	357	0.66 (237)*	0.18 (66)**	0.014 (5)	0.017 (6)	0.11 (40)*	0.008 (3)	0.81**	0.11**	0.08* (34)	
		540	0.65 (353)*	0.18 (95)**	0.011 (6)	0.015 (8)	0.13 (72)**	0.011 (6)	0.81**	0.11**	0.08** (35)	
	Holanda	475	0.68 (321)*	0.19 (92)**	0.023 (11)	0.013 (6)	0.09 (43)	0.004 (2)	0.82**	0.13**	0.06 (36)	
	Escocia	1073	0.63 (678)*	0.21 (221)*	0.02 (22)	0.02 (22)	0.12 (125)**	0.005 (5)	0.79**	0.13**	0.07* (37)	
	Eslovenia	156	0.61 (96)*	0.19 (30)**	0.017 (3)	0.034 (6)*	0.12 (21)**		0.78**	0.13**	0.009 (38)	
	Grecia	176	0.68 (120)**	0.24 (43)*	0.006 (1)	0.006 (1)	0.06 (11)		0.83**	0.13**	0.003 (39)	
Asia	Polania	502	0.8 (402)*	0.19 (94)**	0.012 (6)				0.9	0.11**	(40)	
	India	109	0.73 (80)**	0.08 (9)		0.05 (6)**	0.13 (14)*		0.84*	0.07	0.09* (41)	
	India	80	0.81 (65)				0.19 (15)**		0.91		0.09* (41)	
	China	746	0.9 (672)				0.093 (72)*	0.007 (5)	0.95		0.05 (42)	
	Japón	134	0.98 (132)**				0.015 (2)		0.99*		0.075 (43)	
	Egipto	100	0.53 (53)*	0.20 (20)**		0.09 (9)**	0.18 (18)**		0.7*	0.15**	0.14** (20)	
América	México	404	0.84 (338)	0.09 (38)	0.005 (2)		0.064 (26)		0.92	0.052	0.032 (150)	
		248	0.87 (217)	0.06 (16)	0.004 (1)	0.004 (1)	0.05 (13)		0.93	0.04	0.03 (Este estudio)	

Los valores son expresados como frecuencias; (n)= número de individuos; N= tamaño de la muestra; *= $p < 0.05$ con respecto a pacientes mexicanos; **= $p < 0.001$ con respecto a pacientes mexicanos.

6.1.3 FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109T*) EN PACIENTES CON DMT2 Y VOLUNTARIOS SANOS MEXICANOS

Las frecuencias de las variantes *CYP2C9**2 y *3 reportadas para voluntarios sanos de diferentes estados de México (11 estados) se actualizaron y se agruparon de acuerdo a las principales regiones geográficas de México. Dichas frecuencias se compararon con las reportadas en este estudio (pacientes) y se observó que la frecuencia de *CYP2C9**1/*2 fue 50% menor en pacientes (6.5% vs 14-26%; $p < 0.05$) que en voluntarios sanos; mientras que la frecuencia de *CYP2C9**1/*1 fue mayor en pacientes que en voluntarios sanos de 5 estados del norte de México y Nayarit (87.5 vs 67-76%; $p < 0.05$).

Con respecto a la variante *2, sólo se observó una mayor frecuencia en voluntarios sanos de Zacatecas con respecto a los pacientes y fue 3.93 veces menos frecuente en pacientes (OR=0.254; [0.091-0.704]). Mientras que, en la región norte de México, la frecuencia de la variante *2 fue mayor en voluntarios sanos que la descrita en pacientes ($\chi^2=6.33$; $p=0.01$) y fue 2.65 veces menos frecuente en pacientes (OR=0.377 [0.18-0.78]).

En tanto que, la frecuencia de *CYP2C9**1/*3 sólo fue mayor en pacientes que en voluntarios sanos de una muestra de la Ciudad de México (5% vs 1%; $p < 0.05$), pero esta diferencia desapareció al considerar los datos agrupados de 7 estudios. Las frecuencias de las variantes alélicas y genotípicas de *CYP2C9* y sus comparaciones entre pacientes con DMT2 y voluntarios sanos mexicanos se describen en la Tabla 5.

Tabla 5. Distribución y comparación de frecuencias alélicas y genotípicas de CYP2C9 en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de México.

Estados de la República Mexicana	N	Distribución genotípica y alélica de CYP2C9 de pacientes con DMT2 y voluntarios sanos (comparación)										Ref.
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*2/*3 (n)	*1/*3 (n)	*3/*3 (n)	*1	*2	*3		
Sonora	49	0.69 (34)**	0.20 (10)**			0.10 (5)		0.85	0.1	0.05 (149)		
Nuevo León	100	0.76 (76)*	0.14 (14)*	0.03 (3)		0.07 (7)		0.87	0.1	0.03 (150)		
Durango	102	0.82 (85)	0.14 (14)*			0.03 (3)		0.92	0.07	0.01 (142)		
Zacatecas	49	0.67 (33)**	0.26 (11)**					0.84	0.14 *	0.02 (153)		
Guanajuato	50	0.88 (44)	0.06 (3)	0.02 (1)		0.04 (2)		0.93	0.05	0.02		
Ciudad de México	947	0.83 (788)	0.09 (82)	0.004 (4)	0.007 (7)	0.07 (64)	0.002 (2)	0.91	0.05	0.04 (154)		
Ciudad de México y Estados	300	0.9 (271)	0.09 (27)			0.01 (2)**		0.95	0.04	0.01 (155)		
Nayarit	113	0.8 (90)	0.14 (16)*	0.018 (2)		0.044 (5)		0.89	0.09	0.022 (156)		
Jalisco	147	0.86 (126)	0.09(13)		0.007 (1)	0.05 (7)*		0.92	0.05	0.03		
Colima	100	0.84 (84)	0.11 (11)			0.05 (5)		0.92	0.055	0.025		
Michoacán	117	0.83 (97)	0.11 (13)			0.06 (7)		0.91	0.055	0.03		
Veracruz	48	0.77 (37)	0.12 (6)			0.08 (4)		0.9	0.06	0.04 (147)		
Guerrero	50	0.84 (42)	0.06 (3)			0.10 (5)		0.92	0.03	0.05		
Yucatán	49	0.88 (43)	0.06 (3)			0.04 (2)		0.94	0.04	0.02		
Guanajuato, Guerrero, Sonora, Veracruz, Yucatán	224							0.91	0.05	0.03 (151)		

Los valores son expresados como frecuencias; (n)= número de individuos; N= tamaño de la muestra; * = p <0.05 con respecto a pacientes; **p<0.01 con respecto a pacientes.

Continuación Tabla5. Distribución y comparación de frecuencias alélicas y genotípicas de CYP2C9 en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de México.

Estados de la República Mexicana	N	Distribución genotípica y alélica de CYP2C9 de pacientes con DMT2 y voluntarios sanos (comparación)										Ref.
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*2/*3 (n)	*1/*3 (n)	*3/*3 (n)	*1	*2	*3		
Regiones de México												
Norte (Sonora, Nuevo León, Durango, Zacatecas)	300	0.76 (228)**	0.16** (51)	0.01 (3)		0.05 (15)		0.87 *	0.1 *	0.025	[40,43,151]	
Centro (Guanajuato, C. de México)	1297	0.85 (1103)	0.09 (112)	0.004 (5)	0.005 (1)	0.05 (68)	0.001 (2)	0.92	0.05	0.03	(133-145]	
Occidente (Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán)	477	0.83 (397)	0.11 (53)	0.004 (2)	0.002 (1)	0.05 (24)		0.91	0.06	0.03	(51-6]	
Oriente (Veracruz)	48	0.77 (37)	0.12 (6)			0.08 (4)		0.9	0.06	0.04	[47-9]	
Sur (Guerrero, Yucatán)	98	0.87 (85)	0.06 (6)			0.07 (7)		0.93	0.03	0.04		
Norte, Centro, Sur, Occidente, Oriente	224							0.91	0.05	0.03	[48]	
Voluntarios sanos Mexicanos-Mestizos												
Mexicanos (7 estudios)	2,221	0.83 (1850)	0.12 (226)	0.004 (10)	0.004 (8)	0.053 (118)	0.001 (2)	0.91	0.06	0.03	(41,149-149-151]	
Mexicanos, C. de México (2 estudios)	1,247	0.85 (1059)	0.09 (109)	0.003 (4)	0.006 (7)	0.07 (85)	0.002 (2)	0.93	0.05	0.04	(154,155]	
Americanos	5545							0.89	0.07	0.04	[16]	
Pacientes con DMT2 Mexicanos-Mestizos												
Mexicanos	248	0.875 (217)	0.065 (16)	0.004 (1)	0.004 (1)	0.05 (13)		0.93	0.04	0.03	[2018]	

Los valores son expresados como frecuencias; (n)= número de individuos; N= tamaño de la muestra; *p<0.05 con respecto a pacientes; **=p<0.01 con respecto a pacientes.

6.1.4 FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109T*) EN PACIENTES CON DMT2 Y VOLUNTARIOS SANOS DE DIFERENTES POBLACIONES

Se observaron diferencias estadísticamente significativas para las frecuencias de los polimorfismos de *CYP2C9* en voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de distintas poblaciones, sólo para el alelo *1 en europeos ($\chi^2=11.51$; $p<0.01$) y fue 1.2 veces más frecuente en pacientes (OR=1.212 [1.086-1.354]); sin embargo, la magnitud del efecto es apenas superior a 1. En cambio, en individuos de Asia y África, la diferencia se observó para la variante *2; en los primeros fue 3 veces menos frecuente en pacientes ($\chi^2=11.06$; $p<0.01$ y OR= 0.33 [0.17-0.643]), pero en los segundos, se observó más en pacientes ($\chi^2= 11.5$; $p< 0.05$ y OR=18.32 [9.16-36.6]). Se observó un efecto similar para la variante *3 sólo en las muestras de África. Mientras que, en mexicanos no se observan diferencias en las frecuencias de las variantes alélicas de *CYP2C9* (Tabla 6).

Por otro lado, la variante intrónica *IVS8-109T*, que sólo se había estudiado en voluntarios sanos de Europa (n=85), Asia (n=441) y América (n=487), con respecto a las frecuencias descritas en este estudio (pacientes), se observó en éstos últimos una frecuencia hasta 50% menor comparada con la de voluntarios sanos (16% vs 21.4 - 45.6%; $p<0.05$), incluso en comparación con voluntarios sanos mexicanos (29%; $p<0.05$), ya que se observó 2.5 veces más en pacientes con genotipo AA. Y los genotipos AT y TT se observaron 2.4 y 2.9 veces más en voluntarios sanos (OR=0.41 [0.283-0.596] y OR=0.347 [0.155-0.776]).

Tanto el alelo *A* como el *T*, presentaron diferencias entre voluntarios sanos y pacientes con DMT2 ($\chi^2= 23.4$; $p< 0.05$), ya que, el alelo *A* se observó 2.09 veces más en pacientes y el alelo *T*, 2 veces más en voluntarios sanos (Tabla 7).

Tabla 6. Comparación de frecuencias alélicas de *CYP2C9* en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de diferentes poblaciones

Poblaciones		N	Frecuencias alélicas de <i>CYP2C9</i>			Ref.
(Distribución geográfica)			*1	*2	*3	
Europa	Voluntarios sanos	5,445	0.79	0.13	0.07	(36, 40)
	Pacientes DMT2	3,279	0.82**	0.12	0.06	[Este estudio]
Asia	Voluntarios sanos	14,838	0.93	0.025	0.045	(36, 40)
	Pacientes DMT2	1,069	0.943	0.008**	0.049	[Este estudio]
África	Voluntarios sanos	2,531	0.98	0.01	0.011	(36, 40)
	Pacientes DMT2	100	0.72*	0.14 *	0.13 *	[Este estudio]
América	Voluntarios sanos mestizos	8,714	0.9	0.06	0.04	(36, 40)
	Voluntarios sanos mexicanos-mestizos	2,221	0.91	0.06	0.03	[Este estudio, 52]
	Pacientes DMT2 mexicanos-mestizos	654	0.922	0.05	0.03	

Los valores son expresados como frecuencias; N= tamaño de la muestra; *= $p<0.05$ con respecto a pacientes mexicanos; **= $p<0.01$ con respecto a pacientes mexicanos.

Tabla 7. Comparación de frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* (*IVS8-109T*) en muestras de voluntarios sanos y pacientes con DMT2 de México y otras poblaciones.

Región geográfica	País	N	Distribución genotípica y alélica de <i>CYP2C9</i> (<i>IVS8-109A>T</i>) en pacientes con DMT2 mexicanos voluntarios sanos de otras poblaciones sanos					
			A/A (n)	A/T (n)	T/T (n)	A (n)	T (n)	Ref.
Europa	Suecia	85	0.494 (42)**	0.376 (32)*	0.129 (11)*	0.682 (116)*	0.318 (54)*	(39)
Asia	Japón	263	0.285 (75)*	0.517 (136)*	0.198 (52)*	0.544 (286)*	0.456 (240)*	(51)
	Corea	50	0.340 (17)**	0.480 (24)*	0.180 (9)*	0.58 (58)*	0.420 (42)*	(51)
	Corea	128	0.406 (52)*	0.445 (57)*	0.148 (19)*	0.629 (161)*	0.371 (95)*	(39)
América	Ecuador	187	0.615 (115)*	0.342 (64)*	0.043 (8)	0.786 (294)	0.214 (80)	(51)
	México	300	0.5 (150)**	0.43 (128)*	0.07 (22)*	0.71 (428)*	0.29 (172)*	(45)
Pacientes con DMT2 mexicanos-mestizos								
	DMT2	248	0.714 (177)	0.25 (62)	0.036 (9)	0.839 (416)	0.161 (80)	(Este estudio)

Los valores son expresados como frecuencias; n= número de individuos; N= tamaño de la muestra; * = $p < 0.05$ con respecto a pacientes mexicanos; **= $p < 0.01$ con respecto a pacientes mexicanos.

6.2 BIOMARCADORES DE RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA CON RESPECTO A LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109A<T*) EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2

Las características demográficas y antropométricas fueron similares entre los grupos glibenclamida, metformina o glibenclamida/metformina ($p > 0.05$), excepto para la dosis prescrita/día de glibenclamida y dosis prescrita/día/peso, % de inhibidores de *CYP2C9*, % HbA1c y glucosa en ayuno (mg/dL), por ello no se agruparon los pacientes con prescripciones de glibenclamida y

glibenclamida/metformina. Con respecto a las proporciones hombres/mujeres, éstas fueron similares en cada uno de los grupos, pero las mujeres tuvieron mayor presencia (68.6 y 31.3%) en cada uno de ellos (Tabla 1 y 2).

De acuerdo con la frecuencia de los polimorfismos de *CYP2C9* descrita para 199 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión para la revisión de expedientes clínicos y para el análisis de los biomarcadores de respuesta, se observó que sólo en el grupo glibenclamida/metformina estuvieron presentes pacientes con genotipos *CYP2C9**1/*2 y *1/*3 al menos en un 4.45%. En cambio, la variante *IVS8-109T* se observó en los pacientes de los tres grupos (Tabla 8).

Tabla 8. Frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C9* en una muestra de pacientes con DMT2 mexicanos en tratamiento farmacológico con glibenclamida, metformina o glibenclamida/metformina

Alelos y genotipos <i>CYP2C9</i>	Tratamiento farmacológico (hipoglucemiantes orales)		
	Glibenclamida (n= 11, 5.53 %)	Metformina (n= 76, 38.19 %)	Glibenclamida + Metformina (n= 112, 56.28 %)
*1/*1, n (%)	10 (90.91%)	70 (92.10%)	97 (86.61%)
*1/*2, n (%)	0 (0 %)	2 (2.63%)	9 (8.03%)
*1/*3, n (%)	1 (9.09%)	3 (3.95%)	5 (4.46%)
*2/*2, n (%)	0 (0%)	1 (1.32%)	0 (0%)
*2/*3, n (%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.9%)
*1, n (%)	21 (95.45%)	145 (95.40%)	208 (92.86%)
*2, n (%)	0 (0%)	4 (2.63%)	10 (4.46%)
*3, n (%)	1 (4.54%)	3 (1.97%)	6 (2.68%)
<i>IVS8-109A>T</i> ,			
A/A n (%)	7 (63.64%)	49 (64.47%)	86 (76.78%)
A/T n (%)	3 (27.27%)	23 (30.26%)	23 (20.54%)
T/T n (%)	1 (9.09%)	4 (5.27%)	3 (2.68%)
A; n (%)	17 (77.27%)	119 (76.60%)	196 (87.5%)
T; n (%)	5 (22.73%)	31 (20.40%)	29 (12.5%)

Los datos son expresados como n(%); * p<0.05 con respecto al grupo glibenclamida.

6.2.1 BIOMARCADORES DE RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA CON RESPECTO A LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109A<T*) EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2

En este estudio se observaron tendencias a menores concentraciones de glucosa en ayuno (hasta 50 mg/dL) y menores valores de %HbA1c (5.68 y 6.67%) en pacientes portadores de *CYP2C9**1/*1-AA y *CYP2C9**1/*1-AT del grupo glibenclamida comparadas con las más altas observadas en el grupo glibenclamida/metformina (160.34 mg/dL y 8.1% HbA1c); en éste último grupo, también se observó la tendencia a una menor concentración de glucosa en ayuno en pacientes portadores de *CYP2C9**1/*1-TT (hasta 30 mg/dL), pero mayor %HbA1c (9.07%) comparado con los portadores de *CYP2C9**1/*1-AT y *CYP2C9**1/*1-AA.

Al considerar el control glucémico (concentración de glucosa en ayuno <110 mg/dL), éste se observó 50% más en los portadores de *CYP2C9**1/*1-AT con respecto a los portadores de *CYP2C9**1/*1-AA en el grupo glibenclamida. Mientras que, en el grupo glibenclamida/metformina, los portadores del genotipo *CYP2C9**1/*1-AT y *CYP2C9**1/*3-AA tuvieron una tendencia a un mayor control glucémico (25% y 50%) comparado con los pacientes portadores de *CYP2C9**1/*1 (18%), sin ser estadísticamente significativa la diferencia ($\chi^2=0.91$, $p=0.34$; OR=4.69 [0.604-36.43]), y no hubieron diferencias con respecto al %HbA1c (Tabla 9). Sin embargo, con un ajuste en el tamaño de la muestra (por genotipos y variables antropométricas y clínicas) de *CYP2C9**1/*1-AA ($\chi^2=3.88$, $p=0.049$; OR=25 [1.52-410.86]) se observó una asociación significativa (Anexo IV).

Tabla 9. Biomarcadores de respuesta a glibenclamida (glucosa en ayuno y HbA1c) con respecto a la combinación de polimorfismos de CYP2C9 (*2, *3 e IVS8-109A>T)

Biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno (mg/dL) y control glucémico (< 110 mg/dL)									
Hipoglucemiante oral (n)	Genotipos de CYP2C9								
	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)			*1/*3 (n)		
	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/T		*A/*A	*A/T	*2/*3 (n) *A/*A
Glibenclamida (n= 11)	127.65 (6) ^a [103.42- 151.88] 33.33% (2)	107.67 (3) ^a [71.86-143.48] 66.67% (2)	121 (1) ^a				249 (1) ^a 0% (0)		
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	160.34 (74) ^a [94.61-226.07] 18% (13)	149.97 (20) ^a [88.06-211.8] 25% (5)	130.41 (3) ^a [103.61-157.2] 0% (0)	139.56 (7) ^a [107.74-171.4] 14.29% (1)	174.58 (2) ^a [103.9-245.2] 0% (0)		169.12 (4) ^a [87.5-251] 50% (2)	124 (1) ^a 0% (0)	148 (1) ^a 0% (0)
Biomarcadores de respuesta: HbA1c (%) y control glucémico (HbA1c< 6.5%)									
Hipoglucemiante oral (n)	Genotipos de CYP2C9								
	*1/*1 (n)			*1/*2			*1/*3 (n)		
	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/T		*A/*A	*A/T	*2/*3 (n) *A/*A
Glibenclamida (n= 11)	5.68 (6) ^a [2.81-8.55] 33.33% (2)	6.67 (3) ^a [5.82-7.52] 33.33% (1)	6.4 (1) ^a 100% (1)				6.2 (1) ^a 100% (1)		
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	8.03 (74) ^a [5.71-10.34] 24.64% (18)	8.11 (20) ^a [5.68-10.55] 25% (5)	9.07 (3) ^a [5.86-12.29] 12.5% (1)	8.17 (7) ^a [6.93-9.4] 0% (0)	8.46 (2) ^a [7.71-9.22] 0% (0)		8.82 (4) ^a [5.81-11.8] 25% (1)	6.1 (1) ^a 100% (1)	6.4 (1) ^a 100% (1)

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC (Rango intercuartílico)= [Q3-Q1]; n= número de individuos; % (porcentaje); * p < 0.05 (entre polimorfismos); ** p < 0.05 (entre hipoglucemiante oral)

De acuerdo al modelo de regresión logística bi-variado se observó que el genotipo *CYP2C9**1/*1-AA ($p=0.004$, GA), la dosis prescrita de glibenclamida ($p=0.004$, GA y $p=0.027$ %HbA1c), la concentración de triglicéridos ($p=0.038$, GA) y el tratamiento con glibenclamida/metformina ($p=0.003$, GA y $p=0.001$ %HbA1c) tuvieron una asociación con el control glucémico (concentración de glucosa en ayuno, GA y %HbA1c). Sin embargo, tras el análisis multi-variado, sólo la concentración de triglicéridos ($p=0.036$; OR=0.99 [0.99-1]; GA) y el tratamiento glibenclamida/metformina ($p=0.018$, <6.5%HbA1c) mantuvieron la asociación con el control glucémico. Finalmente, estos modelos explican sólo el 26.3-27.8% de las variaciones en el control glucémico en conjunto.

En cambio, con el modelo de regresión logística bi-variada para el control glucémico <7% HbA1c se observó asociación con el tiempo de diagnóstico ($p=0.004$), la dosis de glibenclamida ($p<0.01$), la tensión arterial diastólica ($p=0.012$) y el tratamiento con glibenclamida/metformina ($p<0.01$), pero con el análisis multivariado, sólo la tensión arterial diastólica ($p=0.03$) conservó la asociación. Este modelo explica hasta el 41.1% de las variaciones en el control glucémico.

Cabe mencionar que, este es el primer reporte que considera los dos biomarcadores de respuesta a glibenclamida más utilizados en la clínica, además de ser el primer estudio que considera la combinación de las principales variantes alélicas de *CYP2C9* (*2, *3 y *6) con la variante intrónica (*IVS8-109A>T*).

6.2.2 BIOMARCADORES DE RESPUESTA A GLIBENCLAMIDA EN PACIENTES CON DMT2 DE DIFERENTES POBLACIONES (MÉXICO, EGIPTO E INDIA) CON RESPECTO A LOS POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109A<T*)

Dos estudios previos sobre el efecto de los polimorfismos de *CYP2C9**2 y *3 se realizaron sólo con el biomarcador de respuesta de la concentración de glucosa en ayuno en pacientes de India y Egipto. Con respecto a las observaciones de este estudio, se encontró que los pacientes mexicanos portadores de *CYP2C9**1/*1 (121 mg/dL) del grupo glibenclamida, así como los portadores de *CYP2C9**1/*2 y *CYP2C9**1/*3 del grupo glibenclamida/metformina (137.4 y 132.1 mg/dL) fueron similares o incluso menores a los observados en los pacientes de Egipto con genotipo *CYP2C9**1/*3 (130 mg/dL).

Mientras que, no se observaron diferencias en el control glucémico (<130 mg/dL) en los pacientes mexicanos portadores de todos los genotipos de *CYP2C9* a diferencia del mayor control glucémico observado en pacientes de Egipto portadores de *CYP2C9**2/*3 (89%). Con respecto a los pacientes de la India y de México (asociación de *3 con <7% HbA1c; OR=2.78 [1.14-6.76]; Castelán, 2018), en este estudio también se observó un mayor control glucémico (<110 mg/dL y <7% HbA1c; OR=0.344 [0.05-2.16]) en pacientes portadores de *CYP2C9**1/*3 con respecto a *CYP2C9**1/*1 (Tabla 10 y 11), pero la diferencia no fue significativa, a diferencia de la observada en los dos estudios antes mencionados (Tabla 10 y 11).

Tabla 10. Efecto de los polimorfismos de CYP2C9 en el biomarcador glucosa en ayuno y control glucémico en pacientes con DMT2 mexicanos y otras poblaciones

Hipoglucemiante Oral (n)	Biomarcador	Respuesta a glibenclamida: glucosa en ayuno (mg/dL)			
		CYP2C9 genotypes			
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)
Glibenclamida (n= 11)	Glucosa en ayuno [mg/dL]	121 (10) [94.6-147.4]		249 (1)	
	Control glucémico < 110 mg/dL	30 % (3)			
Glibenclamida/ Metformin (n= 112)	Glucosa en ayuno [mg/dL]	156.8 (97) [93.1-220.5]	137.4 (9) [107.8-167]	132.1 (5) [58.6-205.6]	148 (1)
	Control glucémico < 110 mg/dL	18.56 % (18)		35.7 % (5)	0% (0)
	Control glucémico <130 mg/dL	39.17 % (38)	44.44% (4)	40% (2)	0% (0)
Glibenclamida glib/met= 94	Fasting glucose [mg/dL]	170 (53) [80-290]	150 (20) [80-280]	130 (18) [75-300]	130 (9) [99-280]
glibenclamida= 6 DMT2: Egipto [38]	Glycemic control <130 mg/dL	41.2% (21)	42% (8)	70% (12)	89% (8) p=0.015
Glibenclamida glib/met= 2 glibenclamida= 78 DMT2: India [39]	Glycemic control <110 mg/dL	25 % (16)		50 % (8) *	

Los datos expresados como: ^a= mediana; RIC (rango intercuartílico)= [Q3-Q1]; n= número de individuos; % (porcentaje); * p<0.05 (entre polimorfismos); ** p< 0.05 (entre hipoglucemiante oral)

Tabla 11. Efecto de los polimorfismos de CYP2C9 en el biomarcador %HbA1c y control glucémico en pacientes con DMT2 Mexicanos

Hipoglucemiante oral (n)	Biomarcador	Respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 Mexicanos (Este estudio)			
		Genotipos de CYP2C9			
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)
Glibenclamida (n= 11)	% HbA1c	6.05 (10)		6.2 (1)	
	Control glucémico [HbA1c < 7%]	50% (5)		100% (1)	
Glibenclamida /Metformina (n= 112)	% HbA1c	8.06 (97) [5.74-10.38]	8.2 (9) [6.9-9.4]	8.3 (5) [5.4-11.8]	6.4 (1)
	Control glucémico [HbA1c < 7%]	34.02% (33)	44.44% (4)	60 (3)%	100 (1)
Glibenclamida/ Metformina (n= 403)	Biomarcador	Respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 Mexicanos (Castelán, 2018)			
		Genotipos de CYP2C9			
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)
	Control glucémico [HbA1c < 7%]	45% (339/153)	47% (38/18)	65% (26/17)	

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC (rango intercuartílico)= [Q3-Q1]; n= número de individuos; % (porcentaje); * p<0.05 (entre polimorfismos); ** p< 0.05 (entre estudios).

6.2.3 POLIMORFISMOS DE *CYP2C9* (*2, *3 E *IVS8-109A<T*) Y LA PRINCIPAL REACCIÓN ADVERSA (HIPOGLUCEMIA) A GLIBENCLAMIDA EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2

En total, veintidos pacientes (11.05%) presentaron eventos hipoglucémicos (concentración de glucosa en ayuno <70 mg/dL; Proyecto de NOM-015-SSA2-2018), dentro de estos, dieciseis fueron portadores de *CYP2C9**1/*1, sólo un paciente tuvo prescripción de 20 mg de glibenclamida y presentó cuatro eventos hipoglucémicos. Mientras que, la concentración de glucosa en ayuno en los eventos hipoglucémicos osciló entre 27-70 mg/dL, el 41.2% de los pacientes que tuvieron hipoglucemias recibieron prescripción de 5 mg de glibenclamida (dosis/día) y el 23.5% recibieron 15 mg. Es importante mencionar que se observó una tendencia a un mayor número de portadores de *CYP2C9**1/*2 y *CYP2C9**1/*3 (glibenclamida/metformina) con eventos hipoglucémicos (22.2 y 40%) comparado con los portadores de *CYP2C9**1/*1 (15.46%), (Tabla 12).

Tabla 12. Eventos hipoglucémicos de acuerdo a los polimorfismos de *CYP2C9* (concentración de glucosa en ayuno <70 mg/dL) en pacientes mexicanos

Hipoglucemiante oral	Eventos hipoglucémicos				
	Genotipos <i>CYP2C9</i>				
	*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*2 (n)	*2/*3 (n)
Glibenclamida	2 EH 8 NH 20%				
Glibenclamida/ Metformina	15 EH 82 NH 15.46%	2 EH 7 NH 28.57%	2 EH 3 NH 40%		1 EH

Los datos son expresados como: n(%); EH: evento hipoglucémico, NH: No evento hipoglucémico
* p<0.05 con respecto a los portadores de *CYP2C9**1/*1.

6.2.4 SUSTRATOS E INHIBIDORES DE CYP2C9 EN PACIENTES MEXICANOS CON DMT2 CON RESPECTO A SUS PRINCIPALES POLIMORFISMOS (*2, *3 E IVS8-109A>T)

En esta muestra de pacientes mexicanos se observó una tendencia a un mayor porcentaje de portadores de *CYP2C9**1/*1-AA (glibenclamida y glibenclamida/metformina) que recibieron prescripciones de sustratos e inhibidores (56 y 66%) de *CYP2C9* comparado con los portadores de *CYP2C9**1/*3-AA y AT (25 y 25%), mientras que un 28% de los portadores de *CYP2C9**1/*2-AA recibieron prescripciones de sustratos e inhibidores para el grupo de glibenclamida/metformina (Tabla 13).

Tabla 13. Distribución de sustratos e inhibidores de acuerdo a la combinación de polimorfismos de *CYP2C9*

Hipoglucemiante oral (n)	Sustratos de CYP2C9							
	Genotipos CYP2C9							
	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)		*1/*3 (n)		*2/*3 (n)
	A/A (n)	A/T (n)	T/T (n)	A/A (n)	A/T (n)	A/A (n)	A/T (n)	
Glibenclamida (n= 11)	50% (3/6)	66.66% (2/3)	100% (1/1)			0% (1/1)		
Glibenclamida/ Metformina (n=112)	48.6% (36/74)	18% (4/20)	33.33% (1/3)	28.6% (2/7)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/1)	0% (0/1)
Hipoglucemiante oral (n)	Inhibidores de CYP2C9							
	Genotipos CYP2C9							
	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)		*1/*3 (n)		*2/*3 (n)
	A/A (n)	A/T (n)	T/T (n)	A/A (n)	A/T (n)	A/A (n)	A/T (n)	
Glibenclamida (n= 11)	66.66% (4/6)	100% (3/3)	100% (1/1)			0% (1/1)		
Glibenclamida/ Metformina (n=112)	56.8% (42/74)	18% (4/20)	33.3% (1/3)	28.6% (2/7)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/1)	0% (0/1)

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC (rango intercuartílico)= [Q3-Q1]; n= número de individuos; % (porcentaje); * p<0.05 (entre polimorfismos con respecto a *CYP2C9**1/*1); ** p<0.05 (entre hipoglucemiante oral)

6.2.5 OTROS FACTORES RELACIONADOS CON DMT2 Y CYP2C9

6.2.5.1 DOSIS PRESCRITA/DÍA

Como se observó previamente, la dosis prescrita/día se asoció con el control glucémico (concentración de glucosa en ayuno y %HbA1c) en el modelo de regresión logística, sin saber si existe diferencia con respecto a algún SNP en particular. De acuerdo con ello, se observó que los pacientes portadores de *CYP2C9**1/*1-*AA* del grupo glibenclamida recibieron una dosis menor (5 mg de glibenclamida) comparada con los portadores del mismo genotipo, pero del grupo glibenclamida/metformina, Tabla 14.

Mientras que para el polimorfismo intrónico *IVS8-109A>T*, los portadores de *CYP2C9**1/*1-*AT* recibieron una prescripción de dosis y dosis/peso 75% menor que los portadores de *CYP2C9**1/*1-*AA* en el grupo glibenclamida, y también fue 80% menor que los portadores de *CYP2C9**1/*1-*AT* del grupo glibenclamida/metformina (Tabla 14).

Tabla 14. Características antropométricas, clínicas y bioquímicas de los pacientes mexicanos con DMT2 de acuerdo al genotipo de CYP2C9

Hipoglucemiante oral (n)	Características	Características antropométricas, clínicas y bioquímicas de los pacientes Mexicanos con DMT2 de acuerdo al genotipo					
		Genotipos de CYP2C9					
		*1/*1 (n)		*1/*2 (n)		*1/*3 (n)	
		*A/A	*A/T	*A/A	*A/T	*A/A	*A/T
Glibenclamida (n= 11)	Edad (años)	67 ± 5.1	62.33 ± 8.14			60	
	T. Diagnóstico (años)	3.5 [1-9]	15 [8-24.5]			6	
	Peso (Kg)	66.15 [62.55-67.27]	64.5 [61.55-65]			65	
	IMC (Kg/m2)	29.93 [25.82-32.02]	25.19 [24.61-25.23]			28.89	
	Dosis (mg)	10 [3.55-12.01]	2.5 [2.5-3.75] *			2.5	
	Dosis/Peso (mg/Kg)	0.148 [0.11-0.19]	0.039 [0.038-0.062]*			0.04	
	TAS (mmHg)	125 [112.5-130]	110 [110-125]			120	
	TAD (mmHg)	80 [72.5-80]	70 [70-75]			70	
	Colesterol (mg/dL)	221 [212.7-284]	227 [220-241]			204	
	Triglicéridos (mg/dL)	209.4 [200-267]	242 [215-247]			238	
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	Edad (años)	60.68 ±11.16	60.8 ± 10.47	59 ± 8.94	49 ± 12.53	59.4 ± 13.45	69
	T. Diagnóstico (años)	6 [2-12]	10.5 [6.25-20]	11 [9.5-16.5]	14 [10.5-17.5]	12 [11-14]	6
	Peso (Kg)	67.2 [60.6-74.05]	68 [57-77.25]	69 [68-73]**	59 [57.5-68.8]	74.77 [73.5-78.2]	67.5
	IMC (Kg/m2)	27.04 [25.5-31.7]	27.92 [25.6-30.1]	26.95 [26.2-30]	23.62 [21.9-28.6]	29.11 [26.11-29.8]	33.48
	Dosis (mg)	15 [10-15]**	12.5 [10-15]**	10 [10-15]	5 [5-10]	15 [13.75-15]	10
	Dosis/Peso (mg/Kg)	0.19 [0.12-0.22]**	0.17 [0.13-0.22]**	0.21 [0.18-0.22]	0.08 [0.07-0.17]	0.2 [0.19-0.23]	0.15
	Dosis Metformina (mg)	1700 [1275-2550]	1700 [850-2550]	2550 [1275-2550]	2550 [1700-2550]	2550 [1700-2550]	1700
	Dosis/Peso M (mg/Kg)	27.37 [19.14-37.78]	31.87 [20.66-36.96]	31.48 [18.-39.79]	32 [23.42-38.98]	31 [22.76-34.69]	25.18
	TAS (mmHg)	120 [110-130]	125 [120-140]	120 [120-130]	110 [110-120]	130 [110-130]	130
	TAD (mmHg)	80 [70-80]	80 [70-82.5]	80 [80-80]	70 [70-80]	70 [70-70]	80
	Colesterol (mmHg)	197 [168.8-211]	174.31 [167.1-202]	160 [160-221]	211.4 [181.3-227]	222 [181.3-227]	250
	Triglicéridos (mg/dL)	171.5 [134.7-230.1]	199 [144.6-223.1]	132 [108-174]	247.3 [214.6-417]	118.9 [101-242]	248

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC (Rango intercuartílico)= [Q3-Q1]; n= número de individuos; % (porcentaje); * p < 0.05 (entre polimorfismos); ** p < 0.05 (entre hipoglucemiante oral)

6.2.5.2 GÉNERO Y OBESIDAD

En este estudio se observó una mayor proporción de mujeres en general y en cada uno de los grupos, pero el análisis de regresión logística no mostró asociación con el control glucémico y el modelo se ajustó para esta variable. Sin embargo, la amplia variabilidad observada en el control glucémico con respecto al género y a la combinación de polimorfismos de *CYP2C9* no se había descrito. En este estudio se observó una tendencia a un mayor porcentaje de pacientes hombres con control glucémico (concentración de glucosa en ayuno y %HbA1c) y portadores de *CYP2C9**1/*1-*AT* (grupo: glibenclamida/metformina) con respecto a *CYP2C9**1/*1-*AA* y con respecto a mujeres portadoras del mismo genotipo, sin ser estadísticamente significativas ($\chi^2= 3.5$, $p= 0.06$ y $\chi^2= 3.75$; $p=0.05$), Tabla 16.

De manera similar, la variable obesidad no se asoció con el control glucémico en la regresión logística, pero cuando se describió con respecto a los polimorfismos de *CYP2C9* se observó una tendencia a un mayor porcentaje de pacientes con obesidad y portadores de *CYP2C9**1/*1-*AT* (42%) con control glucémico con respecto al 16.64% de los pacientes sin obesidad y con el mismo genotipo, sin ser estadísticamente significativos. Sin embargo, se observó un mayor porcentaje de portadores *CYP2C9**1/*1-*AA* sin obesidad con control glucémico ($\chi^2= 4.27$; $p= 0.039$; $OR=0.11$ [0.01-0.091]). Estos efectos se observaron sólo con el biomarcador %HbA1, Tabla 17.

Tabla 15. Efecto del género en los Biomarcadores de respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 mexicanos de acuerdo a los polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3 e *IVS8-109A>T*)

Hipoglucemiante oral (n)	Género	Biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno (mg/dL) y control glucémico (< 110 mg/dL)									
		Genotipos de <i>CYP2C9</i>									
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)	*T/*T (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)
Glibenclamida (n= 11)	Hombre	118.5 (2)	121 (1)				249 (1)				
	Mujer	127.65 (6)	86 (1)								
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	Hombre	157.27 (24)	103.33 (4)	161.32 (1)	139.56 (5)	224.52 (1)	124 (1)				
	Mujer	161.84 (50)	161.63 (16)	114.95 (2)	134.5 (2)	124.65 (1)	169.12 (4)				148 (1)
		20% (15)	12.5% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	25% (1)				0% (0)
Biomarcadores de respuesta: HbA1c (%) and control glucémico (HbA1c < 6.5%)											
Hipoglucemiante oral (n)	Género	Genotipos de <i>CYP2C9</i>									
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)	*T/*T (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)
		*A/*A (n)	*A/*T (n)	*T/*T (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)	*T/*T (n)	*A/*A (n)	*A/*T (n)	*T/*T (n)	*A/*T (n)
Glibenclamida (n= 11)	Hombre	7.15 (2)	6.4 (1)		6.2 (1)						
	Mujer	6.82 (6)	5.7 (1)								
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	Hombre	8.3 (24)	8.38 (4)	11.35 (1)	7.9 (5)	7.93 (1)	8.3 (1)				
	Mujer	7.89 (50)	8.04 (16)	7.15 (2)	8.5 (2)	9 (1)	8.82 (4)				6.4 (1)
		24.4% (11)	18.75% (3)	50% (1)	0% (0)	0% (0)	25% (1)				100% (1)

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC= Rango intercuartílico (Q3-Q1); * p<0.05, n (%) = número de individuos

Tabla 16. Efecto de la obesidad en los biomarcadores de respuesta a glibenclamida en pacientes con DMT2 mexicanos de acuerdo a los polimorfismos de *CYP2C9* (*2, *3 e *IVS8-109A>T*)

Hipoglucemiante oral (n)	Obesidad	Biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno (mg/dL) y control glucémico (< 110 mg/dL)									
		Genotipos de <i>CYP2C9</i>									
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)	*A/*A (n)	*A/*A (n)	*A/T (n)	*A/T (n)	*A/T (n)
Glibenclamida (n= 11)	NO	107 (2) [87.2-126.8] 50% (1)	107.67 (3) [71.86-143.5] 66.67% (2)	121 (1)			249 (1)				
	SI	139.99 (4) [128.48-152.8] 0 % (1)									
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	NO	155.86 (52) [89.07-222.66] 21.95 % (11)	164.3 (13) [69.3-137.3] 23.08 % (3)	130.41 (3) [103.6-157.2] 0% (0)	151.7 (6) [108.4-195] 16.7 % (1)	138.3 (1)	115 (2) [55.6-174.4] 50 % (1)		136.8 (1)		
	SI	161.63 (22) [98.01-225.2] 18.75% (4)	123.53 (7) [75.2-171.95] 28.57 % (2)		124.65 (1)	156.2 (1)	115 (2) [87.5-250.8] 50 % (1)			148 (1)	

Hipoglucemiante oral (n)	Obesidad	Biomarcadores de respuesta: % HbA1c y control glucémico (< 6.5%)									
		Genotipos de <i>CYP2C9</i>									
		*1/*1 (n)	*1/*2 (n)	*2/*2 (n)	*1/*3 (n)	*2/*3 (n)	*A/*A (n)	*A/*A (n)	*A/T (n)	*A/T (n)	*A/T (n)
Glibenclamida (n= 11)	NO	6.4 (2) [5.3-7.5] 50% (1)	6.67 (3) [5.82-7.52] 33.33% (1)	6.4 (1)			6.4 (1)				
	SI	7.09 (4) [128.48-152.8] 0 % (0)									
Glibenclamida/ Metformina (n= 112)	NO	7.75 (47) [5.3-10.2] 36.58 % (17)	8.85 (13) [6.3-11.4] 16.67 % (2)	9.07 (3) [5.86-12.29] 0% (0)	7.77 (6) [7.23-8.31] 0 % (0)	8.4 (1)	8.95 (2) [4.92-12.98] 50 % (1)				
	SI	8.71 (17) [6.62-10.79] 5.88 % (1)	6.85 (7) [5.09-8.8] 42.86 % (3)		8.65 (1)	11.05 (1)	8.2 (2) [4.38-12.02] 50% (1)			6.4 (1)	

Los datos son expresados como: ^a= mediana; RIC= Rango intercuartílico (Q3-Q1); * p<0.05, n (%) = número de individuos

7. DISCUSIÓN

En este estudio se describieron por primera vez las frecuencias alélicas y genotípicas de las principales variantes de *CYP2C9*: *2, *3 e *IVS8-109T* en una muestra de la población mexicana-mestiza con DMT2, en quienes se observó una variabilidad genética, ya que el 22.7% de los pacientes son portadores de algún polimorfismo y 36.28% son portadores de genotipos con alguna variante. Además, se ha descrito en la literatura que el polimorfismo intrónico *IVS8-109T* está presente en voluntarios sanos portadores de *CYP2C9**1 [39, 51], y en este estudio se describió por primera vez que dentro del 93% de pacientes portadores de *CYP2C9**1, el 24.2% son también portadores de *IVS8-109T*. Por lo que se incrementa la variabilidad con este polimorfismo, y se vuelve aún más relevante por estar dentro del alelo asociado con una actividad enzimática normal de *CYP2C9* [39, 51].

Esta amplia variabilidad genética podría explicar en parte, el bajo porcentaje de pacientes mexicanos en control glucémico (25%) reportado por ENSANUT (2012), ya que de acuerdo a la literatura, las variantes genéticas podrían explicar hasta en un 40% de la variabilidad en la farmacocinética de las SUs [13, 27, 28]. Sin embargo, la mayoría de los estudios farmacogenéticos así como las dosis establecidas para fármacos como las SUs se han realizado en poblaciones caucásicas, además, se ha documentado la existencia de variabilidad en la respuesta entre poblaciones, aún en aquellas con proximidad geográfica [28, 32, 33, 40, 41, 53, 55, 153].

En este estudio, se observó una clara variabilidad genética entre poblaciones con respecto a los pacientes mexicanos para las variantes *2 y *3; cabe mencionar que este es el primer estudio donde se han comparado estas frecuencias. Para ambas variantes, los pacientes mexicanos tuvieron frecuencias menores con respecto a los europeos (*2: 4 vs 9-13% y *3: 3 vs 0.3-8%) y africanos (Egipto; *2: 4 vs 15 y *3: 3 vs 14%), pero con respecto a la variante *2, los pacientes mexicanos presentan una mayor frecuencia que los pacientes de Asia, en particular de China y Japón, en quienes no se observó. Mientras que, la variante *3 fue menos frecuente en mexicanos que en asiáticos (3 vs 5-9%) [53, 58, 64-67, 142-148].

Cabe recordar que, las dosis de fármacos se han determinado principalmente en poblaciones caucásicas, quienes presentan una mayor frecuencia de las variantes (*2 y *3) asociadas a un metabolismo lento y como consecuencia, la dosis necesaria por los pacientes sería distinta entre poblaciones debido a esta variabilidad.

Por otro lado, existen evidencias que sugieren una asociación de las enzimas de la subfamilia CYP2C (CYP2C19) con la retinopatía diabética (factor de riesgo) en mujeres con metabolismo lento (japoneses) y en pacientes mexicanos con DMT2 de la Ciudad de México, en quienes se observó asociación de *CYP2C19**2 con la DMT2 ($p=0.01$) [153, 154]. Además, las secuencias de CYP2C19 y CYP2C9 son similares, excepto por 43 de los 490 aminoácidos [36-38], aunado a ello, ambas enzimas comparten mecanismos de regulación a nivel transcripcional mediante ligandos del receptor alpha estrógenos [138] y se han

reportado evidencias sobre el desequilibrio de ligamiento entre las variantes *2 (asociada al metabolismo lento) y *17 (asociada al metabolismo ultra-rápido) de *CYP2C19* con *CYP2C9*1* y *CYP2C8*1* en diferentes poblaciones [155-158]. También, *CYP2C9* se ha considerado como factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares (inflamación) por el metabolismo de sustratos endógenos como el ácido araquidónico [89-99].

En este estudio, después de comparar las frecuencias de las variantes *CYP2C9* de voluntarios sanos (revisión reportada por Fricke y actualizada en este estudio) [36, 50] con respecto a los pacientes mexicanos, se observó una frecuencia mayor de la variante *CYP2C9*2*, sólo en voluntarios sanos del norte de México (Nayarit, Sonora, Nuevo León y Zacatecas) [50, 149-151] con respecto a los pacientes ($\chi^2=6.33$; $p=0.012$). Sin embargo, es importante mencionar que el tamaño de las muestras de los voluntarios sanos fueron menores a 50, y ésto es una limitante para la detección de diferencias estadísticas; debido a lo anterior, las frecuencias se agruparon por regiones y aún así, se conservó la diferencia. Cabe mencionar que el tamaño de la muestra de voluntarios y pacientes (voluntarios sanos= 300 y DMT2=248), así como la metodología de genotipificación fueron similares.

Por otro lado, los resultados observados en este estudio difieren de lo reportado por Semiz para *CYP2C9*2*, ya que en su estudio no encontró diferencias en las frecuencias entre sanos y pacientes; y esta controversia también se observó con respecto a *CYP2C19*2* [154, 159]. Estas diferencias se podrían explicar por el tamaño reducido de las muestras (menor a 50 individuos) en el estudio de Semiz,

y a las diferencias entre poblaciones, debido a que la población de Bosnia y Herzegovina tiene un fondo genético distinto a los mexicanos. Éste último factor es importante, ya que se ha observado que el riesgo a padecer DMT2 es muy variable entre las poblaciones.

En el presente estudio no se realizó estratificación de acuerdo a la ancestría y esta información no se reportó en los estudios con muestras de voluntarios sanos, y tampoco se consideró en el estudio de Semiz. Debido a lo anterior, sería importante realizar más estudios que consideren la determinación de biomarcadores de ancestría en muestras de pacientes y de voluntarios sanos para descartar asociaciones aparentes o no reales, sobre todo para poblaciones mestizas como la mexicana con respecto a la variante *CYP2C9*2* y la DMT2. Esta información sería relevante, ya que se ha observado que los individuos americanos nativos son 2.2 veces más probables de ser diagnosticados con diabetes comparado con los individuos con ancestría europea, según la ADA [160].

En la actualidad, la población mexicana está compuesta por 65 grupos nativos (INEGI, 2008) y un 93% de mexicanos-mestizos (mezcla de 65 grupos nativos con españoles), cuyos principales componentes de diversidad biológica son: los amerindios, europeos y africanos [160-162]. Además, es importante mencionar, que existen evidencias de fluctuaciones regionales en México con un incremento del componente europeo en el norte; por ejemplo, en Monterrey presentan contribución europea el 51.5-61.9% y 31.9-42.6% de americana nativa, mientras que en voluntarios de la Ciudad de México el componente europeo fue 30% y el amerindio del 65% (en ambos casos el componente africano fue del 5%), y que se ha explicado por sus diferentes dinámicas poblacionales y de mestizaje tras

la conquista [163-165]. Estas fluctuaciones regionales también se observaron en la frecuencia de la variante *2, que fue mayor en los estados del norte, como lo reportado para el componente de ancestría europeo, y es importante mencionar que los españoles también presentan una mayor frecuencia de la variante *2 [49].

También, se han reportado variaciones en las proporciones de los componentes ancestrales [166] en voluntarios sanos y en pacientes con DMT2 de la Ciudad de México; en los primeros, el componente amerindio fue del 57% y en los paicentes fue del 66% y en otro estudio se reportó [166-168] una asociación positiva de los componentes de ancestría amerindia con la DMT2 en pacientes de la Ciudad de México (OR=1.6 [0.6-4.3]), sin ser estadísticamente significativa. Por ello, la importancia de realizar más investigaciones que consideren la ancestría, para las asociaciones de SNPs de *CYP2C9* con la DMT2, ya que podrían ser un marcador de ancestría y/o biomarcadores farmacogenéticos.

Los resultados observados en este estudio brindan más información y exploran la posible asociación de *CYP2C9* con la DMT2, que no se había descrito previamente para pacientes mexicanos-mestizos, como lo muestran las revisiones realizadas por Sánchez-Pozos en 2016 y García-Chapa en 2017 para los componentes genéticos de la DMT2 en población mexicana [158, 160]. La diferencia significativa en la frecuencia de la variante *2 entre pacientes y voluntarios sanos mexicanos no se observó cuando se agruparon todos los datos reportados para voluntarios sanos, posiblemente porque el tamaño de la muestra del norte fue menor que en las otras regiones (n=300 vs n=1,971) y pudiera

haberse diluido el efecto, además, la diferencia en el tamaño de las muestras entre pacientes (n=248) y voluntarios sanos (n=2,271) fue casi 10 veces.

También se observaron diferencias en las frecuencias de la variante *CYP2C9*2* entre pacientes y voluntarios sanos de Asia, pero el tamaño de la muestra de pacientes fue 14 veces menor y se desconoce si las muestras fueron de una sola región, y contrario a lo reportado en muestras de México y de Asia, la frecuencia de esta variante en africanos fue mayor en pacientes que en voluntarios sanos. Cabe remarcar la diferencia en el tamaño de las muestras y la variabilidad entre las regiones de un país que pueden contribuir a observar o no la variabilidad genética, por lo que sería importante realizar más estudios que pudieran brindar más información y considerar la estratificación por ancestría para evitar errores en la interpretación de los resultados, sobre todo para las poblaciones mestizas que pueden presentar diferentes sensibilidades dependiendo del fondo genético.

El papel de la variante intrónica *IVS8-109T* en el metabolismo de fármacos aún no es claro, y su inclusión en los estudios aportaría más información sobre su efecto y su importancia. Cabe recordar que en este estudio se describió por primera vez su frecuencia en el 16% de los pacientes como alelo y en 28% como genotipo, y que además su frecuencia fue menor ($p<0.05$) a la observada en voluntarios sanos mexicanos en una muestra de la Ciudad de México (29 vs 16%). Particularmente, el tamaño de la muestra fue similar (n=300 voluntarios sanos y n=248 pacientes con DMT2) entre voluntarios y pacientes, la genotipificación se realizó con la misma metodología (RFLP-PCR) y tanto los

pacientes como los voluntarios sanos fueron de la Ciudad de México, aunque no se realizó estratificación por ancestría [45].

Es importante mencionar que, el polimorfismo *IVS8-109T* se ha observado en portadores del alelo *1 y se ha descrito que los individuos de grupos americanos nativos presentan con mayor frecuencia este alelo, así como que tienen una mayor susceptibilidad a la DMT2. En el presente estudio se observó el polimorfismo *IVS8-109T* con menor frecuencia en pacientes, por lo que la ausencia de polimorfismos *T* y/o *2 en el gen de *CYP2C9* podría estar implicada en la etiología de la DMT2. También se observó la variabilidad genética del polimorfismo *T* en voluntarios sanos entre las poblaciones de Suecia, Japón y Corea con respecto a los mexicanos, ya que las frecuencias fueron diferentes y menores para los mexicanos con respecto a los europeos y asiáticos, pero no sabemos si existen diferencias con respecto a los pacientes de otras poblaciones, como se observó en mexicanos.

En estudios previos se ha reportado que la variabilidad genética puede explicar hasta en un 40% las diferencias observadas en la farmacocinética de las sulfonilureas [6,7, 26-34], sin embargo, la variabilidad interindividual y entre poblaciones en la respuesta a medicamentos son resultado de la combinación de múltiples factores (ambientales y genéticos) y aún más, en enfermedades complejas como la DMT2. Por ello, es importante considerar que las estrategias basadas en el fenotipo predictivo (a partir de los genotipos) observado en poblaciones europeas en ocasiones no coincide con el fenotipo metabólico medido (fenotipificación) en otras poblaciones [36, 49, 51, 54], de ahí la importancia de realizar estudios que consideren la parte genética (varios

polimorfismos), y otros factores que puedan influir en la actividad de las enzimas metabolizadoras de fármacos.

En este estudio se observó por primera vez la combinación de las variantes alélicas *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* con *IVS8-109T*, así como una amplia variabilidad en la concentración de glucosa en ayuno y %HbA1c entre genotipos y dentro de un mismo genotipo en condiciones de estado estacionario de glibenclamida, tal como se ha reportado en la literatura para las sulfonilureas. En particular, para glibenclamida en pacientes de Egipto e India, en quienes se observó una amplia variabilidad en las concentraciones del fármaco (cero a 1520 nmol/L) en pacientes que reciben una misma dosis, es por ello que se considera que su uso está lejos de las condiciones óptimas [64, 148].

En pacientes mexicanos se observaron tendencias a menores concentraciones de glucosa en ayuno y %HbA1c para los genotipos *CYP2C9*1/*1-AA*, *CYP2C9*1/*1-AT* del grupo de glibenclamida junto con *CYP2C9*1/*1-TT* del grupo glibenclamida/metformina con respecto a los demás genotipos. Cabe mencionar que, aún no es claro el papel del polimorfismo *T* en el metabolismo de fármacos y para glibenclamida no se conoce su efecto. Además, esta observación fue en pacientes que recibieron prescripciones de dosis menores, por lo que un metabolismo lento podría explicar este efecto, de manera similar a lo observado en un estudio en pacientes con epilepsia portadores de la variante *T*, cuyo efecto podría estar relacionado con una actividad reducida de *CYP2C9* (mayores concentraciones plasmáticas de fenotoina) [45].

Mientras que, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los biomarcadores de respuesta a glibenclamida con respecto a los diferentes genotipos de *CYP2C9*, similar a lo descrito en pacientes de Egipto [64], donde sólo los portadores de *CYP2C9**2/*3 tuvieron un mayor control glucémico ($p<0.05$), pero en la muestra de pacientes mexicanos sólo se identificó un caso y no presentó control glucémico con ninguno de los biomarcadores. Sin embargo, tanto Surendirán (pacientes de India) como Castelán [67] (pacientes mexicanos) reportan una mayor frecuencia ($p<0.05$) de pacientes portadores de la variante *3 con control glucémico, de manera significativa.

Las tendencias observadas en este estudio a diferencia de los resultados contundentes de Castelán en pacientes mexicanos, así como con el estudio de Surendirán y Salam podemos atribuirla en parte al tamaño reducido de la muestra y del número de pacientes por genotipo, ya que en este estudio se incluyeron a 199 pacientes y en el estudio de Castelán fueron 440, y a pesar que 3 de los 4 pacientes portadores de *CYP2C9**1/*3-AA tuvieron control glucémico, la limitante fue el número reducido de pacientes que no permitió observar diferencias estadísticamente significativas; y en el grupo de glibenclamida sólo un paciente fue portador de este genotipo [64, 67, 148].

Por otro lado, en los estudios de Surendirán (India) y Salam (Egipto) no encontraron influencia de la dosis en el control glucémico, pero en el presente estudio (México), los pacientes con las prescripciones de dosis más bajas (2.5 mg) tuvieron tendencias a menores concentraciones de los biomarcadores de

respuesta en el grupo glibenclamida, comparado con los pacientes del grupo glibenclamida/metformina con dosis prescritas mayores a 10 mg de glibenclamida [148, 64]. De manera similar, en el estudio de Castelán (México) [67] se observó un mayor control glucémico con dosis menores ($p=0.031$) y muy importante mencionar que la asociación de la variante *3 con el control glucémico se observó inicialmente en toda la muestra, y tras un ajuste de acuerdo al tipo de tratamiento (glibenclamida y glibenclamida/metformina) encontraron que, la asociación fue realmente en los pacientes en tratamiento sólo con glibenclamida ($OR=6.63$ [1.6-27.3], $p=0.009$ y $OR=1.71$ [0.48-6.14], $p=0.41$).

La observación anterior, es similar a lo descrito en el presente estudio, pues encontramos que la dosis y los biomarcadores de respuesta fueron menores en el grupo de glibenclamida comparado con los de glibenclamida/metformina y por ello no los agrupamos, por ser un sesgo potencial. Sin embargo, la limitante en nuestro estudio fue el número reducido de pacientes en el grupo glibenclamida ($n=11$) y la presencia de un solo portador de *CYP2C9**1/*3 que no permitió evaluar esta condición de manera estadística, y en el grupo glibenclamida/metformina no se observaron diferencias estadísticamente significativas como lo reportó Castelán. Por lo anterior es necesario investigar más factores involucrados en los pacientes en tratamiento con glibenclamida/metformina.

La dosis de glibenclamida podría ser uno de estos factores, ya que se ha reportado una correlación positiva entre la dosis diaria de glibenclamida y %HbA1c ($p=0.0001$), pero negativa con la concentración de insulina en suero ($p=0.03$) [32, 33, 62]. Por ejemplo, los pacientes que recibieron dosis mayores

de 10 mg de glibenclamida tuvieron 93 pmol/L de insulina y 8.4% HbA1c comparado con los pacientes que recibieron 1.75 mg, quienes tuvieron 256 pmol/L de insulina y 5.9% HbA1c ($p=0.006$); lo que podría explicarse por una desensibilización o por un funcionamiento exhaustivo de las células Beta por un sobre estímulo con dosis mayores a 10 mg de glibenclamida en estado estacionario sumado a las concentraciones de los metabolitos activos, sobretodo M1 que es tan activo como glibenclamida; por ejemplo se ha determinadas glibenclamida, M1 y M1 + M2: 18, 29 y 33 ng/mL en plasma [29, 32, 33, 54, 62].

La información anterior podría contribuir en que no se observara diferencia estadísticamente significativa para el efecto de la variante *3 en el control glucémico, ya que la mayoría de los pacientes mexicanos recibieron prescripciones de dosis de 15 mg y con la presencia de metabolitos activos generarían un estímulo continuo de altas dosis de hipoglucemiante en las células B pancreáticas y una posible desensibilización, que desencadenaría en una menor secreción de insulina. Aunque el tratamiento con altas dosis y la presencia de metabolitos activos previo a la desensibilización, también podrían inducir eventos hipoglucémicos, que se han asociado con una baja adherencia al tratamiento y como consecuencia, una falla en la eficacia o bien la variabilidad en la respuesta.

Otra diferencia importante entre los estudios fue el número de pacientes mujeres que participaron en cada uno de ellos: Surendirán, 24%; Salam, 81% este estudio y Castelán, 69 y 71% ($\chi^2=45.26$, $p<0.05$; $\chi^2=4.38$, $p=0.04$) [148, 64, 67], y cabe mencionar que uno de los mecanismos de regulación de *CYP2C9* y de *CYP2C19* es mediante el receptor de estrógenos. Además, se ha observado que

los estrógenos disminuyen la actividad de CYP2C19 (ratones) y los andrógenos incrementan la actividad de CYP2C9 (ratones)[100-103].

En este estudio se observó una tendencia a mayor control glucémico (concentración de glucosa en ayuno) en hombres portadores del genotipo *CYP2C9*1/*1-AT* con respecto a las mujeres con el mismo genotipo (glibenclamida/metformina), lo que podría explicarse por una mayor actividad de CYP2C9, ya que aunque las dosis prescritas fueron mayores a 10 mg de glibenclamida no se presentaría la desensibilización de las células B; pero el tamaño reducido de la muestra podría explicar que no hubiera diferencia significativa [32, 42].

Por otro lado, en los tres estudios previos no se reportó el uso de sustratos y/o inhibidores de CYP2C9 dentro de los tratamientos concomitantes y menos con respecto a los polimorfismos; mientras que en este estudio observamos que los pacientes portadores de *CYP2C9*1/*1-AA* (sin SNPs) recibieron el mayor número de prescripciones de sustratos e inhibidores de CYP2C9 (50 y 66%, respectivamente) y es importante recordar que las comorbilidades son frecuentes en los pacientes con DMT2 (44%) y que reciben tratamientos concomitantes como parte de una estrategia farmacológica valiosa, pero que a su vez incrementan el riesgo de interacción en el metabolismo de fármacos y de reacciones adversas (hipoglucemia), por el incremento de las concentraciones de los hipoglucemiantes orales [53, 60, 169].

En este estudio se observó una tendencia a un mayor número de eventos hipoglucemia con las variantes *2 y *3 como se reporta en la literatura, cabe enunciar que se observó un 20% de eventos hipoglucémicos en portadores de *CYP2C9*1/*1-AA*, y este fenotipo se ha asociado con un metabolismo rápido y

con una menor probabilidad de hipoglucemias, estos eventos se podrían explicar en estos pacientes por la interacción con sustratos e inhibidores de CYP2C9, ya que recibieron el mayor número. Por tanto, este factor también pudo influir para que no se observara una asociación significativa de la variante *3 con el control glucémico en este estudio, ya que si los portadores de los genotipos de *CYP2C9* sin polimorfismos asociados a un metabolismo rápido (fenotipo predicho a partir del genotipo) recibieron prescripciones concomitantes con sustratos y/o inhibidores de esta enzima, es probable que su metabolismo se volviera lento por el periodo de tiempo donde se da la interacción, lo que se conoce como el fenómeno de fenoverción (fenocopia) en el 50-66% de los pacientes portadores de este genotipo y los biomarcadores de respuesta disminuirían, así como también la diferencia con respecto a los portadores de variantes asociadas con el metabolismo lento [36, 40, 54].

Esta información coincide con lo reportado en pacientes de Finlandia en tratamiento con glimepirida y glipizida junto con trimetoprim, metronidazol y fluconazol (inhibidores de CYP2C9) en quienes se reportó un efecto exagerado y biomarcadores de respuesta menores (glucosa en ayuno y %HbA1c) [81].

Además, no debemos olvidar que las condiciones propias de la enfermedad podrían inducir diferencias en el estado metabólico de los pacientes con DMT2 con respecto a los voluntarios sanos; por ejemplo, en la secreción de insulina postprandial endógena [8], la inflamación de bajo grado que puede influir en la actividad de la enzima CYP2C9, las comorbilidades (obesidad, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, etc.) y que la secreción de insulina podría estar

acoplada con la activación de fosfolipasas, y estas con la liberación del AA, que es metabolizado por CYP2C9 a EETs [8, 91-99, 121, 170].

Recientemente, Gravel (2019) reportó una tendencia a una mayor actividad de CYP2C9 en el metabolismo de tolbutamida en pacientes con DMT2 con respecto a voluntarios sanos ($p=0.0008$) de Canadá, pero al ajustar por edad y género, sólo se observó como tendencia ($p=0.05$); en cambio si observó una actividad reducida para CYP2C19, que se conservó tras el ajuste ($p=0.001$) [170].

En este estudio se observó la tendencia a un mayor porcentaje de pacientes portadores de *CYP2C9*1/*1-AT* con obesidad y control glucémico (%HbA1c y concentración de glucosa en ayuno) con respecto a los portadores de *CYP2C9*1/*1-AA*, lo que se podría explicar por la participación del alelo *T* que es la variable distinta en estos pacientes. Pero en pacientes sin obesidad se observa lo contrario (sólo en %HbA1c) en el grupo glibenclamida/metformina, lo cual podría explicarse por las bajas concentraciones de EETs (metabolito de CYP2C9) que se han asociado con la obesidad, así como por la modificación de la transcripción de algunos CYPs y la regulación de la adipogenesis, además de un incremento en el contenido de estas enzimas en el hígado, que se ha estimado hasta en un 80% (en ratones). Sin embargo, la extrapolación entre especies es complicada [103, 118, 123-126].

Es importante mencionar que los biomarcadores utilizados en los estudios de Surendirán, Salam y este estudio fue la concentración de glucosa en ayuno y el control glucémico, a diferencia del biomarcador %HbA1c que fue utilizado por Castelán, mientras que este es el primer estudio donde se analizaron ambos biomarcadores.

En el estudio de Castelán, se consideró el control glucémico $HbA1c < 7\%$ determinado experimentalmente sin considerar el intervalo 7-8% $HbA1c$ y en este estudio se consideró $HbA1c < 6.5\%$ (NOM-015-SS2A1-1995) y $HbA1c < 7\%$ (Proyecto de NOM-015-SS2A1-2018) a partir de expedientes clínicos en distintos tiempo de medición, lo que podría introducir variabilidad en su determinación analítica [18, 67, 171].

Cabe mencionar, que las discrepancias observadas entre los biomarcadores de respuesta en este estudio (concentración de glucosa en ayuno y % $HbA1c$) para algunos factores, concuerdan con lo observado en estudios previos en pacientes caucásicos, en quienes no encuentran correlación; a diferencia de lo observado en pacientes asiáticos. Estas discrepancias podrían explicarse porque cada biomarcador mide la concentración de glucosa en diferentes puntos en el proceso de homeostasis de la glucosa, ya que la glucosa en ayuno se determina principalmente por la producción de glucosa hepática y la captación de glucosa periférica y los periodos de transición de hipoglucemia son observables, en cambio, el % $HbA1c$ no refleja estos periodos de transición de hipoglucemia y sí refleja la contribución glucémica postprandial determinada por la dieta, así como que depende del % $HbA1c$ basal [121-133].

Finalmente, en este estudio también se realizó el análisis de regresión logística bivariada y multivariante (ajuste por variables confusoras) de manera similar a lo reportado por Salam y Surendirán, quienes no encontraron interacción significativa de las variables estudiadas con el control glucémico, sin embargo, en este estudio se observó en el análisis bi-variado la interacción de la dosis de

glibenclamida con el control glucémico (<6.5 y 7% HbA1c), pero no tras el ajuste, y sólo se mantuvo la interacción con la concentración de triglicéridos, el tipo de tratamiento y la tensión arterial diastólica. El primer modelo de control glucémico HbA1c<6.5% con las variantes genéticas y factores ambientales estudiadas explican el 26.3-27.8%, mientras que con HbA1c<7%, se explica el 41%. Contrario a lo observado en este estudio, Castelán encontró en el análisis de regresión logística múltiple la interacción de la variante *3 con el control glucémico y su ajuste con respecto al tipo de tratamiento, ya que los pacientes en tratamiento con glibenclamida fueron quienes realmente tuvieron esta interacción, estas diferencias se podrían explicar por la diferencia en el tamaño de la muestra de los pacientes en tratamiento sólo con glibenclamida.

Cabe mencionar, que además de los factores mencionados, existen otros SNPs en genes de otras enzimas CYP450, transportadores o blancos farmacológicos de glibenclamida. Por ejemplo, en este estudio se realizó un análisis por subgrupo y ajuste de tamaño de muestra, de manera similar a lo realizado en los estudios de relación genotipo-fenotipo de CYP2C9 con sulfonilureas, en el que se consideraron 26 pacientes con genotipos *CYP2C9*1/*1-CYP2C8*1/*1-CYP2C19*1/*1*, características antropométricas, clínicas y bioquímicas similares a las de los 5 portadores de *CYP2C9*1/*3*, con quienes se observó diferencia estadísticamente significativa, similar a lo observado por Castelán, pero sólo bajo estas condiciones, lo que podría explicar que otros polimorfismos dentro de la subfamilia CYP2C que se han observado en desequilibrio de ligamiento y con gran similitud en su secuencia podrían participar en la variabilidad en el metabolismo de glibenclamida y tener efectos en los biomarcadores más

utilizados en la clínica. Además, en estudios in vitro se observó que CYP2C19 y CYP2C8 podrían participar en el metabolismo de sustratos de CYP2C9, pero en voluntarios sanos no se replicaron estos mismos resultados y en pacientes con DMT2 con glibenclamida aún no se ha estudiado [37, 38, 45, 50, 63, 155, 158]. De manera similar, polimorfismos en proteínas transportadoras de glibenclamida como *ABCB1* [45] o en el blanco molecular también podrían explicar la variabilidad observada en pacientes y que en conjunto con los de *CYP2C9*, no se han estudiado en pacientes con DMT2 mexicanos ni de otras poblaciones.

Los estudios que exploraren factores no considerados en poblaciones no estudiadas, incrementan la evidencia de la variabilidad genética y la descripción de factores importantes al analizar los biomarcadores de respuesta más utilizados en la clínica (concentración de glucosa en ayuno, %HbA1c y control glucémico); ya que, es importante entender el efecto de los diversos factores para que los hipoglucemiantes sean seguros y bien tolerados a través de un amplio espectro de pacientes en países como México, donde la DMT2 es un problema de salud pública por su alta prevalencia, baja adherencia al tratamiento farmacológico (53-80%) que pudiera asociarse con la hipoglucemia y falla al tratamiento farmacológico [165, 172-178].

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados encontrados en este estudio, concluimos que dentro de la muestra de pacientes mexicanos con DMT2 en tratamiento con glibenclamida existe una amplia variabilidad interindividual en el gen *CYP2C9* por la presencia de los polimorfismos *CYP2C9**2, *3 e *IVS8-109T* y su combinación con el alelo *1. También, existe una amplia variabilidad en las frecuencias de las variantes *2 y *3 entre pacientes de poblaciones de Europa, Asia y África con respecto a los pacientes mexicanos, y en particular, las variantes *2 e *IVS8-109T* fueron menos frecuentes en pacientes que en voluntarios sanos mexicanos. La primera, sólo con respecto a los voluntarios del norte de México y con respecto a la segunda, existe una variabilidad en su frecuencia en voluntarios sanos mexicanos con respecto a los de Europa, Asia y otras poblaciones de América (Ecuador).

Por otro lado, no se observó una asociación estadísticamente significativa de los polimorfismos de *CYP2C9* con el control glucémico en esta muestra de pacientes, sin embargo, pudieran no ser factores independientes ya que sí se observaron tendencias a un mayor porcentaje de pacientes con control glucémico y a un mayor número de eventos hipoglucémicos con la variante *3 y a una menor concentración de glucosa en ayuno y %HbA1c con la variante *IVS8-109T*. Además, existe una tendencia a un mayor número de pacientes portadores de *CYP2C9**1/*1-AA con prescripción de sustratos e inhibidores de *CYP2C9*, y estos mismos pacientes presentaron 17 de los 22 eventos

hipoglucémicos totales. Por lo anterior, la necesidad de más estudios que contemplen factores relevantes como los eventos hipoglucémicos, el uso de sustratos e inhibidores, la dosis, el tipo de tratamiento, estratificación por ancestría y otros polimorfismos asociados con la DMT2, con el transporte, metabolismo, blanco molecular de glibenclamida en pacientes mexicanos.

9. LITERATURA CITADA

1. Lugo-Palacios D, Cairns J, Massetto C. Measuring the burden of preventable diabetic hospitalisations in the Mexican Institute of Social Security (IMSS). *BMC Health Services Research*. 2016; 16: 333-341.
2. Barquera S, Campos-Nonato I, Aguilar-Salinas C, López-Ridaura R, Arredondo A, Rivera-Dommarco J. Diabetes in Mexico: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy. *Globalization and Health*. 2013; 9 (3): 1-9.
3. Aspinall M, Hamermesh R. Realizing the Promise of Personalized Medicine. *Harv Bus Rev*. 2007; 85 (10): 108-117.
4. Loganadan N, Huri H, Vethakkan S, Hussein Z. Genetic markers predicting sulphonylurea treatment outcomes in type 2 diabetes patients: current evidence and challenges for clinical implementation. *Pharmacogenomics J*. 2016; 16: 209-219.
5. Chaudhury A, Davoor C, Reddy V, Kraleti S, Chada A, Ravilla R, et al. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Front in Endocrinol*. 2017; 8 (6): 1-12.
6. Scheen A. Towards a genotype-based approach for a patient-centered pharmacologic therapy of type 2 diabetes. *Ann Transl Med*. 2015; 3 (1): 536.

7. Aquilante, C. Sulfonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: the influence of drug target and diabetes risk polymorphisms. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2010; 8 (3): 359-372.
8. Burge M, Sood V, Sobhy T, Rassam A, Schade D. Sulphonylurea-induced hypoglycaemia in type 2 diabetes mellitus: a review. *Diabetes Obes Metab.* 1999; 1 (4): 199-206.
9. Informe Mundial sobre la Diabetes. Catalogación por la Biblioteca de la OMS. Organización Mundial de la Salud 2012. www.who.int (Revisar fuente)
10. Funakoshi S, Fujimoto S, Hamasaki A, Fujiwara H, Fujita Y, Ikeda K. et al. Analysis of factors influencing pancreatic b-cell function in Japanese patients with type 2 diabetes: Association with body mass index and duration of diabetic exposure. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008; 82: 353-358.
11. Ashcroft F, Rrsman P. Electrophysiology of the Pancreatic B-cell. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 1989; 54: 87-143.
12. Rahelic D. IDF Diabetes Atlas. 8 th Edition; 2017; 138:5. <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/134-idf-diabetes-atlas-8th-edition.html>
13. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX). 2012.
14. Palermo A, Maggi D, Maurizi A, Pozzilli P Buzzetti R. Prevention of type 2 diabetes mellitus: is it feasible? *Diabetes Metab Res Rev.* 2014; 30: 4-12.

15. Sendur UG, Adas M. Determinants of Awareness on Diabetes and its complications Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2019. doi: 10.1055/a-0840-3438.
16. Hernández M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de medio Camino 2016: resultados ponderados. [Presentación] Instituto Nacional de Salud Pública. 14 de diciembre 2016. ENSANUT MC, 2016. <http://ensanut.insp.mx>
17. Lastra G, Syed S, Kurkulasuriya LR, Manrique C, Sowers JR. Type 2 diabetes mellitus and hypertension: an update. Endocrinol Metab Clin North Am. 2014; 43 (1): 103-122.
18. Proyecto NOM-015-SSA2A1-2018. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5521405&fecha=03/05/2018
19. Liao W, Thai F. Personalized medicine: A paradigm shift in healthcare. BioMedicine. 2013; 3: 66-72.
20. Vetere A, Choudhary A, Burns SM, Wagner BK. Targeting the pancreatic B-cell to treat diabetes. Nat Rev Drug Discov. 2014; 13 (4): 278-89.
21. Rodríguez-Rivera N, Cuautle-Rodríguez P, Castillo-Nájera F, Molina-Guarneros J. Identification of genetic variants in pharmacogenetic genes associated with type 2 diabetes in a Mexican-mestizo population. Biomed. Rep. 2017; 7 (1): 21-28.
22. López-Jaramillo P, Velondía C, Castillo G, Sánchez T, Álvarez J. Análogos de incretina e inhibidores de la DPP-4: ¿qué papel desempeñan en la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares? Rev Colomb Cardiol. 2013; 20 (5): 287-299.

23. Yap-Campos K, Sáñchez-Gálvez X, Rivero-López CA. The role of the DPP4 Inhibitors: A Current Approach in the Management of Diabetes Mellitus type 2. *Atención Familiar*. 2017; 24 (3): 136-139.
24. Bell GI, Polonsky KS. Diabetes mellitus and genetically programmed defects in B-cell function. *Nature*. 2001; 414: 800-831.
25. Amin M, Suksomboon N. Pharmacotherapy of Type 2 Diabetes Mellitus: An Update on Drug-drug Interactions. *Drug. Saf.* 2014; 37: 903-919.
26. Cooper PE, McClenaghan C, Chen C, Stary-Weizinger A, Nichols CG. Conserved functional consequences of disease-associated mutations in the slide helix of Kir6.1 and Kir6.2 subunits of the ATP-sensitive potassium channel. *J Biol Chem*. 2018; 292 (42): 17387-17398.
27. Seino S, Takahashi H, Takahashi T, Shibasaki T. Treating diabetes today: a matter of selectivity of sulphonylureas. *Diabetes Obes Metab*. 2012; 14 (S1:9-13): doi: 10.1111/j.1463.2011.01507.
28. Kaira S, Madhy S, Bajaj S. Sulfonylureas: Asses in the past, present and future. *Indian J Endocrinol Metabl*. 2015; 19 (3): 314-316.
29. Florez JC. Newly identified loci highlight beta cell dysfunction as a key cause of type 2 diabetes: Where are the insulin resistance genes? *Diabetologia*. 2008; 51: 1100-1110.
30. Costa V, Federico A, Pollastro C, Ziviello C, Cataldi S, Formisano P, et al. Computational Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms Associated with Altered Drug Responsiveness in Type 2 Diabetes. *Int. J Mol Sci*. 2016; 17; 1008: 1-14.

31. Jönsson A, Hallengren B, Rydberg T, Melander A. Effects and serum levels of glibenclamide and its active metabolites in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2001; 3 (6): 403-9.
32. Peart G, Boutagy J, Shenfield G. The metabolism of glyburide in subjects of known debrisoquin phenotype. *Clin Pharmacol Ther.* 1989; 45 (3): 277-284.
33. Tracewell W, Stalker D, maloley P, Gallagher T. Gwilt P. Population Pharmacokinetics of Glyburide in Patients with Well-Controlled Diabetes. *Pharmacotherapy.* 1998; 18 (1): 51-6.
34. Cuautle-Rodríguez P, Rodríguez-Rivera N, Pérez-Silva E, Molina-Guarneros J. Polimorfismos de CYP450 asociados a enfermedades y su valor como biomarcadores. *Evid med Invest Salud.* 2016; 9: 167-178.
35. Wang B, Wang J, Huang S, Su H, Zhou S. Genetic Polymorphism of the Human Cytochrome P450 and its clinical significance. *Curr Drug Metab.* 2009; 10: 781-834.
36. Céspedes-Garro C, Fricke-Galindo I, Naranjo M, Rodrigues-Soares F, Fariñas H, de Andrés F, et al. World interethnic variability and geographical distribution of CYP2C9 genotypes and phenotypes. *Expert Opinion Drug Metab Toxicol.* 2015; 11 (12): 1-13.
37. Rao DK, Murthy DK, Shaik NS, Banaganapalli B, Konda K, Rao H, et al. Distribution of CYP2C8 and CYP2C9 Amino Acid Substitution Alleles in South Indian Diabetes Patients: A Genotypic and Computational Protein Phenotype Study. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017. Doi:10.1111/1440-1681.12810.

38. Zanger U, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variations. *Pharmacol Ther.* 2013; 138 (1): 103-41.
39. Hatta F, The L, Helldén A, Hellgren K, Roh H, Salleh M, et al. Search for the molecular basis of ultra-rapid CYP2C9-catalysed metabolism: relationship between SNP *IVS8-109A>T* and the losartan metabolism phenotype in Swedes. *Eur j Clin Pharmacol.* 2012; 68 (7): 1033-42.
40. Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Llerena A, López-López M. Interethnic variability of pharmacogenetics 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.
41. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics.* 2002; 12: 251-263.
42. Yasar Ü, Eliasson E, Dhal ML, Johansson I. Validation of Methods for CYP2C9 Genotyping: Frequencies of Mutant Alleles in a Swedish Population. *Biochem Biophys Res Communications.* 1999; 254: 628-631.
43. Yasar Ü, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, de Faire U, et al. Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Communications.* 2002; 299: 25-28.
44. Vomfelde SV, Schirmer M, Toliat MR, Meineke I, Kirchheiner J, Nürnberg P, et al. Genetic variation at the CYP2C locus and its association with torsemide biotransformation. *Pharmacogenomics J.* 2007; 7: 200-211.

45. Ortega-Vázquez A, Dorado P, Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Monroy-Jaramillo N, Martínez-Juárez I, et al. CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 genetic polymorphisms and phenytoin plasma concentrations in Mexican-Mestizo patients with epilepsy. *Pharmacogenomics J.* 2016; 16: 286-292.
46. Rettie A, Jones J. Clinical and Toxicological Relevance of CYP2C9: Drug-Drug Interactions and Pharmacogenetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 477-494.
47. Tompkins L, Wallace A. Mechanisms of Cytochrome P450 Induction. *J Biochem Molecular Toxicology.* 2007; 21 (4): 176-181.
48. Guengerich FP. Cytochrome P450, Drugs, and Diseases. *Mol Interventions.* 2003; 3 (4): 194-204.
49. Dorado P, Sosa-Macías M, Peñas-Lledó EM, Alanis-Bañuelos RE, Wong ML, Licinio J, et al. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J.* 2011; 11 (2): 111-20.
50. Saldaña-Cruz AM, León-Moreno L, Sánchez-Corona J, Santiago D, Mendoza-Carrera F, Castro-Martínez X, et al. CYP2C9 and CYP2C19 allele and Haplotype Distributions in Four Mestizo Populations from Western Mexico: An Interethnic Comparative Study. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2016; 20 (11): 702-709.
51. Dorado P, Gallego A, Peñas-Lledó E, Terán E, Llerena A. Relationship between the *CYP2C9 IVS8-109A>T* polymorphism and high losartan hydroxylation in healthy Ecuadorian volunteers. *Pharmacogenomics.* 2014; 15 (11): 14-85.

52. Ramamoorthy A, Pacanowski M, Bull J, Zhang L. Racial/Ethnic Differences in Drug Disposition and Response: Review of Recently Approved Drugs. *Clin Pharmacol Ther.* 2015; 97 (3): 263-73.
53. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts E, 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.
54. De Andrés F, Terán S, Hernández F, Terán E, Llerena A. To Genotype or Phenotype for Personalized Medicine? CYP450 Drug Metabolizing Enzyme Genotype-Phenotype Concordance and Discordance and Discordance in the Ecuadorian Population. *Omics.* 2016; 20 (12): 699-710.
55. Holstein A, Beli W, Kovacs P. CYP2C metabolism of oral antidiabetic drugs impact on pharmacokinetics, drug interactions and Pharmacogenetics aspects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2012; 8 (12): 1549-63.
56. Shon J, Yoon Y, Kim K, Lim Y, Lee K, Park J, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genetic polymorphisms on the disposition of and blood glucose lowering response to tolbutamide in humans. *Pharmacogenetics J.* 2002; 12 (2): 111-119.
57. Holstein A, Hahn M, Patzer O, Seeringer A, Kovacs P, Stingl J. Impact of clinical factors and CYP2C9 variants for the risk of severe sulfonylurea-induced hypoglycemia. *Eur J Clin Pharmacol* 2011; 67 (5). 471-6.
58. Holstein A, Bell W, Kovacs P. CYP2C metabolism of oral antidiabetic drugs-impact on pharmacokinetics, drug interactions and Pharmacogenetic aspects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2012; 8 (12): 1549-1563.

59. Zhao H, Ren X, Liu N, Chen G, Li W, Zhao Z, et al. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on pharmacokinetics and pharmacodynamics of glicazide in healthy Chinese Han volunteers. *J Clin Pharm Ther.* 2010; 35 (3): 351-60.
60. Zhou L, Naraharisetti S, Liu L, Wang H, Lin Y, Isoherranen N, et al. Contributions of human cytochrome P450 enzymes to glyburide metabolism. *Biopharm Drug Dispos.* 2010; 31 (4): 228-42.
61. Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisei 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 – 296.
62. Zharikova O, Fokina V, Nanovskaya T, Hill R, Mattison D, Hankins G, et al. Identification of the major human hepatic and placental enzymes responsible for the biotransformation of glyburide. *Biochem Pharmacol.* 2009; 78(12): 1483-1490.
63. Yin OQ, Tomlinson B, Chow M. CYP2C9, but not CYP2C19, polymorphisms affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin Pharmacik Ther.* 2005; 78 (4): 370-377.
64. Salam R, Zeyeda R, osman N. Effect of CYP2C9 gene polymorphisms on response to treatment with sulfonylureas in a cohort of Egyptian type 2 diabetes mellitus patients. *Com Clin Pathol.* 2014; 23: 341-346.
65. Zeng W, Guo Y, Chen P, Liu Z, Chen D, Han C. CYP2C93 variant is associated with antidiabetes efficacy of glicazide in Chinese type 2 diabetes patients. *J Diabetes Investig.* 2016; 7 (5): 764-8.

66. Suzuki K, Yanagawa T, Shibasaki T, Kaniwa N, Hasegawa R, Tohkin M. Effect of CYP2C9 genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006; 72 (2). 148-54.
67. Castelán-Martínez OD; Hoyo-Vadillo C, Bazán-Soto TB, Cruz M, Tesoro-Cruz E, Valladares-Salgado A. CYP2C9*3 gene variant contributes independently to glycaemic control in patients with type 2 diabetes treated with glibenclamide. *J Clin Pharm Ther.* 2018; 43: 768-774.
68. Daniels M, Kan C, Wilmes D, Ismail K, Pistrosch F, Hopkins D, et al. Pharmacogenomics in type 2 diabetes: oral antidiabetic drugs. *Pharmacogenomics J.* 2016; 1-12.
69. Quilliam B, Ozbay A, Sill B, Kogut S. The association between adherence to oral anti-diabetic drugs and hypoglycaemia in persons with Type diabetes. *Diabet. Med.* 2013; 30: 1305-1313.
70. Bozkurt Ö, De Boer A, Grobbee D, Heerdink E, Burger H, Klungel O. Pharmacogenetics of Glucose-Lowering Drug Treatment. *Mol Diagn Ther.* 2007; 11 (5): 291-302.
71. Dostalek M, Akhlaghi F, Puzanovova M. Effect of Diabetes mellitus on Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drugs. *Clin Pharmacokinet.* 2012; 51 (8): 481-499.
72. Van Dalem J, Brouwers MC, Stenhouwer CD, Krings A, Leufkens HG, Driessen JH, et al. Risk of hypoglycaemia in users of sulphonylureas compared with metformin in relation to renal function and sulphonylurea metabolite group: population based cohort study. *BMJ.* 2016; 354: i3625.

73. Wang B, Wang J, Huang S, Su H, Zou S. Genetic Polymorphism of the Human Cytochrome P450 and its clinical significance. *Curr Drug Metab*. 2009; 10: 781-834.
74. Stingl JC, Kaumanns KL, Claus K, Lehmann ML, Kastenmüller K, Bleckwenn M, et al. Individualized versus standardized risk assessment in patient at high risk for adverse drug reaction (Drug) study protocol for a pragmatic randomized controlled trial. *BMC Fam pract*. 2016; 26: 17-49.
75. Sendur UG, Adas M. Determinants of Awareness on Diabetes and its Complications. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019; doi: 10.1055/a-0840-3438.
76. Asplund K, Wiholm B, Lithner F. Glibenclamide-Associated Hypoglycaemia: A Report on 57 cases. *Diabetologia*. 1983; 24: 412-417.
77. Stankov K, Sabo A, Milov M. Pharmacogenetic Biomarkers as Tools for Pharmacoepidemiology of Severe Drug Reactions. *Drug Dev Res*. 2013; 74: 1-14.
78. Hariparsad N, Ramsden D, Palamanda J, Dekeyser JG, Fahmi OA, Kenny JR, et al. Considerations from the IQ induction working group in response to drug-drug interaction guidance from regulatory agencies: Focus on Downregulation, CYP2C Induction, and CYP2B6 Positive Control. *Drug Metab Dispos*. 2017; 45 (10): 1049-1059.
79. Andersen T, Bredberg E, Ericsson H, Sjöberg H. An evaluation of the in vitro metabolism data for predicting the clearance and drug-drug interaction potential of CYP2C9 substrates. *Drug Metab Dispos*. 2004; 32: 715-721.
80. Strandell J, Neil A, Carlin G. An approach to the in vitro evaluation of potential for cytochrome P450 enzyme inhibition from herbals and other natural remedies. *Phytomedicine*. 2004; 11 (2-3): 98-104.

81. Tirkkonen T, Heikkilä P, Huupponen R, Laine K. Potential CYP2C9-mediated drug-drug interactions in hospitalized type 2 diabetes mellitus patients treated with the sulphonylureas glibenclamide, glimepiride or glipizide. *J Intern Med.* 2010; 268 (4): 359-66.
82. Chiba K, Shimizu K, Kato M, Miyazaki T, Nishibayashi T, Terada K, et al. Estimation of Interindividual Variability of Pharmacokinetics of CYP2C9 Substrates in Humans. *J Pharm Sci.* 2017; 106 (9): 2695-2703.
83. Melet A, Assrir N, Jean P, López-García M, Marques-Soares C, Jaouen M, et al. Substrate selectivity of human cytochrome P450 2C9: importance of residues 476, 365, and 114 in recognition of diclofenac and sulfaphenazole and in mechanism-based inactivation by tienilic acid. *Archiv Biochem.* 2003; 409: 80-91.
84. Festa A, Heller S, Seaquist E, Duan R; Hadjiyianni I, Fu H. Association between mild and severe hypoglycemia in people with type 2 diabetes initiating insulin. *J Diabetes Complications.* 2017; 31 (6): 1047-1052.
85. Castellan A, Tod M, Gueyffier F, Audars M, Cambriels F, Kassai B, et al. Quantitative Prediction of the Impact of Drug Interactions and Genetic Polymorphisms on Cytochrome P450 2C9 Substrate Exposure. *Clin Pharmacokint.* 2013; 52: 199-209.
86. Evans W, Relling M. Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *Science.* 1999; 286: 487-491.
87. Ulrich A, Standop J, Schemied B, Shneider M, Lawson T, Pour P. Species Differences in the Distribution of Drug-metabolizing Enzymes in the pancreas. *Toxicol Pathol.* 2002; 30 (2): 247-253.

88. Yousif MH, Benter IF. Role of cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in regulation of corporal smooth muscle tone in diabetic and older rats. *Vascul Pharmacol.* 2007; 47 (5-6): 281-287.
89. Murray G, Barnes T, Sewell H, Ewe S, Melvin W, Burke D. The immunocytochemical localization and distribution of cytochrome P-450 in normal human hepatic and extrahepatic tissues with a monoclonal antibody to human cytochrome P-450. *Br J Clin Pharmacol.* 1988; 25: 465-475.
90. Aliwarga T, Evangelista EA, Sotoodehnia N, Lemaitre RN, Totah RA. Regulation of CYP2J2 and EET levels in Cardiac Disease and Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2018; 29: 19 (7).
91. Sausville LN, Williams SM, Pozzo A. Cytochrome P450 epoxigenases and cancer: A genetic and a molecular perspective. *Pharmacol Ther.* 2018; S0163-7258 (18): 30214-6.
92. Zeldin D, Foley J, Boyle J, Moomaw C, Tomer K, Parker C, et al. Predominant Expression of an Arachidonate Epoxigenase in islets of Langerhans Cell in Human and Rat Pancreas. *Endocrinology.* 1997; 138 (3): 1338-1346.
93. Senda A, Mukai Y, Hayakawa T, Kato Y, Eliasson E, Rane A, et al. Angiotensin II Receptor Blockers Inhibit the Generation of Epoxyeicosatrienoic Acid from Arachidonic Acid in Recombinant CYP2C9, CYP2J2 and human liver cromosomes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017; 121 (4): 239-245.
94. Capdevila J, Falck J. The arachidonic acid monooxygenase: from biochemical curiosity to physiological/pathophysiological significance. *J Lipid Res.* 2018; 59: 2047-2062.

95. Gangdhariah MH, Dieckmann BW, Lantier L, Kang L, Wasserman DH, Chiusa M, et al. Cytochrome P450 epoxygenase-derived epoxyeicosatrienoic acids contribute to insulin sensitivity in mice and in humans. *Diabetologia*. 2017; 60: 1066-1075.
96. Schäfer A, Neschen S, Kahle M, Sarioglu H, Gaisbauer T, Imhof A, et al. The Epoxyeicosatrienoic Acid Pathway Enhances Hepatic Insulin Signaling and is Repressed in Insulin-Resistant mouse liver. *Mol Cell Proteomics*. 2015;14 (10): 2764-74.
97. Zeldin D, Foley J, Boyle J, Moomaw C, Tomer K, Parker C, et al. Predominant Expression of an Arachidonate Epoxygenase in islets of Langerhans Cell in Human and Rat Pancreas. *Endocrinology*. 1997; 138 (3): 1338-1346.
98. Luo P, Wang M. Eicosanoids, B-cell Function, and Diabetes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2011; 95: 1-10.
99. Austin C, Sordillo L, Zhang C, Fenton J. Obesity is positively associated with arachidonic acid-derived 5- and 11-hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE). *Metab Clin Exp*. 2017; 70: 177-191.
100. Nadal A, Alonso-Magdalena P, Soriano S, Quesada I, Ropero A. The pancreatic B-cell as a target of estrogens and xenoestrogens: Implications for blood glucose homeostasis and diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2009; 25 (1-2): 63-8.
101. Van Sinderen M, Steinberg G, Jorgensen S, Honeyman J, Chow J, Herridge K, et al. Effects of Estrogens on Adipokines and Glucose Homeostasis

in Female Aromatase Knockout Mice. PLOS ONE. 2015; 10 (8): e0136143.Doi: 10.1371/journal.pone.0136143.

102. Peñaloza CG, Estevez B, Han DM, Norouzi M, Lockshin RA, Zakeri Z, et al. Sex-dependent regulation of cytochrome P450 family members CYP1A1, CYP2E1, and CYP7B1 by methylation of DNA. FASEB J. 2014; 28 (2): 966-77.

103. Chih-Hsing W, Wei-Jen Y, Feng-Hwa L, Yi-Ching Y, Jin-Shang W, Chih-Jen C. Sex differences of body fat distribution and cardiovascular dysmetabolic factors in old age. Age Ageing. 2001; 30 (4): 331-6.

104. Magnusson N, Dyrskjet L, Grimm D, Wehland M, Pietsch J, Rungby J. Gene Networks Modified by Sulphonylureas in Beta Cells: Pathway-based Analysis of Insulin Secretion and Cell Death. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2012; 111 (4): 254-61.

105. Iozzo P, Beck-Nielsen H, Laakso M, Smith U, Yki-Järvinen H, Ferrannini E. Independent influence of age on basal insulin secretion in nondiabetic humans. European Group for the Study of Insulin Resistance. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84 (3): 863-8.

106. Kakiwara A, Saruwatari J, Kita A, Kamihashi R, Miyagawa H, Sakata M, et al. Sex differences in the effect of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on the risk of diabetic retinopathy: a retrospective longitudinal study in Japanese patients with type 2 diabetes. Pharmacogenet Genomics. 2013; 23 (12): 717-20.

107. Cadagan D, Khan R, Amer S. The all cell sensitivity to luteinizing hormone and insulin in polyquistic ovarian syndrome. Reprod Biol. 2016; 16: 53-60.

108. Gunasekaran U, Gannon M. Type 2 Diabetes and the Aging Pancreatic Beta Cell. *Aging*. 2001; 3 (6): 565-575.
109. De Tata V. Age-related impairment of pancreatic beta-cell function: pathophysiological and cellular mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5: 138.
110. Justo J, Mayer S, Pai M, Soriano M, Danziger L, Novak R, et al. Pharmacokinetics of Certraline in Normal Body Weight and Obese (Classes I, II, and III) Healthy Adults Subjets. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59 (7): 3956-3965.
111. Montanya E, Fonseca V, Colagiuri S, Blonde L, Donsmark M, Nauck M. Improvement in glycated haemoglobin evaluated by baseline body mass index: a meta-analysis of the liraglutide phase III clinical trial programme. *Diabetes Obes Metab*. 2016; 18 (7): 07-10.
112. Wang P, Fiaschi-Taesch NM, Vasavada RC, Scott DK, García-Ocaña A, Stewart AF. Diabetes mellitus-advances and challenges in human B-cell proliferation. *Nat Rev Endocrino*. 2015; 11 (4): 201-12.
113. Rutter G, Pullen T, Hodson D, Martínez-Sánchez A. Pancreatic B-cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *Biochem J*. 2015; 466: 203-218.
112. Oba S, Suzuki E, Yamamoto M, Horikawa Y, Nagata C, Takeda J. Active and passive exposure to tobacco smoke in relation to insulin sensitivity and pancreatic B-cell function in Japanese subjects. *Diabetes Metab*. 2015; 41 (2): 160-7.

114. Velasco M, Díaz-García C, Larque C, Hiarte M. Modulation of ionic channels and insulin secretion by drugs and hormones in pancreatic beta cells. *Mol Pharmacol*. 2016; 90 (3): 341-57.
115. Chung E, Cheatham C, Fleming M, Healy D, Kays M. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Meropenem in Nonobese, Obese, and Morbidly Obese Patients. *J Clin Pharmacol*. 2017; 57 (3): 356-36.
116. Sartor G, Melander A, Scherstén B, Wahlin-Boll. Serum Glibenclamide in Diabetic Patients, and Influence of Food on the kinetics and Effects of Glibenclamide. *Diabetologia*. 1980; 18: 17-22.
117. Zha W, Edin ML, Vendrov KC, Schuck RN, Lih FB, Jat JL, et al. Functional characterization of cytochrome P450-derived epoxyeicosatrienoic acids in adipogenesis and obesity. *J Lipid Res*. 2014; 55 (10): 2124-36.
118. Bebia Z, Buch SC, Wilson JW, Frye RF, Romkes M, Cecchetti A, et al. Bioequivalence revisited: influence of age and sex on CYP enzymes. *Clin Pharmacol Ther*. 2004; 76 (6): 618-27.
119. 160. Niemi M, Blackman J, Neuvonen M, Neuvonen P, Kivistö K. Effects of rifampicin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide and glipizide. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 69 (6): 400-406.
120. Schelleman H, Han X, Brensinger M, Quincey S, Bilker W, Flockhart D, et al. Pharmacoepidemiologic and in vitro evaluation of potential drug-drug interactions of sulfonylureas with fibrates and statins. *Br J Clin Pharmacol*. 2014; 78 (3): 639-648.

121. Pickens C, Sordillo L, Zhang C, Fenton J. Obesity is positively associated with arachidonic acid-derived 5- and 11- hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE). *Metab Clin Exp*. 2017; 70: 177-191.
123. Montero R, Texeira D, Calhau C. Estrogen Signaling in Metabolic Inflammation. *Mediators of Inflammation*. Mediatos Inflamm. 2014; 615917. Doi: 10.1155/2014/615917.
124. Vehmas A, Adam M, Laajala T, Kastenmüller G, Prehn C, Rozman J, et al. Fuchs H, et al. Liver lipid metabolism is altered by increased circulating estrogen to androgen ratio in male mouse. *J Proteomics*. 2016; 133: 66-75.
125. Tomakova V, Liskova B, Skalova L, Bartikova H, Bousova I, Jourova K, et al. Altered cytochrome P450 activities and expression levels in the liver and intestines of the mono sodium glutamate-induced mouse model of human obesity. *Life Sciences*. 2015; 133: 15-20.
126. Jusko W. Clarification of contraceptive drug pharmacokinetics in obesity. *Contraception*. 2017; 95: 10-16.
127. Reza H, Meybodui A, Hasanzad M, Larijani B. Path to Personalized Medicine for Type 2 Diabetes Mellitus: Reality and Hope. *Acta Med Iranica*. 2017; 55 (3): 166-174.
128. Razi F, Nsli E, Rahnamaye M, Tootee A, Qorbani M, Ahmad S, et al. Effect of the different assays of HbA1c on diabetic patients monitoring. *J Diabetes Metab Disord*. 2015; 4: 14-65.
129. Bonora E, Calcaterra F, Lombardi S, Bonfante N, Formentini G, Bonadonna R, et al. Plasma Glucose Levels Throughout the Day and HbA1c interrelationship in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2001; 24 (12): 2023-2029.

130. Jeffcoate S. Diabetes control and complications: the role of glycated haemoglobin, 25 years on. *Diabetes Medicine*. 2003; 21: 657-665.
131. Yudkin J, Forrest R, Jackson C. Rule A, David S, Gould B. Unexplained variability of glycated haemoglobin in non-diabetic subjects not related to glycaemia. *Diabetología*. 1990; 33: 208-215.
132. Monier L, Lapinski H, Colette C. Contributions of Fasting and Postprandial Plasma Glucose Increments to the Overall Diurnal Hyperglycemia of Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care*. 2003; 26: 881-885.
133. Hanefeld M, Patwardhan R, Jones N. RCTSG (Rosiglitazone Clinical Trials Study Group). A one-year study comparing the efficacy and safety of rosiglitazone and glibenclamide in the treatment of type 2 diabetes. *Nutrition, Metab Cardiovascular Diseases*. 2007; 17: 13-23.
134. OMS, 2012; www.who.int
135. Remedi M, Emfinger B. Pancreatic B-cell identity in diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2016; 18 (1): 110-116.
136. Nardotto G, Coelho E, Paiva C, Lanchote V. Effects of Type 2 Diabetes Mellitus in Patients on Treatment with Glibenclamide and Metformin on Varvedilol Enantiomers Metabolism. *J Clin Pharmacol*. 2017; 57 (6): 1-10
137. Shah R, Gaedigk A, Llerena A, Eichelbaum M, Stingl J, Smith R. CYP450 genotype and pharmacogenetic association studies: a critical appraisal. *Pharmacogenomics J*. 2016; 17 (3): 259-275.
138. Ren Q, Han X, Tang Y, Zhang X, Zou X, Cai X, et al. Search for genetic determinants of sulfonylurea efficacy in type 2 diabetic patients from China. *Diabetologia*. 2014; 57 (4): 746-53.

139. Addy C, Tatosian D, Glasgow X, Gendrano I, McCray C, Kauh E, et al. Effects of Age, Sex, and obesity on the Single-Dose Pharmacokinetics of Omarigliptin in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Drug Development*. 2016; 5 (5). 374-382.
140. Sánchez-López P, Vázquez-Alonso F, et al. Polymorphisms in inflammatory response genes in metastatic renal cancer. *Actas Urol Exp*. 2009; 33 (5): 474-481.
141. Burian M, Grösch S, Tegeder I, Geisslinger G. Validation of a new fluorogenic real-time PCR assay for detection of CYP2C9 allelic variants and CYP2C9 allelic distribution in a German population. *Br J Clin Pharmacol*. 2002; 54 (5): 518-521.
142. Becker M, Visser L, Trienekens P, Horman A, Van Schaik R, Stricker B. Cytochrome P450 2C9*2 and *3 polymorphisms and the dose and effect of sulphonylurea in type II diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 83 (2): 288-92.
143. Weise A, Prause S, Eidens M, Weber M, Kann P, Pfützner A. Prevalence of CYP450 gene variations in patients with type 2 diabetes. *Clin Lab*. 2010; 56 (7-8): 311-318.
144. Hohendorff J, Mrozinska S, Plis A, Nowak N, Klupa T, Malecki M. Lack of Association between Arg144Cys Variant of CYP2C9 Gene and Therapeutic Response to Oral Agents in Type 2 Diabetes Patients. *Int J Hum Genet*. 2012; 12 (2): 83-86.

145. Ragia G, Petridis I, Tavridou A, Christakidis D, Manolopoulos V. Presence of CYP2C9*3 allele increases risk for hypoglycemia in Type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Pharmacogenomics J*. 2009; 10 (11): 1781-1787.
146. Klen J, Dolzan V, Janez A. CYP2C9, KCNJ11 and ABCC8 polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014; 70 (4): 421-8.
147. Baht D, Chauhan N, Sharma A, Dhawan D, Baht R, Phatak S, et al. Investigating the Role of Plasma Glucose Concentration as a Phenotypic Marker for CYP2C9 Genetic Variants in the Diabetic Population of Gujarat. *Indican J Pharm Sci*. 2014; 76 (1): 72-77.
148. Surendiran A, Pradhan S, Agrawal A, Subrahmanyam D, 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.
149. Villegas-Torres B, Sánchez-Girón F, Jaramillo-Villafuerte K, Soberón C, González-Covarrubias V. Genotype frequencies of VKORC1 and CYP2C9 in native and Mestizo populations from Mexico, potential impact for coumarin dosing. *Gene*. 2015; 558 (2): 235-40.
150. Aguilar B, Rojas JC, Collados MT. Prevalence of CYP2C9 variants in the Mexican population. *Arch Med Res*. 2008; 39: 463.
151. 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: 167-72.

152. Gross A, Bridge S, Shenfield G. Pharmacokinetics of tolbutamide in ethnic Chinese. *Br J Clin Pharmacol*. 1999; 47: 151- 156.
153. Hoyo-Vadillo C, García-Mena J, Valladares A, Venturelli C, Wacher-Rodarte N, Kumate J, et al. Association of CYP2C19 genotype with type 2 diabetes. *Health*. 2010; 2 (10): 1184-1190.
154. Parra E, Below J, Krithika S, Valladares A, Barta J, Cox N, et al. Genome-wide association study of type 2 diabetes in a sample from Mexico City and a meta-analysis of a Mexian-American sample from Starr County, Texas. *Diabetologia*. 2011; 54 (8): 1-16.
155. Khalighi K, Cheng G, Mirabbasi S, Khalighi B, Wu Y, Fan W. Linkage disequilibrium between the CYP2C19*2, *17, and CYP2C19*1 alleles and impact of VKORC1, CYP2C9, CYP2C19 gene polymorphisms and gene-gene interactions on warfarin therapy. *J Thromb Thrombolysis*. 2017; 43: 124-129.
156. Maekawa K, Fukushima-Uesaka H, Tohkin M. Four novel defective alleles and comprehensive haplotype analysis of CYP2C9 in Japanese. *Pharmacogenet. Genomics*. 2006; 16 (7): 497-514.
157. Lee SJ, Jang YJ, Cha EY, Kim HS, Lee SS, Shin JG. A haplotype of CYP2C9 associated with warfarin sensitivity in mechanical heart valve replacement patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2010; 70 (2): 213-221.
158. García-Martín E, Martínez C, Tabarés B, Frías J, Agúndez J. Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*. 2004; 76 (2): 119-127.

159. Semiz S, Dujic T, Ostanek B, Pmjavorac B, Bego T, Malenica M, et al. Analysis of CYP2C9*2, CYP2C19*2, and CYP2D6*4 polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus. *Bosn J Basic Med Sci.* 2010; 10 (4): 287-29*1.
160. Sánchez-Pozos K, Rivera-Santiago C, García-Rodríguez M, Ortiz-López M, Peña-Espinoza B, Granados-Silvestre M, et al. Genetic variability of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 in seven indigenous groups from Mexico. *Pharmacogenomics J.* 2016; 17 (17): 1881-1889.
161. Rubí-Castellanos R, Martínez-Cortés G, Muñoz-Valle JF, González-Martín A, Cerda-Flores R, Anaya-Palafox M, et al. Pre-Hispanic Mesoamerican Demography Approximates the Presents-Day Ancestry of Mestizos Throughout the Territory of Mexico. *Am J Phys Anthropol.* 2009; 139 (3): 284-9.
162. Sosa-Macías M, Llerena A. Cytochrome P450 genetic polymorphisms of Mexican indigenous populations. *Drug Metab Drug Interact.* 2013; 28 (4): 193-208.
163. Lisker R, Ramírez E, Babinsky V. Genetic structure of autochthonous populations of Meso-America: Mexico. *Hum Biol.* 1996; 68 (3): 395-404.
164. Jiménez-Sánchez G. Developing a platform for genomic medicine in Mexico. *Science.* 2003; 300: 295-296.
165. Jiménez-Sánchez G, Silva-Zolezzi I, Hidalgo A, March S. Genomic Medicine in Mexico: Initial steps and the road ahead. *Genome Res.* 2008; 18: 1191-1198.
166. Martínez-Marignac L, Valladares A, Cameron E, Chan A, Perera A, Globus-Goldberg R, et al. Admixture in Mexico City: implications for admixture

mapping of Type 2 diabetes genetic risk factors. Hum Genet. 2007; 120: 807-819.

167. Meza R, Barrientos-Gutierrez T, Rojas-Martinez R, Reynoso-Noverón N, Palacio-Mejía L, Lazcano-Ponce E, et al. Burden of type 2 diabetes in Mexico: past, current and future prevalence and incidence rates. Preventive Medicine. 2015; 81. 445-450.

168. García-Chapa EG, Leal-Ugarte E, Peralta-Leal V, Durán-González J, Meza-Espinoza JP. Genetic Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexican Mestizos. BioMed Res Int. 2017; 10 pages.

169. Yamada Y, Matsuo H, Watanabe S, Kato K, Yajima K, Hibino T, et al. Association of a polymorphism of CYP3A4 with type 2 diabetes mellitus. Int J Mol Med. 2007; 20: 703-707.

170.

170. Gravel S, Chiasson JL, Turgeon J, Grangeon A, Michaud V. Modulation of CYP450 Activities in Patients with Type 2 diabetes. Clin Pharmacol Ther. 2019; 1-10.

171. NOM-015-SS2A1-1994. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria.
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/015ssa24.html>

172. Shintani M, Leiri I, Inoue K, Mamiya K, Ninomiya H, Tashiro N, et al. Genetic polymorphisms and functional characterization of the 5'-flanking region of the human CYP2C9 gene: in vitro and in vivo studies. Clin Pharmacol Ther. 2001; 70 (2): 175-182.

173. Toledo C, Ávila L, García S, Gómez H. Therapy adherence determinants and metabolic control in Type 2 Diabetes outpatients. *Rev Mex Cienc Farm.* 2008; 39 (4): 9-17.
173. Palacio-Vera G, Ascencia-Zarazua G, Cruz-León A, Guzmán-Priego C. Adherencia al tratamiento y conocimiento de la enfermedad en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Salud en Tabasco.* 2016; 22: 23-31.
174. García L, Villareal E, Galicia L, Martínez L, Vargas E. Costo de polifarmacia en el paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Chile.* 2015; 143: 606-611.
175. Hernández-Ávila M, Gutiérrez J, Reynoso-Noverón N. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *Salud Pública de México.* 2013; 55 (S2): S129-S135.
176. Barraza-Lloréns M, Guajardo-Barrón V, Picó J, García R, Hernández C, Mora F, et al. Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2015. México, D.F. Funsalud. 2015. 1ª ed. <http://funsalud.org.mx/portal/wp-content/uploads/2015/08/Carga-Economica-Diabetes-en-Mexico-2013.pdf>
177. Salas-Zapata L, Palacio-Mejía L, Aracena-Genao B, Hernández-Ávila J, Nieto-López E. Costos directos de las hospitalizaciones por diabetes mellitus en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Gaceta Sanitaria.* 2018; 28 (6):<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/9602/v28n6a02.pdf.sequence=1>.
178. Arredondo A, Aviles R. Costs and Epidemiological Changes of Chronic Diseases: Implications and Challenges for Health Systems. *PLOS ONE.* 2015; 10 (3): e0118611.doi: 10.137/journal.pone.0118611.

172. Durán-Vela B, Rivera-Chavarria B, Franco-Gallegos E. Apego al tratamiento farmacológico en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. *Salud Pública de México*. 2001; 43: 7.
174. Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas C, Rojas-Martínez R, Hernández-Ávila M. Diabetes mellitus tipo 2 y frecuencia de acciones para su prevención y control. *Salud Pública de México*. 2013; 55 (S2): S137-S143.
175. Degli L, Saragoni S, Buda S, Degli E. Clinical outcomes and health care costs combining metforming with sitagliptin or sulfphonylureas or thizolidinediones in uncontrolled type 2 diabetes patients. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2014; 6: 463-472.

APÉNDICE I

ARTÍCULO REQUISITO

OBTENCIÓN DEL

GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

Frequency of *CYP2C9* (*2, *3 and *IVS8-109A>T*) allelic variants, and their clinical implications, among Mexican patients with diabetes mellitus type 2 undergoing treatment with glibenclamide and metformin

PATRICIA CUAUTLE-RODRÍGUEZ^{1,2}, NIDIA RODRÍGUEZ-RIVERA¹, FERNANDO DE ANDRÉS³, FERNANDO CASTILLO-NÁJERA⁴, ADRIÁN LLERENA³ and JUAN ARCADIO MOLINA-GUARNEROS¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina and ²Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México; ³Centro de Investigación Clínica Área de Badajoz, SES Hospital Universitario, Universidad de Extremadura, Badajoz 06071, Spain; ⁴Centro de Salud T-III Portales, Servicios de Salud Gobierno de la Ciudad de México, Ciudad de México 03660, México

Received August 29, 2018; Accepted March 15, 2019

DOI: 10.3892/br.2019.1204

Abstract. The majority of Mexican patients with diabetes mellitus type 2 (DMT2) (67.9-85.0%) are prescribed sulphonylureas (SUs), which are metabolized by cytochrome P450 2C9 (abbreviated as *CYP2C9*). SUs are a type of oral anti-diabetic compound which inhibit ATP-sensitive potassium channels, thus inducing glucose-independent insulin release by the β -pancreatic cells. The wide variability reported in SU responses has been attributed to the polymorphisms of *CYP2C9*. The present study aimed to describe *CYP2C9* polymorphisms (*2, *3 and *IVS8-109T*) within a sample of Mexican patients with DMT2, while suggesting the potential clinical implications in terms of glibenclamide response variability. From a sample of 248 patients with DMT2 who initially consented to be studied, those ultimately included in the study were treated with glibenclamide (n=11), glibenclamide combined with metformin (n=112) or metformin (n=76), and were subsequently genotyped using a reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (PCR), end-point allelic discrimination and PCR amplifying enzymatic restriction fragment long polymorphism. Clinical data were gathered through medical record revision. The frequencies revealed were as follows: *CYP2C9**1/*1, 87.5%; *1/*2, 6.5%; *1/*3, 5.2%; and *CYP2C9*, *IVS8-109A>T*, 16.1%. Glibenclamide significantly reduced the level of pre-prandial glucose ($P<0.01$)

and the percentage of glycated hemoglobin (%HbA1c; $P<0.01$) for *IVS8-109A>T* compared with combined glibenclamide and metformin treatment. Concerning the various treatments with respect to the different genotypes, the percentages obtained were as follows: Glibenclamide A/A, HbA1c<6.5=33.3%; glibenclamide + metformin A/A, HbA1c<6.5=24.6%; glibenclamide A/T, HbA1c<6.5=33.3%; glibenclamide + metformin A/T, HbA1c<6.5=25%; glibenclamide T/T, HbA1c<6.5=100%; and glibenclamide + metformin T/T, HbA1c<6.5=12.5%. Altogether, these results revealed that, although genetically customized prescriptions remain a desirable goal to increase the chances of therapeutic success, within the studied population neither allelic variants nor dosages demonstrated a clear association with biomarker levels. A key limitation of the present study was the lack of ability to quantify either the plasma concentrations of SU or their metabolites; therefore, further, precise experimental and observational studies are required.

Introduction

Diabetes mellitus type 2 (DMT2) is a highly prevalent multifactorial and chronic disease characterized by hyperglycemia, insulin resistance, a decrease in β -cell levels and insulin secretion (1). It may also give rise to micro- and macro-vascular and neuropathic complications, including nephropathy, coronary artery disease, stroke, peripheral vascular disease, retinopathy and neuropathy (2). Globally, DMT2 is one of the most notable premature mortality risk factors, and it currently represents one of the most frequent causes of mortality globally (3). According to a 2017 official survey, this disease is the third most highly ranked cause of mortality in Mexico (15.15%) (4), a country that, since 2013, is ranked sixth highest in its prevalence of DMT2 of all countries and is projected to present 15.7 million cases by 2035 (5).

The incidence of DMT2 is closely associated with demographic and lifestyle factors (including obesity, aging and

Correspondence to: Dr Juan Arcadio Molina-Guarneros, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenue Universidad 3000, Ciudad de México 04510, México
E-mail: molina_ja2007@yahoo.com.mx

Key words: diabetes, glibenclamide, metformin, glycated hemoglobin A1c, cytochrome P450 2C9

physical inactivity), in addition to genetic factors, including polymorphisms encoding the inwardly rectifying potassium channel, Kir6.2 (6,7), insulin receptor substrate-1 (8,9) and the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene (10,11). Consequently, alterations in nutrition and exercise regimes constitute the first recommendations to patients diagnosed with DMT2 (12), although eventual pharmacological intervention is unavoidable. The most commonly employed (50-66% of all cases) treatment against DMT2 is based on oral hypoglycemic agents, predominantly sulphonylureas (SUs) (13). Although the Mexican Official Guide of good clinical practice recommends the use of metformin as the initial control drug (14), 67-85% of Mexican patients are treated with SUs (15,16). However, a great variability in drug disposition, glycemic response tolerability and the prevalence of adverse effects to these drugs have been reported. These drawbacks have been predominantly attributed to environmental, pathological and physiological factors, in addition to gene polymorphisms (1,17).

Therefore, pharmacogenomic analysis in association with glycated hemoglobin A1c (HbA1c) monitoring, considered to be the current gold standard for glycemic control, may be applied to individualize dosage regimens of these drugs (18). The gene for cytochrome P450 2C9 (*CYP2C9*) (55 kb) is situated on chromosome 10q23.33, and 60 allelic variants [single nucleotide polymorphisms (SNPs)] have been described within its exon 9-intron 8 structure (19). These variants account for ~40% of the interindividual and interethnic pharmacokinetic differences in responses to SUs (17,20-22). Nevertheless, controversy remains concerning the potential influence of *CYP2C9* polymorphisms (*2 and *3) on glibenclamide response variability, as the studies that have been performed were designed with different intended doses (23), pursued different objectives (hyperglycemic or hypoglycemic control) (19), analyzed different response markers (1,24) and even included cohorts of patients undergoing varied SU treatment (not glibenclamide alone) (13,24). Additionally, the intronic variant *IVS8-109T* (*CYP2C9*), which has only been reported among healthy volunteers from Asia (37.1-45.6%), Europe (31.8%) and Latin America (21.4% in Ecuadorians and 29% in Mexicans), has been associated with pharmacogenetic differences when *CYP2C9* substrates are administered to human subjects (25,26). However, to the best of our knowledge, its association with the pharmacokinetic and/or pharmacodynamic properties of SUs has yet to be analyzed; neither have the frequencies of these *CYP2C9* polymorphisms (*2, *3 and *IVS8-109T*) been previously studied among patients with DMT2 from Mexico, or from any other American population. Therefore, the aim of the present study was not only to describe these frequencies, in addition to their interindividual and interethnic differences, but also to determine the potential clinical implications in the variability of responses to the administration of glibenclamide among Mexican patients with DMT2.

Materials and methods

Study design and sample description (DMT2 patients). The present study is observational, not a clinical test. Sample collection and clinical record reviewing was accomplished within a

cohort of male (32.16%) and female (68.84%) patients (mean age: 62; age range: 49-71) with DMT2 undergoing medical treatment and monitored at first-level public healthcare centers in Mexico City between July 2014 and October 2016. The size of the sample was selected from two previous studies which identified alleles *2 and *3 (slow metabolizers) in a healthy Mexican-Mestizo population of Native American and Spanish heritage (27-29). Inclusion criteria required at least 3 months of pharmacological treatment in order to possess stationary plasmatic levels. HbA1c values were used to estimate the plasmatic glucose levels during the whole trimester prior to their determination. The present study focused on a first level health center where patients' files spanning anywhere from a semester to multiple years may be revised. Determining previous measurements would not have been achievable and the present study was only interested in verifying control over the last trimester. The glibenclamide group was not large; however, statistically the number of patients used was legitimately and properly applied. Glycemic control had been previously reported through measuring fasting glucose levels in the only two previous studies examining *CYP2C9* including glibenclamide-treated patients with DMT2 (20,21). None of them belonged to any Mexican populations, where control was reported through measuring fasting glucose levels (<110 mg/dl) and associated with *CYP2C9* through Xi2 in order to compare genotype frequencies between controlled and uncontrolled patients. Replication and confirmation of these studies is necessary, thus fasting glucose, HbA1c description and investigatory analysis were performed on a Mexican population. The present study took into account the analysis performed by Salam *et al* (21) to compare results from different studies. The participants used in the present study had been previously diagnosed with DMT2 according to World Health Organization and American Diabetes Association criteria (30). All patients were legal adults (18 years or older) with at least three generations of Mexican ancestry, and no kinship between them. Details of consent from the patients and ethical approval of the present study are detailed below.

CYP2C9 genotyping

Genomic DNA isolation. From 200 μ l of each patient's venous peripheral blood, genomic DNA was extracted using UltraClean® BloodSpin® DNA isolation reagents (Mo Bio Laboratories; Qiagen, Inc., Valencia, CA, USA).

***CYP2C9* alleles and genotype determination.** *CYP2C9**2, *3 and *6 analysis was performed using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) with TaqMan® primers (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) and allelic discrimination was performed using a Fast 7300 Real-Time system (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.). Reactions were performed in a final reaction volume of 10 μ l, with 30 ng genomic DNA template, 1X TaqMan® Universal PCR Master mix system (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.), 1X each probe (*CYP2C9**2: C_25625805_10; *CYP2C9**3: C_27104892_10 and *CYP2C9**6: C_32287221_20) and water. The following thermocycling conditions were applied: 10 min for initial denaturation at 95°C, followed by 40 denaturation cycles of 15 sec at 92°C and annealing at 60°C for 1 min. Allelic

Table I. Demographic, anthropometric, clinical, and habitual characteristics of Mexican patients with DMT2.

Characteristics	Pharmacological treatment (oral hypoglycemics)			P-value
	Glibenclamide (n=11, 5.53%)	Metformin (n=76, 38.19%)	Glibenclamide + Metformin (n=112, 56.28%)	
Age (years)	65.00±5.50	61.03±10.99	59.99±11.24	0.33
Weight (kg)	64.50 ^a [61.50-67.50]	71.80 ^a [60.51-73.60]	67.50 ^a [59.00-75.30]	0.53
Sex, n (%)				
Female	7 (63.60%)	57 (75.00%)	71 (65.10%)	0.54
Male	4 (36.40%)	19 (25.00%)	38 (34.90%)	0.67
DMT2 duration (years)	6.50 [2.00-11.00]	5.00 ^a [1.00-9.00]	8.00 ^a [2.00-13.00]	0.22
Body mass index	28.27 ^a [24.88-31.11]	29.39 ^a [22.36-33.20]	27.58 ^a [24.97-32.59]	0.14
Overweight (31)	4 (40.00%)	36 (47.40%)	35 (31.50%)	0.54
Obesity type				
I	4 (100.00%)	21 (58.30%)	26 (74.30%)	
II	0	8 (22.20%)	6 (17.10%)	
III	0	7 (19.40%)	3 (8.60%)	
Tobacco	0 (0 %)	10 (26.30%)	22 (33.80%)	0.63
Alcohol	0 (0 %)	11 (31.40%)	24 (38.10%)	0.81
Menopause	4 (36.40%)	17 (22.40%)	11 (10.10%)	0.74
Place of origin	Mexico City, Puebla, Veracruz	Mexico City, Chiapas, State of Mexico, Hidalgo, Michoacan, Oaxaca, Queretaro, Tlaxcala	Mexico City, State of Mexico, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala	

Data are expressed as mean ± standard deviation; ^a = median; [-] = IQR (interquartile range); n (%); P<0.05. DMT2, diabetes mellitus type 2.

discrimination was performed for 1 min at 60°C (real-time PCR genotyping by TaqMan Probes).

The *CYP2C9 IVS8-109A>T* intronic polymorphism (rs1934969) was analyzed using the PCR amplifying enzymatic restriction fragment long polymorphism (PCR-RFLP) method. PCR was performed on a Mastercycler® 384 (Eppendorf, Hamburg, Germany) to identify its presence. Amplification was performed in 25 µl reaction mixtures containing 0.5 U Eco-Taq polymerase (Ecogen SL, Barcelona, Spain), 0.8 µM of each primer (forward, 5'-CTGTTAAGATCTGATATTAGG-3'; and reverse, 5'-TGA AACATAGGAACTCTCCG-3') (26), 0.2 mM each deoxynucleoside triphosphate (set PCR grade; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), 2 mM MgCl₂ and 1 µl DNA template. The thermocycling conditions were as follows: 8 min of denaturation at 95°C, with 35 subsequent cycles of 95°C for 30 sec, 54°C for 30 sec and 72°C for 30 sec; and finally, an extension step of 7 min at 72°C was performed. This PCR reaction generated a fragment of 622 bp.

Subsequently, 20 µl restriction mix containing restriction buffer (New England BioLabs Inc., Ipswich, MA, USA; cat no. B7204S) and 10 U *Hinf*I restriction enzyme (New England BioLabs Inc.; cat no. RO155S) was added to the 2-µl PCR reaction, followed by overnight incubation at 37°C to ensure

that the digestion was complete. The PCR product was then analyzed directly via 2% agarose gel electrophoresis. DNA was subsequently visualized using ethidium bromide for 5-10 min at room temperature. *CYP2C9 IVS8-109T* alleles were cut into fragments of 468 and 154 bp, whereas the *CYP2C9 IVS8-109A* alleles were uncut (622 bp).

Clinical evaluation. Patients were recruited for the present study according to the following inclusion criteria: i) The patient was undergoing either glibenclamide or metformin treatment, or a combination of the two; ii) the patient had undergone a treatment schedule comprising a stable dose of these drugs for at least 3 months; iii) the precedents and treatment characteristics of each individual may be accessed via their medical record at the corresponding healthcare center, particularly data concerning drug dosage (including hypoglycemic agents) during the aforementioned 3-month period; and iv) the medical file comprised anthropometric parameters (31) and laboratory reports on a number of key biochemical variables (including HbA1c, fasting glucose levels, triglycerides and cholesterol).

The following exclusion criteria were taken into account: Chronic alcoholism, previous pancreatic pathology, renal failure, hypoglycemic treatment with insulin or insulin

Table II. Clinical and biochemical characteristics of Mexican patients with DMT2.

Characteristics	Pharmacological treatment (oral hypoglycemics)			P-value
	Glibenclamide (n=11, 5.53%)	Metformin (n=76, 38.19%)	Glibenclamide + Metformin (n=112, 56.28%)	
Daily hypoglycaemiant dosage (mg/day)	10.00 ^a [3.75-10.00]	1700 ^a [850-1750]	Glibenclamide: 15.00 ^{a,b} [10.00-15.00] Metformin: 2550 ^a [1700-2550]	<0.05 0.52
Daily hypoglycaemiant dosage [mg/Kg/day]	0.12 ^a [0.06-0.15]	34.14 ^a [20.42-36.11]	Glibenclamide: 0.18 ^{a,b} [0.13-0.23] Metformin: 32.44 ^a [24.55-39.26]	0.01
Comorbidities, n (%)	9 (81.80 %)	72 (94.70%)	96 (89.70%)	0.62
DMT2 complications n (%)				
Nephropathy	0 (0.00%)	1 (1.32%)	6 (5.50%)	
Retinopathy	0 (0.00%)	1 (1.32%)	2 (1.83%)	
Neuropathy	2 (18.20%)	1 (1.32%)	5 (4.59%)	
Diabetic foot, amputations	1 (9.10%)	0 (0.00%)	1 (0.92%)	
Peripheral vascular diseases	0 (0.00%)	5.16 (21.05%)	20 (18.35%)	
Cardiopathies	0 (0.00%)	6.4 (5.26%)	4 (3.67%)	
Polytherapy, n (%)	10 (90.91%)	67 (88.16%)	109 (100.00%)	0.33
CYP2C9 substrates, n (%)	5 (45.45%)	36 (47.37%)	50 (45.87%)	0.86
CYP2C9 inhibitors, n (%)	9 (81.82%)	41 (53.95%) ^b	51 (46.79%)	0.01
Systolic tension, (mmHg)	110.00 ^a [110-120]	110.00 ^a [110-130]	120.00 ^a [110-130]	0.12
Diastolic tension, (mmHg)	80.00 ^a [70-80]	70.00 ^a [60-80]	80.00 ^a [70-80]	0.86
Haemoglobin, % A1c	6.50 ^a [5.65-6.90]	7.20 ^a [5.96-7.80]	7.70 ^{a,b} [6.75-9.10]	0.01
Fasting glucose, (mg/dl)	127.90 ^a [97.50-149.77]	141.30 ^a [91.50-165.60]	148.00 ^{a,b} [139.87-175.00]	0.03
Cholesterol, (mg/dl)	212.00 ^a [200.40-212.00]	196.00 ^a [189.00-232.00]	188.00 ^a [167.82-212.86]	0.12
Triglycerides, (mg/dl)	238.00 ^a [200-250]	225.00 ^a [185-280]	175.00 ^a [136-225]	0.05

Values expressed as mean $\pm$ sd; ^a = median; [-] = IQR (Interquartile Range); n (%); ^bP<0.05.

analogs, insufficient medical records, DMT1 and voluntary withdrawal.

A database was created to retrieve and analyze the information on the 199 patients included in the study. File revision was performed through random probabilistic sampling.

All patients who agreed to voluntarily be involved in the present study provided written informed consent. The research protocol was ethically approved by the National University of Mexico Faculty of Medicine Research and Ethics Commission, and the study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research involving human subjects.

A database of the collected clinical and biochemical data was compiled that also included each patient's file. Files were

thoroughly reviewed in accordance with the study's inclusion and exclusion criteria.

Patients were subsequently grouped in accordance with the designated hypoglycemic agent used for treatment: A glibenclamide group (G); a glibenclamide + metformin group (G+M); and a metformin group (M; the control group).

Statistical analysis. Variables whose distribution was either regular (Shapiro) or homogenous (Levene) were presented as the mean $\pm$ standard deviation, while those variables whose distribution was not normal were described as median and interquartile range. CYP2C9 genotypes were studied on the basis of the following characteristics: i) Dosage [in terms of: a) Daily dose; b) daily dose adjusted to body weight; and

c) the most frequent dosage (5, 10 and 15 mg glibenclamide)]; ii) fasting glucose [concentration (mg/dl) and glycemic control (<110 mg/dl)]; iii) HbA1c [% HbA1c and glycemic control (<7%)]; iv) hypoglycemic event association (fasting glucose <70 mg/dl); v) number of hypoglycemic events (with a fasting level <70 mg/dl); and vi) the metabolic interaction of glibenclamide with *CYP2C9* substrates, inhibitors and inducers.

Comparisons were made using a one-way analysis of variance for the aforementioned variables, upon examination of these parameters. For those variables not following a normal distribution, the median values were determined and compared using a Kruskal-Wallis test. Categorical variables were compared using a χ^2 test. Statistical analyses were performed using SPSS IBM version 24 software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Results

At the outset, 248 individuals consented to be studied, out of which 199 were clinically analyzed following the application of the exclusion criteria. No significant differences were identified between the treatment groups in terms of their characteristics, as presented in Table I. Within each patient group, women outnumbered men by a factor of 2:1. The disease duration was revealed to be 1.5 years longer in the G + M group compared with the G group. The overweight/obese I condition (31) was more prevalent within the G group, which was also associated with a larger number of menopausal patients. Nevertheless, no significant differences were identified (Table I).

Response biomarker values at stationary states (at least 3 months under the same dosage) were obtained. To account for different prescription periods (8, 12 or 24 h), the total glibenclamide intake (every milligram) over a period of 24 h was used for the estimation (as certain patients were prescribed 5 mg every 8 h, making their total daily dose 15 mg; while others were administered 5 mg every 12 h, for a total of 10 mg per 24 h).

The G group received a significantly lower dose of glibenclamide compared with the G + M group ($P<0.05$), and a similar level of difference was observed following adjustment for body weight dosage. Furthermore, a number of other DMT2-associated comorbidities, including peripheral vascular diseases, were present within the G + M group. On the other hand, the G group received double the dosage of *CYP2C9* inhibitors compared with the G + M group (81.82 compared with 46.79%; $P<0.05$).

Measurement of the HbA1c level was germane to the present study, as it primarily identifies the median and interquartile plasma glucose concentration over prolonged periods of time, additionally serving as a marker for mean blood glucose levels over the months prior to measurement (18). These levels should be maintained at <7%, according to the guidelines for DMT2 management as released by the American Diabetes Association in 2009 (18). In this respect, the G group presented a lower HbA1c (6.50 vs. 7.70%; $P<0.05$), and lower fasting glucose levels (127.90 vs. 148.00 mg/dl, $P<0.05$) compared with the G + M group. Triglycerides reported no significant differences ($P=0.05$; Table II).

CYP2C9 (*2, *3 and *IVS8-109A>T*) allelic and genotypic frequencies among Mexican patients with DMT2. The most

Table III. *CYP2C9* genotypic and allelic frequencies calculated among the studied Mexican patients with DMT2.

*2, *3, and <i>IVS8-109A>T</i> <i>CYP2C9</i> polymorphisms		
Genotype	Frequency	N
*1/*1	0.875	217
*1/*2	0.065	16
*2/*2	0.004	1
*1/*3	0.052	13
*2/*3	0.004	1
<i>IVS8-109A>T</i>		
A/A	0.714	177
A/T	0.250	62
T/T	0.036	9
<i>CYP2C9</i> ALLELES		
*1	0.933	463
*2	0.038	19
*3	0.028	14
<i>IVS8-109A>T</i>		
A	0.839	416
T	0.161	80

All of the alleles were on Hardy-Weinberg equilibrium (χ^2 , $P<0.05$). *CYP2C9*, cytochrome P450 2C9.

frequent variant among the 248 patients genotyped was *1/*1 (87.5%), followed by *1/*2 (6.5%) and finally *1/*3 (5.2%). Regarding the *IVS8-109A>T* variants, the most prevalent genotype was AA homozygous (71.4%), followed by AT heterozygous (25.0%), whereas the TT homozygous genotype was substantially less frequent (3.6%). Allele A had a prevalence of 83.9%, whereas that of the T allele was reported to be only 16.1% (Table III).

*CYP2C9**6 was unsuccessfully tracked within the 248 available samples of Mexican patients with DMT2. Allele *6 is a deletion of a pair of bases in position 818, which produces a premature stop codon and codifies an inactive truncate protein. Its frequency is low among the majority of populations (25).

*Comparison of CYP2C9 (*2 and *3) allelic and genotypic frequencies between patients with DMT2 and healthy volunteers.* Differences between the drug response genes of healthy and diseased populations have been established (regarding efficacy or adverse reactions) (29). In the present study, there were significant differences between the Mestizo patients with DMT2 and healthy individuals from the Mexican population regarding *1/*2 ($P<0.05$) (data not shown) and the distribution of variants *2 and *3; but there were also differences with respect to other Caucasian, Asian and Latin American populations regarding *IVS8-109T*, as its association with either slow or rapid *CYP2C9* metabolism remains unclear. Reports from healthy Swedish populations (25) consider its carriers to be lower rate metabolizers, whereas studies on Ecuadorians

Table IV. CYP2C9 genotypic and allelic frequencies found in samples of patients with DMT2 worldwide.

Reference	Geographic region	Country	N	CYP2C9 genotype and allele distribution among DMT2 patients							
				*I/*I (n)	*I/*2 (n)	*2/*2 (n)	*2/*3 (n)	*I/*3 (n)	*3/*3 (n)	*I	*2
Holstein <i>et al</i> (32)	Europe	Germany	357	0.66 (237)	0.18 (66) ^a	0.014 (5) ^a	0.017 (6) ^a	0.110 (40) ^a	0.008 (3)	0.81	0.11 ^a
Holstein <i>et al</i> (33)			540	0.65 (353)	0.18 (95) ^a	0.011 (6) ^a	0.015 (8) ^a	0.130 (72) ^a	0.011 (6)	0.81	0.11 ^a
Becker <i>et al</i> (34)		Holland	475	0.68 (321)	0.19 (92) ^a	0.023 (11) ^a	0.013 (6) ^a	0.090 (43) ^a	0.004 (2)	0.82	0.13 ^a
Zhou <i>et al</i> (35)		Scotland	1,073	0.63 (678)	0.21 (221) ^a	0.020 (22) ^a	0.020 (22) ^a	0.120 (125) ^a	0.005 (5)	0.79	0.13 ^a
Klen <i>et al</i> (36)		Slovenia	156	0.61 (96)	0.19 (30) ^a	0.017 (3) ^a	0.034 (6) ^a	0.120 (21) ^a		0.78	0.13 ^a
Ragia <i>et al</i> (37)	Asia	Greece	176	0.68 (120)	0.24 (43) ^a	0.006 (1)	0.006 (1)	0.060 (11)		0.83	0.13 ^a
Hohendorff <i>et al</i> (38)		Poland	502	0.80 (402)	0.19 (94) ^a	0.012 (6) ^a				0.90	0.11 ^a
Bhatt <i>et al</i> (39)		India	109	0.73 (80)	0.08 (9)		0.050 (6) ^a	0.130 (14) ^a		0.84	0.07
Surendiran <i>et al</i> (20)		India	80	0.81 (65)				0.190 (15) ^a		0.91	0.090 ^a
Zeng <i>et al</i> (40)		China	746	0.90 (672)				0.093 (72) ^a	0.007 (5)	0.95	0.050
Suzuki <i>et al</i> (41)	Africa	Japan	134	0.98 (132)				0.015 (2) ^a		0.99	0.075 ^a
Salam <i>et al</i> (21)		Egypt	100	0.53 (53)	0.20 (20) ^a		0.090 (9) ^a	0.180 (18) ^a		0.7	0.15 ^a
	America	Mexico	248	0.87 (217)	0.06 (16)	0.004 (1)	0.004 (1)	0.050 (13)		0.93	0.04

Values are expressed as (%); ^aP<0.05. DMT2, diabetes mellitus type 2; CYP2C9, cytochrome P450 2C9.

Table V. *CYP2C9* (*IVS8-109A>T*) genotypic and allelic frequencies within samples of healthy volunteers and patients with DMT2 from different regions of the world.

Reference	Geographic region	Country	N	<i>CYP2C9</i> (<i>IVS8-109A>T</i>) genotype and allele distribution among healthy volunteers				
				A/A (n)	A/T (n)	T/T (n)	A (n)	T (n)
Hatta <i>et al</i> (25)	Europe	Sweden	85	0.494 (42)	0.376 (32) ^a	0.129 (11) ^a	0.682 (116) ^a	0.318 (54) ^a
Maekawa <i>et al</i> (46)	Asia	Japan	263	0.285 (75)	0.517 (136) ^a	0.198 (52) ^a	0.544 (286) ^a	0.456 (240) ^a
Lee <i>et al</i> (47)		Korea	50	0.340 (17)	0.480 (24) ^a	0.180 (9) ^a	0.580 (58) ^a	0.420 (42) ^a
Hatta <i>et al</i> (25)		Korea	128	0.406 (52)	0.445 (57) ^a	0.148 (19) ^a	0.629 (161) ^a	0.371 (95) ^a
Dorado <i>et al</i> (26)	Americas	Ecuador	187	0.615 (115)	0.342 (64) ^a	0.043 (8) ^a	0.786 (294) ^a	0.214 (80) ^a
Ortega-Vázquez <i>et al</i> (29)		Mexico	300	0.500 (150)	0.430 (128) ^a	0.070 (22) ^a	0.710 (428) ^a	0.290 (172) ^a
DMT2 Mexican-Mestizo patients								
		Mexico DMT2	248	0.714 (177)	0.250 (62)	0.036 (9)	0.839 (416)	0.161 (80)

Values are expressed as (%); ^aP<0.05.

regard them to possess an increased *CYP2C9* hydroxylation capacity (26). When comparing the frequency of variant **1/*2* in the Mexican population from the present study with those from other regions of the world identified in previous studies, significant differences were identified respect to Europe (0.06 vs. 0.18-0.24; P<0.05) and Africa (0.06 vs. 0.20; P<0.05), but not respect to India (21,32-38). As for **1/*3*, statistical differences were identified in the Mexican population when compared with European countries (32-38), India (39), China (40), Japan (41) and Egypt (21) (P<0.05; Table IV).

A statistical comparison revealed that the frequency of *CYP2C9*1/*2* was, overall, 50% lower amongst patients with DMT2 compared with healthy individuals (6.5 vs. 9-16%; P<0.05) (data not shown) (42-45), whereas *CYP2C9*2/*2* was 40% lower amongst the patients with DMT2 compared with healthy volunteers from northern Mexico (0.04 vs. 1.0%; P<0.05) (data not shown) (42-45). *CYP2C9*1/*3* was significantly different only amongst populations from Sonora, Mexico City and Guerrero (5 vs. 10%, 1% and 10%; P<0.05) (29,42-46) (data not shown).

IVS8-109T has already been observed amongst healthy volunteers, where it displays substantial interethnic variability (25). When comparing *IVS8-109A>T* variants from the studied Mexican patients with DMT2 with healthy individuals from different countries, including Sweden (25), Japan (46), Korea (25,47), Ecuador (26) and Mexico (29) itself, statistically significant differences were identified regarding the frequencies of A/T and T/T, and the prevalence of the alleles A and T in every case (P<0.05; Table V).

Genotype **1/*1* was observed in 90.91% of the G group (n=10), in 86.61% of the G + M group (n=97) and 90.79% of the M group (n=70). However, **1/*2* was absent in the patients receiving glibenclamide monotherapy, whereas it was present in 8.02% of the G + M group, and in 2.63% of the M group. Statistically significant differences were observed between the monotherapy and combined therapy groups regarding the prevalence of T/T (9.09 vs. 2.68%; P<0.05), and the allele T variants (22.73 vs. 15.00%; P<0.05; Table VI).

Table VII presents the glibenclamide dosage values, including the median and interquartile daily dose and body weight adjustment, for each of the *IVS8-109A>T* allelic variants amongst the Mexican patients with DMT2, where, compared to G group, a significant difference (P<0.05) favoring the G + M group was observed with respect to A/A (15 vs. 10 mg) and A/T (13.75 vs. 2.50 mg). *IVS8-109A>T* has been only identified among *CYP2C9*1* carriers. This indicates that *CYP2C9*1/*1* allows the possibility of AA, AT and TT, while *CYP2C9*1/*2* and **1/*3* have either one A or T allele. Until now, only *CYP2C9*2* and **3* frequencies have been reported among patients with DMT2 (20,23,35-37,39,40). *IVS8-109A>T* frequencies remain unreported (let alone the potential combinations). Note that Table VII displays the data for 97 patients, since the data contained therein corresponded only to *CYP2C9*1/*1* patients who may be *IVS8-109A>T* carriers.

Regarding the biomarkers (including fasting glucose and Hb1Ac levels), lower values were identified for the G group compared with the G + M group (Table VIII). In particular, lower fasting glucose levels were identified among A/A carriers (127.65 mg/dl), compared with 160.34 mg/dl calculated for

Table VI. CYP2C9 genotypes found in DMT2 patients undergoing glibenclamide and/or metformin pharmacological treatment.

CYP2C9 genotypes and alleles	Pharmacological treatment (oral hypoglycemics)		
	Glibenclamide (n=11, 5.53%)	Metformin (n=76, 38.19%)	Glibenclamide + Metformin (n=112, 56.28%)
*1/*1, n (%)	10 (90.91%)	70 (90.79%)	97 (86.61%)
*1/*2, n (%)	0 (0.00%)	2 (2.63%) ^a	9 (8.02%) ^a
*1/*3, n (%)	1 (9.09%)	3 (3.95%)	5 (4.46%) ^a
*2/*2, n (%)	0 (0.00%)	1 (1.32%)	0 (0.00%)
*2/*3, n (%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (0.90%)
*1, n (%)	21 (95.45%)	138 (90.79%)	104 (92.90%)
*2, n (%)	0 (0.00%)	4 (2.63%)	5 (4.50%) ^a
*3, n (%)	1 (4.54%)	3 (1.97%)	3 (2.70%) ^a
IVS8-109A>T,			
A/A, n (%)	7 (63.64%)	48 (63.16%)	84 (75.00%)
A/T, n (%)	3 (27.27%)	23 (30.26%)	23 (20.54%)
T/T, n (%)	1 (9.09%)	4 (5.26%)	4 (1.89%) ^a
A, n (%)	17 (77.27%)	119 (78.29%)	180 (85.00%)
T, n (%)	5 (22.73%)	31 (20.39%)	32 (15.00%) ^a

Data are expressed as n (%); ^aP<0.05. CYP2C9, cytochrome P450 2C9.

Table VII. Daily glibenclamide dosage stratified in accordance with IVS8-109A>T (CYP2C9) genotypes determined in the present study.

Oral hypoglycemicant	Glibenclamide daily dosage (mg) and dosage/body weight (mg/kg)		
	CYP2C9 (IVS8-109A>T) genotypes		
	A/A (n)	A/T (n)	T/T (n)
Glibenclamide (n=10)	10.000 (6) ^a [5.500-15.000] 0.148 (6) ^a [0.110-0.190]	2.500 (3) ^a [2.500-3.750] ^b 0.039 (3) ^a [0.038-0.062] ^b	10.000 (1) ^a 0.148 (1) ^a
Glibenclamide (glibenclamide/ metformin group) (n=97)	15.000 (74) ^a [10.000-15.000] ^c 0.193 (74) ^a [0.130-0.230]	13.750 (20) ^a [10.000-15.000] ^c 0.170 (20) ^a [0.130-0.260] ^c	15.000 (3) ^a [12.500-15.000] 0.180 (3) ^a [0.140-0.240]
Metformin (glibenclamide/metformin group) (n=97)	1,700 (74) ^a [1,275-2,550] 27.370 (74) ^a [19.140-37.780]	1,700 (20) ^a [850-2,550] 31.870 (20) ^a [20.860-36.960]	2,550 (3) ^a [1,275-2,550] 31.480 (3) ^a [18.050-39.790]

Data are expressed as ^a = median; [-] = IQR (interquartile range); n, number of individuals; ^bP<0.05 (genotypes); ^cP<0.05 (oral hypoglycemicant). CYP2C9, cytochrome P450 2C9.

G + M treatment. Among A/T carriers, a value of 107.67 mg/dl was calculated for the G group, whereas 149.97 mg/dl was determined for the G + M group. Lower HbA1c values (5.68%) were identified among A/A carriers within the G group compared with among A/A homozygous individuals from the G + M group (8.03%). For A/T carriers, a value of

6.67% for HbA1c was calculated for the G group, whereas an HbA1c value of 8.11% was identified for the G + M group. Nevertheless, no significant differences were observed for any of the comparisons.

Pharmacogenetic studies aim to identify response variability in order to: i) Reduce adverse effects, whether caused

Table VIII. Glibenclamide response variability among Mexican patients with DMT2 according to *CYP2C9* polymorphisms (*2, *3 and IVS8-109A>T).

Fasting glucose (mg/dl) and glycemic control (<110 mg/dl)								
<i>CYP2C9</i> genotypes								
Oral hypoglycemic (n)	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)			*1/*3 (n)	
	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/*A
Glibenclamide (n=11)	127.65 (6) ^a [103.42-151.88]	107.67 (3) ^a [71.86-143.48]	121.00 (1) ^a				249.00 (1) ^a	
Glibenclamide/metformin (n=112)	33.33% (2)	66.67% (2) ^b					0.00% (0) ^a	
	160.34 (74) ^a [94.61-226.07]	149.97 (20) ^a [88.06-211.88]	130.41 (3) ^a [103.61-157.20]	139.56 (7) ^a [107.74-171.37]	174.58 (2) ^a [103.97-245.20]		169.12 (4) ^a [87.50-250.80]	124.00 (1) ^a
	18.00% (13)	25.00% (5)	0.00% (0) ^b	14.29% (1)	0.00% (0) ^b		50.00% (2) ^b	0.00% (0)
HbA1c (%) and glycemic control (HbA1c<6.5%)								
<i>CYP2C9</i> genotypes								
Oral hypoglycemic (n)	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)			*1/*3 (n)	
	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/T	*T/T	*A/*A	*A/*A
Glibenclamide (n=11)	5.68 (6) ^a [2.81-8.55]	6.67 (3) ^a [5.82-7.52]	6.40 (1) ^a				6.20 (1) ^a	
Glibenclamide/metformin (n=112)	33.33% (2)	33.33% (1)	100.00% (1)				100.00% (1)	
	8.03 (74) ^a [5.71-10.34]	8.11 (20) ^a [5.68-10.55]	9.07 (3) ^a [5.86-12.29]	8.17 (7) ^a [6.93-9.40]	8.46 (2) ^a [7.71-9.22]		8.82 (4) ^a [5.81-11.83]	6.10 (1) ^a
	24.64% (18)	25.00% (5)	12.50% (1) ^b	0.00% (0) ^b	0.00% (0) ^b		25.00% (1)	100.00% (1)

Values are expressed as ^a = median; IQR [-] = interquartile range; n, number of individuals; ^bP<0.05 (genotypes). *CYP2C9*, cytochrome P450 2C9.

by polymorphism influence over drug metabolising enzymes, transporters or receptors; and ii) enhance treatment efficacy through dosage adjustment and interaction prevention. In the present study, it was revealed that not every patient was receiving the same dose and this may result in a false positive response. Group comparison highlighted the difference between monotherapy and combined therapy. Genotyping also reported improved glycemic control among *AT (IVS8-109)* patients. Since physicians empirically adjust dosages with respect to biomarkers, the present study suggests they may have prescribed a lower dose for *AT (IVS8-109)* patients as a result of biomarker control observations, even without knowing genetic factors (including SNPs).

Hypoglycemic events were revealed to be rather uncommon. Only within the G + M group was a significant difference observed ($P < 0.05$) among $*1/*3$ bearers (intragroup difference, where 40% of these patients reported this reaction (data not shown)).

Variability in the response and glycemic control were evident when comparisons between the various DMT2 populations were made. For example, lower fasting glucose levels were reported for Mexican $*1/*1$ bearers from the G group compared with those from Egypt (156.8 vs. 170 mg/dl); similarly, $*1/*2$ bearers within the same groups also reported lower levels compared with the same aforementioned populations (137.4 vs. 150 mg/dl; data not shown).

Discussion

The present study is, to the best of our knowledge, the first to describe the main allelic frequencies of *CYP2C9* ($*2$, $*3$ and *IVS8-109T*) among Mexican-Mestizo patients with DMT2. It is also the first report on any Mestizo population globally. Considering the widely heterogeneous ethnic background of Mexican populations (which comprise >65 groups) (48), ideally, it should be only the first of numerous subsequent studies on the influence of this particular genetic heritage in response to SUs.

IVS8-109T was identified in 16.1% of the Mexican patients analyzed in the present study. The effect of this polymorphism on the function of *CYP2C9* has been observed in healthy individuals from Sweden and Ecuador (25,26). With regard to *CYP2C9* $*1/*1$ subjects, contradictory results were observed: A slower rate of metabolism was reported for the subjects (25), whereas the rate of metabolism associated with this genotype was higher in Ecuadorians (26). The three variants were identified in almost one-quarter of the sample population examined in the present study (22.7%).

The *CYP2C9* allele and genotype frequencies described in the present study were compared with those reported by Fricke-Galindo *et al* (49) and Saldaña-Cruz *et al* (45), whose studies involved healthy volunteers from different regions of Mexico. The results of the present study revealed that *CYP2C9* is significantly widely variable between patients from Mexico ($P < 0.05$), a phenomenon that was also observed among the healthy volunteers. These genetic factors differ among populations, and therefore they affect the enzymatic functioning of *CYP2C9* in different manners.

The frequency of *CYP2C9* $*3$ was revealed to be low among healthy volunteers from Mexico City, and significantly

different compared with those of patients with DMT2 (0.1 vs. 3.0%; $P < 0.05$). This difference, however, disappeared subsequent to regional adjustment, where healthy volunteers from northern Mexico were reported to have the highest prevalence of *CYP2C9* $*2$; additionally, this was the only group where a significant difference with respect to patients with DMT2 was identified (10 vs. 4%; $P < 0.05$).

IVS8-109T was identified in 16.1% of the present sample. This variant had not been described previously in any study on DMT2 populations. Only recently was it observed in healthy volunteers ($n=300$) and patients with epilepsy ($n=64$), where the T allele was less prevalent among the latter (29 vs. 19%; $P=0.02$) (29).

In addition to the observed variability regarding *CYP2C9* $*2$ and *CYP2C9* $*3$, the frequency of *IVS8-109A>T* was ~50% lower when compared with healthy individuals (16.10 vs. 29.00%; $P < 0.05$), suggesting that the T allele may be a relevant factor whose function should be clarified, also considering that its effect on *CYP2C9* substrate metabolism has yet to be elucidated.

The first stage of the present study described the variability and substantial diversity of the distribution of *CYP2C9* within samples from Mexican patients with DMT2 and those from other populations; however, the effect of this genetic factor accounts for only 40% of the glibenclamide response variability (17), and it has only been studied in two other populations (20,21). The function of these polymorphisms in differential glibenclamide dosages, their effect on the variability of the response monitored by HbA1c (considered to be the main efficacy biomarker in the present study) and also on the most relevant adverse glibenclamide reaction (including hypoglycemia), have yet to be reported.

To the best of our knowledge, no studies have yet been published on the functional association of *CYP2C9* polymorphisms with glibenclamide, or with any other tested drug in a healthy Mexican population. Neither has such an association been studied in patients with DMT2 undergoing glibenclamide treatment; nor has the HbA1c biomarker been investigated. Likewise, non-genetic factors (including sex, obesity, menopause or diagnostic period) have yet to be examined. These may be affected by the disease, and may also exert an impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glibenclamide due to changes in drug absorption caused by blood flow reduction (in the subcutaneous and muscular tissue), particularly in obese patients (ampicillin absorption reduced by 26%, in contrast with metoclopramide and glipizide) (50-56).

The available information on healthy individuals may differ from the observations of patients with DMT2, in a similar manner to the interaction between genetic, environmental and pathophysiological factors. Therefore, performing studies on the influence of *CYP2C9* polymorphisms among DMT2 samples from different populations (including Mexican populations) is a necessity.

The dosage is clearly a relevant factor to be considered, as previous studies have reported a positive significant association between the daily dose administered of glibenclamide and HbA1c levels ($P < 0.0001$), although this association was not observed in the case of fasting glucose (57-59). In the present study, patients receiving glibenclamide were not prescribed

>7 mg, whereas those receiving glibenclamide and metformin in combination received doses >10 mg, a factor which, combined with the different *CYP2C9* genotypes, may affect the drug response of the patients. Nevertheless, metformin is well tolerated by the majority of patients, and it functions by inhibiting excessive hepatic glucose production (gluconeogenesis), subsequently reducing intestinal glucose absorption and fasting glycemia, and thereby improving insulin sensitivity and peripheral glucose uptake and utilization (60). A couple of published studies have also reported a negative significant association between daily dosage and serum insulin levels ($P=0.03$) (56-58), in addition to a significant association between daily dosage and stationary levels of active glibenclamide metabolites M1 (4-trans-hydroxyglibenclamide) and M2 (3-cis-hydroxy-glibenclamide).

In comparison, opposite results amongst biomarkers were identified. *CYP2C9**1/*3 and *CYP2C9**1/*1 genotypes were revealed to have no significant differences in terms of fasting glucose levels, whereas HbA1c levels were more closely regulated among *3 heterozygous individuals. Contrasting biomarker results were also reported for *IVS8-109T*, as fasting glucose levels were better regulated among the *AT* genotype, whereas no significant differences regarding HbA1c levels were otherwise identified.

These different factors, considered together with polymorphisms, indicate that it is necessary for heterogeneous dosages to be administered to individual patients, regardless of whether or not they belong to the same population. For example, 20% of patients with DMT2 receiving treatment with SUs experience hypoglycemic events (glucose level <70 mg/ml), whereas DMT2 treatment efficacy is achieved in only 57% of all cases, and the percentage non-adherence rate to treatment may reach 32.5% (24, 59-64).

DMT2 is a major public health concern in Mexico as well as globally. Not only is this due to its high prevalence (11.5 million patients) (16), but it is also due to the low adherence rates for pharmacological treatment (53-80%). These rates may be associated with adverse reactions (hypoglycemia) and therapeutic failure. As far as the latter is concerned, it is also licit to attribute the low adherence rates to an absence of glycemic control, in spite of the pharmacological treatment (a range of 18-75% for HbA1c) (15,65-69). These factors substantially contribute to increasing costs for individuals, communities, and the State in terms of money, quality of life, and lives themselves (61,62,67-70).

As this is an observational study, the number of patients was not able to be modified. The patients were selected from a cohort from healthcare centers in Mexico City using simple random probabilistic sampling. The treating physicians freely determined which drug each patient should receive according to their clinical condition. To avoid bias, the patients were blinded to the genotyping results. All data were obtained from clinical files. A single person collected both the hand written records from physicians and laboratory results.

Altogether, the following points may be concluded on the basis of the present study: i) Genetically customized prescriptions remain a desirable goal to increase the chances of therapeutic success; ii) in the light of the results of the present study, the results regarding the association between *CYP2C9* polymorphisms and SU metabolism appear

insufficient to explain the precarious DMT2 control levels achieved through pharmacological treatment in the studied population; and iii) neither allelic variants nor dosages are able to delineate a clear association with biomarker levels. In consequence, it is necessary to perform further studies to investigate these issues, given that *CYP2C9* and its main allelic frequencies have already been genotyped with respect to the prescription of SUs in Mexico (either as monotherapies or as combined drugs). This information would be relevant for physicians in order to improve their patient treatment strategies, working towards the goal of personalizing medicine. Determining the plasma concentrations of these aforementioned drugs may help to establish potential efficacy or failure associations in the population studied in the present study, and further experiments are already being performed in this regard.

Acknowledgements

In Memoriam Dr Juan J. Mandoki Weitzner (1923-2018), Dean of the Department of Pharmacology, UNAM Faculty of Medicine, brilliant scientist, extraordinary and generous teacher, and dearest friend. The authors would like to thank Dr Isaac González Romero (Centro de Salud Portales), Dr Mario Alberto Tinoco Centeno and Mr. José Antonio Rojas (Centro de Salud Mixcoac) for providing their technical expertise for sample collection.

Funding

The present study was conducted as part of the Universidad Nacional Autónoma de México Biological Sciences PhD Postgraduate Academic Programme and was supported by the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (project nos. IN218216 and IN203418) of the Dirección General de Apoyo a Personal Académico and the special professorship awarded to Dr Aniceto Orantes Suárez by the Faculty of Medicine Council, Universidad Nacional Autónoma de México. The present study was also supported by Junta de Extremadura, Agencia Extremeña de Cooperación Internacional para el Desarrollo, Spain (grant nos. PATLI and 18IA003) to RIBEF/SIFF (Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica, www.ribeff.org).

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Authors' contributions

PCR, NRR, FDA, FCN, AL and JAMG provided substantial contributions to the conception or design of the work. PCR, NRR, FDA, FCN, AL and JAMG contributed to the acquisition, analysis and interpretation of data of the work. PCR, FDA, AL and JAMG drafted the study. PCR, NRR, FDA, AL and JAMG revised the paper critically for important intellectual content. JAMG had primary responsibility for communication with the journal during the manuscript submission. All authors approved the final version to be published.

Ethics approval and consent to participate

The research protocol was ethically approved by National University of Mexico Faculty of Medicine Research and Ethics Commission, and the present study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research involving human subjects.

Patient consent for publication

All patients who agreed to voluntarily be involved in the present study provided written informed consent. No identifying information, including names, initials, date of birth or hospital numbers, images or statements are included in the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

References

- Loganadan NK, Huri HZ, Vethakkan SR and Hussein Z: Genetic markers predicting sulphonylurea treatment outcomes in type 2 diabetes patients: Current evidence and challenges for clinical implementation. *Pharmacogenomics J* 16: 209-219, 2016.
- Fowler JM: Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clin Diabetes* 26: 77-82, 2008.
- World Health Organization (WHO): The top 10 causes of death. WHO, Geneva, 2019. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Accessed March 1, 2019.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI): Mortalidad. Conjunto de datos: Mortalidad General. INEGI, Aguascalientes, 2019. https://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/consulta/general_ver4/MDXQueryDatos.asp?#Regreso&c=11144. Accessed March 1, 2019.
- Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U and Shaw JE: Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 103: 137-149, 2014.
- He YY, Zhang R, Shao XY, Hu C, Wang CR, Lu JX, Bao YQ, Jia WP and Xiang KS: Association of KCNJ11 and ABCC8 genetic polymorphisms with response to repaglinide in Chinese diabetic patients. *Acta Pharmacol Sin* 29: 983-989, 2008.
- Javorsky M, Klimcakova L, Schroner Z, Zidzik J, Babjakova E, Fabianova M, Kozarova M, Tkacova R, Salagovic J and Tkac I: KCNJ11 gene E23K variant and therapeutic response to sulphonylureas. *Eur J Intern Med* 23: 245-249, 2012.
- Zhao H, Liu S, Long M, Peng L, Deng H and You Y: Arg972 insulin receptor substrate-1 polymorphism and risk and severity of rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* 19: 141-145, 2016.
- Huri HZ, Makmor-Bakry M, Hashim R, Mustafa N and Wan Ngah WZ: Optimisation of glycaemic control during episodes of severe/acute hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Clin Pharm* 34: 863-870, 2012.
- Kang ES, Park SY, Kim HJ, Kim CS, Ahn CW, Cha BS, Lim SK, Nam CM and Lee HC: Effects of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes. *Clin Pharmacol Ther* 78: 202-208, 2005.
- Hsieh MC, Lin KD, Tien KJ, Tu ST, Hsiao JY, Chang SJ, Lin SR, Shing SJ and Chen HC: Common polymorphisms of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (Pro12Ala) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 (Gly482Ser) and the response to pioglitazone in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 59: 1139-1144, 2010.
- Riddle MC: Standards of Diabetes Care-2019. *Diabetes Care* 42 (Suppl 1): S80-S102, 2019.
- Kalra S, Madhu SV and Bajaj S: Sulphonylureas: Assets in the past, present and future. *Indian J Endocrinol Metab* 19: 314-316, 2015.
- Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes. *Diario Oficial de la Federación*, Ciudad de México, pp1-40, 2010.
- Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M and Hernández-Ávila M: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. *Resultados Nacionales México*. Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, 2012.
- Hernández Avila M, Rivera Dommarco J, Shamah Levy T, Cuevas Nasu L, Gómez Acosta L and Gaona Pineda EB: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016: Informe final de Resultados. Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, pp46-54, 2016.
- Daniels MA, Kan C, Willmes DM, Ismail K, Pistrosch F, Hopkins D, Mingrone G, Bornstein SR and Birkenfeld AL: Pharmacogenomics in type 2 diabetes: Oral antidiabetic drugs. *Pharmacogenomics J* 16: 399-410, 2016.
- Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R and Zinman B; American Diabetes Association; European Association for Study of Diabetes: Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 32: 193-203, 2009.
- Wang B, Wang J, Huang SQ, Su HH and Zhou SF: Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance. *Curr Drug Metab* 10: 781-834, 2009.
- Surendiran A, Pradhan SC, Agrawal A, Subrahmanyam DK, Rajan S, Anichavezhi D and Adithan C: Influence of CYP2C9 gene polymorphisms on response to glibenclamide in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur J Clin Pharmacol* 67: 797-801, 2011.
- Salam RFA, Zeyada R and Osman NA: Effect of CYP2C9 gene polymorphisms on response to treatment with sulfonylureas in a cohort of Egyptian type 2 diabetes mellitus patients. *Comp Clin Pathol* 23: 341-346, 2014.
- Kirchheiner J, Roots I, Goldammer M, Rosenkranz B and Brockmöller J: Effect of genetic polymorphisms in cytochrome p450 (CYP) 2C9 and CYP2C8 on the pharmacokinetics of oral antidiabetic drugs: Clinical relevance. *Clin Pharmacokinet* 44: 1209-1225, 2005.
- Swen JJ, Wessels JA, Krabben A, Assendelft WJ and Guchelaar HJ: Effect of CYP2C9 polymorphisms on prescribed dose and time-to-stable dose of sulfonylureas in primary care patients with Type 2 diabetes mellitus. *Pharmacogenomics* 11: 1517-1523, 2010.
- Bozkurt O, de Boer A, Grobbee DE, Heerdink ER, Burger H and Klungel OH: Pharmacogenetics of glucose-lowering drug treatment: A systematic review. *Mol Diagn Ther* 11: 291-302, 2007.
- Hatta FH, Teh LK, Helldén A, Hellgren KE, Roh HK, Salleh MZ, Aklilu E and Bertilsson L: Search for the molecular basis of ultra-rapid CYP2C9-catalysed metabolism: Relationship between SNP IVS8-109A>T and the losartan metabolism phenotype in Swedes. *Eur J Clin Pharmacol* 68: 1033-1042, 2012.
- Dorado P, Gallego A, Peñas-Lledó E, Terán E and Llerena A: Relationship between the CYP2C9 IVS8-109A>T polymorphism and high losartan hydroxylation in healthy Ecuadorian volunteers. *Pharmacogenomics* 15: 1417-1421, 2014.
- Rubí-Castellanos R, Anaya-Palafox M, Mena-Rojas E, Bautista-España D, Muñoz-Valle JF and Rangel-Villalobos H: Genetic data of 15 autosomal STRs (Identifiler kit) of three Mexican Mestizo population samples from the States of Jalisco (West), Puebla (Center), and Yucatan (Southeast). *Forensic Sci Int Genet* 3: e71-e76, 2009.
- Dorado P, Sosa-Macias MG, Peñas-Lledó EM, Alanís-Bañuelos RE, Wong ML, Licinio J, Lares-Asseff I and Llerena A: CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J* 11: 108-112, 2011.
- Ortega-Vázquez A, Dorado P, Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Monroy-Jaramillo N, Martínez-Juárez IE, Familiar-López I, Peñas-Lledó E, Llerena A and López-López M: CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 genetic polymorphisms and phenytoin plasma concentrations in Mexican-Mestizo patients with epilepsy. *Pharmacogenomics J* 16: 286-292, 2016.

30. Reinhauser H, Home PD, Kanagasabapathy A and Heuck CC (eds): Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus. World Health Organization, Madrid, pp1-59, 2003.
31. World Health Organization (WHO): Technical Report Series. Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry Physical Status. WHO, Geneva, pp312-344, 1995.
32. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts EH, El-Din J, Brockmöller J and Kirchheiner J: Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol* 60: 103-106, 2005.
33. Holstein A, Hahn M, Patzer O, Seeringer A, Kovacs P and Stingl J: Impact of clinical factors and CYP2C9 variants for the risk of severe sulphonylurea-induced hypoglycemia. *Eur J Clin Pharmacol* 67: 471-476, 2011.
34. Becker ML, Visser LE, Trienekens PH, Hofman A, van Schaik RH and Stricker BH: Cytochrome P450 2C9 *2 and *3 polymorphisms and the dose and effect of sulphonylurea in type II diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 83: 288-292, 2008.
35. Zhou K, Donnelly L, Burch L, Tavendale R, Doney AS, Leese G, Hattersley AT, McCarthy MI, Morris AD, Lang CC, *et al*: Loss-of-function CYP2C9 variants improve therapeutic response to sulphonylureas in type 2 diabetes: A Go-DARTS study. *Clin Pharmacol Ther* 87: 52-56, 2010.
36. Klen J, Dolžan V and Janež A: CYP2C9, KCNJ11 and ABCC8 polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur J Clin Pharmacol* 70: 421-428, 2014.
37. Ragia G, Tavridou A, Elens L, Van Schaik RH and Manolopoulos VG: CYP2C9*2 allele increases risk for hypoglycemia in POR*1/*1 type 2 diabetic patients treated with sulphonylureas. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 122: 60-63, 2014.
38. Hohendorf J, Mrozinska S, Plis A, Nowak N, Klupa T and Malecki MT: Lack of Association between Arg144Cys Variant of CYP2C9 Gene and Therapeutic Response to Oral Agents in Type 2 Diabetes Patients. *Int J Hum Genet* 12: 83-86, 2012.
39. Bhatt D, Chauhan N, Sharma A, Dhawan D, Bhatt RV, Phatak S and Padh H: Investigating the role of plasma glucose concentration as a phenotypic marker for CYP2C9 genetic variants, in the diabetic population of Gujarat. *Indian J Pharm Sci* 76: 72-77, 2014.
40. Zeng W, Guo Y, Chen P, Liu Z, Chen D and Han C: CYP2C93 variant is associated with antidiabetes efficacy of glimepiride in Chinese type 2 diabetes patients. *J Diabetes Investig* 7: 764-768, 2016.
41. Suzuki K, Yanagawa T, Shibasaki T, Kaniwa N, Hasegawa R and Tohkin M: Effect of CYP2C9 genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 72: 148-154, 2006.
42. Gonzalez-Covarrubias V, Martínez-Magaña JJ, Coronado-Sosa R, Villegas-Torres B, Genis-Mendoza AD, Canales-Herrerias P, Nicolini H and Soberón X: Exploring Variation in Known Pharmacogenetic Variants and its Association with Drug Response in Different Mexican Populations. *Pharm Res* 33: 2644-2652, 2016.
43. Aguilar B, Rojas JC and Collados MT: Prevalence of CYP2C9 variants in the Mexican population. *Arch Med Res* 39: 463, 2008.
44. Castelán-Martínez OD, Hoyo-Vadillo C, Sandoval-García E, Sandoval-Ramírez L, González-Ibarra M, Solano-Solano G, Gómez-Díaz RA, Parra EJ, Cruz M and Valladares-Salgado A: Allele frequency distribution of CYP2C9 2 and CYP2C9 3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene* 523: 167-172, 2013.
45. Saldaña-Cruz AM, León-Moreno LC, Sánchez-Corona J, Santiago DA, Mendoza-Carrera F, Castro-Martínez XH, García-Zapién AG, Morán-Moguel MC and Flores-Martínez SE: CYP2C9 and CYP2C19 Allele and Haplotype Distributions in Four Mestizo Populations from Western Mexico: An Interethnic Comparative Study. *Genet Test Mol Biomarkers* 20: 702-709, 2016.
46. Maekawa K, Fukushima-Uesaka H, Tohkin M, Hasegawa R, Kajio H, Kuzuya N, Yasuda K, Kawamoto M, Kamatani N, Suzuki K, *et al*: Four novel defective alleles and comprehensive haplotype analysis of CYP2C9 in Japanese. *Pharmacogenet Genomics* 16: 497-514, 2006.
47. Lee SJ, Jang YJ, Cha EY, Kim HS, Lee SS and Shin JG: A haplotype of CYP2C9 associated with warfarin sensitivity in mechanical heart valve replacement patients. *Br J Clin Pharmacol* 70: 213-221, 2010.
48. Jimenez-Sanchez G: Developing a platform for genomic medicine in Mexico. *Science* 300: 295-296, 2003.
49. Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Llerena A and 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* 31: 61-81, 2016.
50. Scheen AJ: Towards a genotype-based approach for a patient-centered pharmacologic therapy of type 2 diabetes. *Ann Transl Med* 3 (Suppl 1): S36, 2015.
51. Chung EK, Cheatham SC, Fleming MR, Healy DP and Kays MB: Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Meropenem in Nonobese, Obese, and Morbidly Obese Patients. *J Clin Pharmacol* 57: 356-368, 2017.
52. Jusko WJ: Clarification of contraceptive drug pharmacokinetics in obesity. *Contraception* 95: 10-16, 2017.
53. Dostalek M, Akhlaghi F and Puzanovova M: Effect of diabetes mellitus on pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs. *Clin Pharmacokinet* 51: 481-499, 2012.
54. Burge MR, Sood V, Sobhy TA, Rassam AG and Schade DS: Sulphonylurea-induced hypoglycaemia in type 2 diabetes mellitus: A review. *Diabetes Obes Metab* 1: 199-206, 1999.
55. Burge MR, Schmitz-Fiorentino K, Sood V and Schade DS: Effect of immediate-release glipizide on hypoglycemic vulnerability in fasted, elderly patients with type 2 diabetes. *JAMA* 281: 1084-1085, 1999.
56. Jönsson A, Hallengren B, Rydberg T and Melander A: Effects and serum levels of glibenclamide and its active metabolites in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 3: 403-409, 2001.
57. Peart GF, Boutagy J and Shenfield GM: The metabolism of glyburide in subjects of known debrisoquin phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 45: 277-284, 1989.
58. Tracewell WG, Stalker DJ, Maloley PA, Gallagher TF and Gwilt PR: Population pharmacokinetics of glyburide in patients with well-controlled diabetes. *Pharmacotherapy* 18: 51-56, 1998.
59. Gong L, Goswami S, Giacomini KM, Altman RB and Klein TE: Metformin pathways: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 22: 820-827, 2012.
60. Spear BB, Heath-Chiozzi M and Huff J: Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med* 7: 201-204, 2001.
61. Aspinall MG and Hamermesh RG: Realizing the promise of personalized medicine. *Harv Bus Rev* 85: 108-117, 165, 2007.
62. García A LM, Villarreal RE, Galicia RL, Martínez GL and Vargas DER: The cost of polypharmacy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Med Chil* 143: 606-611, 2015 (In Spanish).
63. Quilliam BJ, Ozbay AB, Sill BE and Kogut SJ: The association between adherence to oral anti-diabetic drugs and hypoglycaemia in persons with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 30: 1305-1313, 2013.
64. Toledo C, Avila L, García S and Gómez H: Therapy adherence determinants and metabolic control in Type 2 Diabetes outpatients. *Rev Mex Cienc Farm* 39: 9, 2008.
65. Durán-Varela BR, Rivera-Chavira B and Franco-Gallegos E: Apego al tratamiento farmacológico en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. *Salud Publica Mex* 43: 7, 2001.
66. Lugo-Palacios DG, Cairns J and Masetto C: Measuring the burden of preventable diabetic hospitalisations in the Mexican Institute of Social Security (IMSS). *BMC Health Serv Res* 16: 333, 2016.
67. Hernández-Ávila M, Gutiérrez J and Reynoso-Noverón N: Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *Salud Publica Mex* 55 (Suppl 2): 7, 2013.
68. Hanefeld M, Patwardhan R and Jones NP; Rosiglitazone Clinical Trials Study Group: A one-year study comparing the efficacy and safety of rosiglitazone and glibenclamide in the treatment of type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 17: 13-23, 2007.
69. Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martínez R and Hernández-Ávila M: Type 2 diabetes and frequency of prevention and control measures. *Salud Publica Mex* 55 (Suppl 2): S137-S143, 2013 (In Spanish).
70. Degli Esposti L, Saragoni S, Buda S and Degli Esposti E: Clinical outcomes and health care costs combining metformin with sitagliptin or sulphonylureas or thiazolidinediones in uncontrolled type 2 diabetes patients. *Clinicoecon Outcomes Res* 6: 463-472, 2014.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) License.

APÉNDICE II

DOS ARTÍCULOS

DE

INVESTIGACIÓN

Identification of genetic variants in pharmacogenetic genes associated with type 2 diabetes in a Mexican-Mestizo population

NIDIA SAMARA RODRÍGUEZ-RIVERA^{1,2}, PATRICIA CUAUTLE-RODRÍGUEZ^{2,3},
FERNANDO CASTILLO-NÁJERA⁴ and JUAN ARCADIO MOLINA-GUARNEROS¹

¹Department of Pharmacology, Medicine Faculty, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510;

²Posgrado en Ciencias Biológicas; ³Research Division, Medicine Faculty, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510; ⁴Centro de Salud Portales, Mexico City 03660, México

Received February 3, 2017; Accepted May 16, 2017

DOI: 10.3892/br.2017.921

Abstract. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is one of the most prevalent chronic pathologies in the world. In developing countries, such as Mexico, its prevalence represents an important public health and research issue. Determining factors triggering T2DM are environmental and genetic. While diet, exercise and proper weight control are the first measures recommended to improve the quality of life and life expectancy of patients, pharmacological treatment is usually the next step. Within every population there are variations in interindividual drug response, which may be due to genetic background. Some of the most frequent first line T2DM treatments in developing countries are sulfonylureas (SU), whose targets are ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP}). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the K_{ATP} coding genes, potassium voltage-gated channel subfamily J member 11 (*KCNJ11*) and ATP binding cassette subfamily C member 8 (*ABCC8*) have been associated with SU response variability. To date, there is little information regarding the mechanism by which these SNPs work within Mexican populations. The present study describes the distribution of three SNPs [*KCNJ11* rs5219 (E23K), *ABCC8* rs757110 (S1369A) and rs1799854 (-3C/T)] among Mestizo Mexican (MM) T2DM patients, and compares it with published data on various healthy subjects and T2DM populations. Through this comparison, no difference in

the *KCNJ11* rs5219 and *ABCC8* rs757110 allelic and genotypic frequencies in MM were observed compared with the majority of the reported populations of healthy and diabetic individuals among other ethnic groups; except for African and Colombian individuals. By contrast, *ABCC8* rs1799854 genomic and allelic frequencies among MM were observed to be significantly different from those reported by the 1000 Genomes Project, and from diabetic patients within other populations reported in the literature, such as the European, Asian and Latin-American individuals [T=0.704, G=0.296; CC=0.506, CT=0.397, TT=0.097; 95% confidence interval (CI); P≤0.05]; except for South Asian and Iberian populations, which may reflect the admixture origins of the present Mexican population. This genetic similarity has not been observed in the other Latin-American groups. To the best of our knowledge, this is the first study of *ABCC8* rs757110 and rs1799854 SNP frequencies in any Mexican population and, specifically with diabetic Mexicans. Knowledge of the genetic structure of different populations is key to understanding the interindividual responses to drugs, such as SU and whether genotypic differences affect clinical outcome.

Introduction

Diabetes is a type of metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from either defective insulin secretion, insulin action or the two (1). The most prevalent type of diabetes is type 2 diabetes mellitus (T2DM), which is one of the leading causes of morbidity globally, as well as the third-highest risk factor for premature mortality (2).

In Mexico, T2DM has led mortality rates since 2005 and today it represents the leading cause of death in the country (3,4) with a prevalence of 11.8% (5). Costs associated with medical treatment of T2DM are ~450 million dollars annually (6), while ~75% of diagnosed patients do not observe adequate glycemic control even with medical assistance. These factors make T2DM a critical concern for the Mexican State's public health and research systems.

While genetic factors causing T2DM have not yet been sufficiently defined, they are currently under extensive study. Numerous T2DM-associated genes present as single nucleotide polymorphisms (SNPs) whose frequencies vary among

Correspondence to: Dr Juan Arcadio Molina-Guarneros, Department of Pharmacology, Medicine Faculty, Universidad Nacional Autónoma de México, 3000 Mexico Avenue, Mexico City 04510, Mexico
E-mail: molina_ja2007@yahoo.com.mx

Abbreviations: MM, Mestizo Mexican; T2DM, type 2 diabetes mellitus; SNP, single nucleotide polymorphism; SU, sulfonylurea; K_{ATP} , ATP-sensitive potassium channel; ME, metformin

Key words: diabetes, pharmacogenetics, potassium voltage-gated channel subfamily J member 11, ATP binding cassette subfamily C member 8, Mestizo Mexican

different populations. Genetic variations associated with either pharmacological targets or drug metabolism are of particular interest, as different responses to pharmacological treatments may be explained by the presence of a genetic mutation or the combination of various genotypes (7).

The initial pharmacological treatments for T2DM are oral hypoglycemics (OH), with sulfonylureas (SU) and metformin (ME) being the two most commonly administered in developing countries. SU are a type of oral OHs, which inhibit ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP}), thus inducing glucose-independent insulin release by the β -pancreatic cells (8). However, not all T2DM patients respond to the anti-diabetic action of SU (primary failure) and those who initially respond adequately may experience a decrease in its efficacy following the years (as variable as 1-2 to 10 or more years) of treatment (secondary failure) (9,10). SUs are frequently combined with ME, a drug which reduces hepatic glucose production and insulin resistance (11). It has been observed that the short-term reduction of glycated hemoglobin A1c (HbA1c) is similar in SU and ME monotherapies (12), and that this drug combination reduces HbA1c more efficiently than SU alone (13). When compared, observations on the adjuvant effects of SU/ME-based treatments are inconclusive; while certain authors have associated hypoglycemic events of different severity and weight increase to SUs, either alone or in combination with ME (14), others have reported no effect on body weight when combining SUs with ME (15). However, due to their low cost and accessibility, SUs (alone or combined with ME) remain the most frequent first-line T2DM treatment in the world, particularly in developing countries, such as Mexico (16,17). The UK Prospective Diabetes Study demonstrated that only 25% of patients achieved glycemic control of <7% in HbA1c over a nine-year follow-up period of monotherapy on either SU or ME (10).

Of the genetic polymorphisms that have already been reviewed extensively and whose clinical implications have already been analyzed (18,19), there are a number, which appear to be well suited for pharmacogenetic studies. Various SNPs have been reported among K_{ATP} -channel encoding genes [potassium voltage-gated channel subfamily J member 11 (*KCNJ11*) and ATP binding cassette subfamily C member 8 (*ABCC8*)] as the therapeutic target of SU (20). Many of these genes are associated with T2DM predisposition or progression, as well as with SU response variability. A specific SNP frequency may vary between different populations; therefore, it is important to evaluate and compare its distribution among different human populations, in order to better understand whether there is an association between drug response variability, patients' glycemic control and genetic architecture.

In the present study, the frequencies of three pharmacologically important SNPs are described in a Mestizo Mexican (MM) population and, in order to compare these with other reported populations, the distribution of *KCNJ11* rs5219 (E23K), *ABCC8* rs757110 (S1369A) and rs1799854 (-3C/T) is presented in MM T2DM patients. The aim of the present study is to increase the understanding of the genetic characteristics of specific populations. This may facilitate with elucidating the causes of therapeutic failure and the findings may also be extrapolated and/or compared to other populations in order to improve treatment options and patient management.

Materials and methods

Patient selection and study design. This study was observational and included 247 T2DM patients recruited from July 2014 to October 2016 from two health centers: 145 from Centro de Salud Portales and 102 T2DM patients from Centro de Salud Mixcoac, both located in Mexico City's Benito Juárez Health Jurisdiction (Mexico). Out of the total adult patient population, 165 were females while 82 were males. Patient eligibility criteria were as follows: Self-proclaimed MM ancestry of at least three generations; age between 18 and 90 years; individuals diagnosed with T2DM according to the American Association of Diabetes criteria (1); individuals taking OHs, the SU glibenclamide alone or combined with ME, for at least 3 months. All participants were enrolled in their health centers after providing written informed consent. Patient clinical history, anthropometrics and biochemical characteristics were obtained from their clinical records (a summary of this data is presented in Table I).

Genotyping. Genomic DNA was obtained by taking 6 ml peripheral blood through arm phlebotomy in glass EDTA-tubes (Vacutainer®; BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) from each patient. Patients were fasted at the time of blood sampling. Genomic DNA was isolated from 200 μ l total blood, using the UltraClean® BloodSpin® DNA Isolation kit (Mo Bio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA), and the DNA-extraction protocol was performed according to the manufacturer's instructions. DNA quality was achieved by electrophoresis in Invitrogen 1% agarose gels (UltraPure™ Agarose; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA), at 100 V over 50 min. DNA concentration was measured by spectrophotometry (Jenway 7305; Cole-Parmer Ltd., Staffordshire, UK). The *KCNJ11* rs5219 (E23K), *ABCC8* rs757110 (S1369A) and rs1799854 (-3C/T) polymorphisms were determined using 20 ng total genomic DNA per reaction, by allelic discrimination via quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using a ViiA™ 7 Real-Time PCR system and TaqMan® SNP assays (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc. Waltham, MA, USA) using the standard cycling conditions as follows: An initial denaturation stage 95°C for 10 min, 40 cycles of denaturation 95°C for 15 sec, and annealing at 60°C for 1 min, and post read stage or final extension at 60°C for 30 sec.

Statistical analysis. The SNP frequencies of *KCNJ11* rs5219, *ABCC8* rs757110 and rs1799854 were determined through direct counting, the remaining analyses were performed using SPSS 23.0 for Windows (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The SNP frequencies of the patients from both health centers were compared by performing χ^2 test of independence. In addition, biochemical and anthropometric data were compared using two-way analysis of variance (ANOVA). The total frequencies for each SNP were compared with those of other populations using the χ^2 test of independence. $P < 0.05$ with 95% CI was considered to indicate a statistically significant difference.

Results

Mexican-Mestizo sample characteristics. No statistically significant differences were identified after comparing

Table I. Demographic baseline disease characteristics.

Parameter	Total (n=247)	Female (n=165)	Male (n=82)
Age (years)	60.43±0.75	60.05 ±0.91	61.24±1.34
Weight (kg)	70.87±1.06	69.25±1.23	74.40±1.98
Body mass index (kg/m ²)	29.51±0.37	30.26±0.45	27.89±0.62
Diabetes diagnosis (years)	10.27±0.61	9.57±0.64	11.92±1.34
Triglycerides (mg/dl)	199.06±8.02	199.59±9.44	197.90±15.24
Glycated hemoglobin A1c (%)	7.55±0.15	7.53±0.19	7.60±0.26
Fasting plasma glucose (mg/dl)	141.86±4.06	144.55±5.22	135.76±5.99
Cholesterol (mg/dl)	194.82±2.71	197.24±3.45	189.39±4.12

Values are presented as means ± standard error of the mean.

biochemical and anthropometric data from the individuals from the two health centers (data not shown). Within the whole sample, there were approximately twice as many females as there were males (162 females and 83 males); 61.5% of the patients were overweight (55.7% of females and 73.8% of males); ~25% of the subjects presented with grade I obesity (27.9% in females and 20.0% in males). The mean period since the first T2DM diagnosis was 10 years, with a mean of 7.55±0.15% for HbA1c and 141.86±4.06 mg/dl for fasting plasma glucose (FPG). A summary of anthropometrics and biochemical characteristics of our subjects is presented in Table I.

No significant differences were observed in genotypic and allelic frequency distribution between the two health centers (data not shown). The genotyping frequencies of the three SNPs in the whole sample were in Hardy-Weinberg equilibrium (Table II). The obtained allelic and genotypic frequencies were compared with those reported for other non-diabetic populations using data from the 1000 Genomes Project (21) and from literature on T2DM patients; the comparative of each SNP is presented in Tables III-V (22-38). For the present study, studies were included that involved populations of T2DM subjects that were comparable with the current sample.

SNP comparison with other populations. *KCNJ11* rs5219 (E23K) allelic and genotypic frequencies in MM individuals were not identified to be different between all of the T2DM populations that were compared [predominantly European (EUR) and Asian]. To the best of our knowledge, there were only two other studies from Mexican rs5219 allelic frequencies, which demonstrated no difference compared with the MM population: T2DM Mestizo from Yucatan and T2DM Mayans. In the 1000 Genomes Project populations, MM frequencies were only statistically different from African individuals (P=2.17E-12 and P=2.31E-19 for allelic and genotypic frequencies, respectively) and admixed American-Colombians

Table II. Genotypic frequencies of the analyzed polymorphisms.

SNP	Frequency	%	P-value
E23K			0.69
GG	93	37.7	
GA	112	45.3	
AA	42	17.0	
Total	247	100.0	
-3C/T			0.55
CC	125	50.6	
CT	98	39.7	
TT	24	9.7	
Total	247	100.0	
S1369A			1.63
AA	75	30.4	
AC	131	53.0	
CC	41	16.6	
Total	247	100.0	

P<3.84 using the χ^2 test for Hardy-Weinberg equilibrium.

from Medellin (P=0.002 and P=7.20E-05 for allelic and genotypic frequencies, respectively; Table III).

MM *ABCC8* rs757110 (S1369A) allelic and genotypic frequencies behave similarly to rs5219. The only statistical differences were observed when compared with African individuals (P=1.45E-13 and P=1.72E-23 for allelic and genotypic frequencies, respectively) and American-Colombians from Medellin (P=6.13E-04 and P=2.52E-06 for allelic and genotypic frequencies, respectively). Currently, to the best of our knowledge, there are no other studies regarding allelic or genotypic frequencies of this SNP in a Mexican population (Table IV).

ABCC8 rs1799854 (-3C/T) SNP allelic and genotypic frequencies from MM were significantly different from all of the compared T2DM populations (primarily European and Asian). In comparison to non-diabetic populations from the 1000 Genomes Project, MM allelic and genotypic frequencies were significantly different from African individuals, East Asians, the majority of EUR individuals, and other admixed Americans from Colombia, Peru, Puerto Rico and individuals of Mexican ancestry from Los Angeles. Only in Iberic EUR and South Asian individuals did the 1000 Genomes Project report non-significant differences in allelic and genotypic frequencies compared with MM (Table V). Currently, to the best of our knowledge, there are no other studies on the frequencies of these SNPs among Mexican populations of non-diabetic or diabetic individuals.

Discussion

In the present study, in the MM from Mexico City, rs5219 allelic and genotypic frequencies were not different from the majority of the reported populations of healthy and diabetic individuals among other ethnic groups, except for the African and Colombian subjects; the same observation applies to

Table III. Potassium voltage-gated channel subfamily J member 11 rs5219 (E23K) allelic and genotypic frequency comparison.

Author (year)	Population	T	n	G	N	p¥	TT	n	TG	n	GG	n	p¥	Refs.
1000 Genomes Project														
Auton <i>et al</i> (2015)	MM	0.603	298	0.397	196	-	0.377	93	0.453	112	0.17	42		(21)
	AFR	0.977	1291	0.023	31	2.17E-12 ^a	0.956	632	0.047	27	0.003	2	2.31E-19 ^a	
	EAS	0.662	667	0.338	341	0.387	0.429	216	0.466	235	0.105	53	0.386	
	SAS	0.604	591	0.396	387	0.988	0.38	186	0.448	219	0.172	84	0.997	
	EUR	0.647	651	0.353	355	0.52	0.4	201	0.495	249	0.105	53	0.406	
	EUR IBS	0.617	132	0.383	82	0.839	0.374	40	0.486	52	0.14	15	0.815	
	AMR	0.707	491	0.293	203	0.121	0.496	172	0.424	147	0.081	28	0.084	
	AMR CLM	0.803	151	0.197	37	0.002 ^a	0.638	60	0.33	31	0.032	3	7.20E-05 ^a	
	AMR MXL	0.594	76	0.406	52	0.897	0.328	21	0.531	34	0.141	9	0.54	
	AMR PEL	0.682	116	0.318	54	0.243	0.435	37	0.494	42	0.071	6	0.092	
AMR PUR	0.712	148	0.288	60	0.104	0.519	54	0.385	40	0.096	10	0.086		
Type 2 diabetic														
Hernandez-Escalante <i>et al</i> (2014)	AMR YCN	0.633	164	0.367	95	0.662	-	-	-	-	-	-	-	(22)
Lara-Riegos <i>et al</i> (2015)	AMR MYN	0.654	75	0.346	40	0.449	-	-	-	-	-	-	-	(23)
He <i>et al</i> (2008)	EAS (China)	0.62	124	0.38	76	0.805	0.35	35	0.54	54	0.11	11	0.34	(24)
Yokoi <i>et al</i> (2006)	EAS (Japan)	0.614	1954	0.386	1226	0.873	0.384	610	0.462	734	0.155	246	0.959	(25)
Holstein <i>et al</i> (2009)	EUR (Germany)	0.604	116	0.396	76	0.988	0.385	37	0.437	42	0.177	17	0.975	(27)
Gloyn <i>et al</i> (2001)	EUR (UK)	0.593	427	0.407	293	0.885	0.369	133	0.447	161	0.183	66	0.97	(28)
Sesti <i>et al</i> (2009)	EUR (Italy)	0.642	674	0.358	376	0.569	0.385	202	0.514	270	0.101	53	0.338	(29)
Ragia <i>et al</i> (2012)	EUR (Grece)	0.668	235	0.332	117	0.339	0.455	80	0.426	75	0.119	21	0.423	(30)
Javorsky <i>et al</i> (2012)	EUR (Slovakia)	0.599	121	0.401	81	0.954	0.366	37	0.465	47	0.168	17	0.984	(31)
Klen <i>et al</i> (2014)	EUR (Slovenia)	0.622	194	0.378	118	0.783	0.378	59	0.487	76	0.135	21	0.76	(32)
Nicolac <i>et al</i> (2009)	EUR (Croatia)	0.607	277	0.393	179	0.954	0.382	87	0.452	103	0.167	38	0.997	(33)
Chistiakov <i>et al</i> (2009)	EUR (Russia)	0.496	128	0.504	130	0.128	0.217	28	0.558	72	0.225	29	0.045 ^a	(34)
Sokolova <i>et al</i> (2015)	WAS (East Russia)	0.649	1926	0.351	1042	0.501	0.428	635	0.442	656	0.13	193	0.647	(35)

^aP<0.05 (95% confidence interval); p¥, c² test of independence; MM, type 2 diabetic Mestizo Mexican (1000 Genomes Project third release); AFR, African individuals (1000 Genomes Project third release); EAS, East Asian individuals (1000 Genomes Project third release); SAS, East South Asian individuals (1000 Genomes Project third release); EUR, European individuals (1000 Genomes Project third release); IBS, Iberian population in Spain; AMR, Admixed American; CLM, Colombians from Medellin, Colombia; MXL, Mexican ancestry from Los Angeles, USA; PEL, Peruvians from Lima, Peru; PUR, Puerto Ricans from Puerto Rico (1000 Genomes Project third release); YCN, type 2 diabetic from Mestizo Yucatan; MYN, T2D Mayan.

rs757110 (Tables III and IV). It appears that the distribution of these polymorphisms prevails among the majority of populations, while the ancestral allele is most frequent among African individuals. The results from the Colombian population may reflect the ancestral admixture history of the country, where the African component is widely spread across the Pacific and Caribbean regions (39-41).

In Mexican populations, rs5219 is the only SNP reported for K_{ATP}-coding genes, exhibiting no differences between the

alleles of healthy and T2DM subjects, even when the geographical and ethnic profile of the three Mexican samples were markedly different: The healthy volunteers were Mestizo from the South East (22), the T2DM group had Mayan Amerindian ancestry (23) and our group (MM) was formed by Mestizo individuals, primarily from the central area of Mexico.

To the best of our knowledge, this is the first report of *ABCC8* rs757110 and rs1799854 SNPs in Mexican populations, and more specifically, in diabetic Mexican patients.

Table IV. ATP binding cassette subfamily C member 8 S1369A allelic and genotypic frequency comparison.

Author (year)	Population	T	n	G	n	p¥	TT	n	TG	n	GG	n	p¥	Refs.
1000 Genomes Project														
Auton <i>et al</i> (2015)	MM	0.569	281	0.431	213		0.304	75	0.53	131	0.166	41		(21)
	AFR	0.975	1289	0.025	33	1.45E-13 ^a	0.953	630	0.044	29	0.003	2	1.72E-23 ^a	
	EAS	0.639	644	0.361	364	0.195	0.395	199	0.488	246	0.117	59	0.331	
	SAS	0.585	572	0.415	406	0.819	0.354	173	0.462	226	0.184	90	0.652	
	EUR	0.648	652	0.352	354	0.252	0.404	203	0.489	246	0.107	54	0.238	
	IBS	0.617	132	0.383	82	0.49	0.374	40	0.486	52	0.14	15	0.567	
	AMR	0.693	481	0.307	213	0.069	0.47	163	0.447	155	0.084	29	0.030 ^a	
	CLM	0.793	149	0.207	39	6.13E-04 ^a	0.606	57	0.372	35	0.021	2	2.52E-06 ^a	
	MXL	0.586	75	0.414	53	0.808	0.328	21	0.516	33	0.156	10	0.932	
	PEL	0.682	116	0.318	54	0.098	0.435	37	0.494	42	0.071	6	0.041	
PUR	0.678	141	0.322	67	0.111	0.462	48	0.433	45	0.106	11	0.061		
Type 2 diabetics														
Zhang <i>et al</i> (2007)	EAS (China)	0.565	130	0.435	100	0.954	0.33	38	0.47	54	0.2	23	0.676	(38)
Yokoi <i>et al</i> (2006)	EAS (Japan)	0.592	1884	0.408	1296	0.742	0.358	570	0.468	744	0.174	276	0.655	(25)
Klen <i>et al</i> (2014)	EUR (Slovenia)	0.619	193	0.381	119	0.471	0.378	59	0.481	75	0.141	22	0.536	(32)
Nicolac <i>et al</i> (2009)	EUR (Croatia)	0.607	277	0.393	179	0.585	0.395	90	0.425	97	0.18	41	0.301	(33)
Sokolova <i>et al</i> (2015)	East Russia (West Asia)	0.623	1763	0.377	1065	0.436	0.393	556	0.46	651	0.146	207	0.414	(35)

^aP<0.05 (95% confidence interval); p χ^2 , χ^2 test of independence; CDMX, type 2 diabetics from Mestizo Mexico City (all of the following are 1000 Genomes Project third release): AFR, African; EAS, East Asian; SAS, South Asian; EUR, European; IBS, Iberian population in Spain; AMR, Admixed American; CLM, Colombians from Medellin, Colombia; MXL, Mexican ancestry from Los Angeles, USA; PER, Peruvians from Lima, Peru; PUR, Puerto Ricans from Puerto Rico.

rs757110 allelic and genotypic frequencies behaved similarly to rs5219 SNP, which was to be expected as it is well known that these SNPs form a haplotype. Yet, rs1799854 SNP frequencies seem extremely different to those reported by the 1000 Genomes Project and the literature on various diabetic populations (Table V). A comparison between allelic and genotypic frequencies in the investigated group and those populations reported by the 1000 Genomes Project, demonstrated differences between all but three samples: South Asian, European and Iberic. The Iberic population may have affected the comparison result of the EUR sample, as it was included in the EUR group in the 1000 Genome Project data. This was consistent with the fact that other EUR diabetic populations from different ethnic origins were statistically different when compared with the MM group (UK, Croatia and Poland). These results may reflect the Hispanic admixture dating from Mexico's colonial past; however, it is interesting and unexpected that this was not observed in the other Latin-American populations reported. It was demonstrated by the results of the previous Mexican health and nutrition national survey (ENSANUT 2012) that diabetes diagnosis and first level medical attention have improved considerably in Mexico (5), yet the percentage of treated patients actually maintaining adequate glycemic control remains poor. If this lack of control is genetic, at least partially, the differences observed in Mexican genetic SNP frequencies may significantly contribute to explaining treatment failure. This first screening may facilitate with understanding where focus and investigations

are required to establish whether genetic structure and pharmacological failure are associated.

It would be interesting to observe whether a healthy control group of MM individuals from central Mexico behaves the same as diabetic subjects, and to analyze groups of different ethnicity within the country to establish whether those results are consistent with or different from the present study.

The SNPs, rs5219 (E23K) and rs757110 (S1369A) form a haplotype, where K23/A1369 has been identified as a risk genotype (35,42,43). While electrophysiological studies have demonstrated that channels containing the K allele and K23/A1369 are less sensitive to ATP inhibition (44,45), the SU response of these polymorphic channels appears to be different depending on the drug. For example, it has been shown that K23/A1369 channels are more sensitive to SU gliclazide, yet these same channels are less sensitive to inhibition by SUs, such as tolbutamide and glimepiride, while glibenclamide demonstrated no significant inhibition difference in any haplotype (45,46). In another study, K allele carriers exhibited significantly higher secondary treatment failure than E allele homozygous (29) treated with SU and ME; however, Dawed *et al* (19) demonstrated that secondary failure on patients treated with a combination of SU and ME, carrying the K allele polymorphism of rs5219 may be more involved with diabetes progression than with SU response (19).

In Mexico, the most common first level treatment for T2DM combines ME with glibenclamide administration (5).

Table V. ATP binding cassette subfamily C member 8 -3C/T Allelic and genotypic frequency comparison.

Authors (year)	Population	C	n	T	n	p¥	CC	n	CT	n	TT	n	p¥	Refs.
1000 Genomes Project														
Auton <i>et al</i> (2015)	MM	0.704	348	0.296	146	-	0.506	125	0.397	98	0.097	24	-	(21)
	AFR	0.862	1139	0.138	183	0.006 ^a	0.741	490	0.241	159	0.018	12	7.96E-04 ^a	
	EAS	0.449	453	0.551	555	2.41E-04 ^a	0.198	100	0.502	253	0.3	151	2.20E-06 ^a	
	SAS	0.681	666	0.319	312	0.724	0.481	235	0.401	196	0.119	58	0.865	
	EUR	0.58	583	0.42	423	0.067	0.33	166	0.499	251	0.171	86	0.031 ^a	
	EUR IBS	0.612	131	0.388	83	0.17	0.393	42	0.439	47	0.168	18	0.169	
	AMR	0.464	322	0.536	372	5.35E-04 ^a	0.225	78	0.478	166	0.297	103	1.30E-05 ^a	
	AMR CLM	0.516	97	0.484	91	0.006 ^a	0.266	25	0.5	47	0.234	22	0.001 ^a	
	AMR MXL	0.422	54	0.578	74	5.10E-05 ^a	0.172	11	0.5	32	0.328	21	1.35E-07 ^a	
	AMR PEL	0.312	53	0.688	117	1.91E-08 ^a	0.071	6	0.482	41	0.447	38	3.15E-14 ^a	
AMR PUR	0.567	118	0.433	90	0.044 ^a	0.346	36	0.442	46	0.212	22	0.022 ^a		
Type 2 diabetics														
He <i>et al</i> (2008)	EAS (China)	0.41	82	0.59	118	2.50E-05 ^a	0.14	14	0.54	54	0.32	32	1.03E-08 ^a	(24)
Yokoi <i>et al</i> (2006)	EAS (Japan)	0.474	1507	0.526	1673	8.91E-04 ^a	0.233	371	0.481	765	0.286	454	2.90E-05 ^a	(25)
Matharoo <i>et al</i> (2013)	SAS (India)	0.568	227	0.433	173	0.044 ^a	0.405	81	0.325	65	0.27	54	0.006 ^a	(36)
Gloyn <i>et al</i> (2001)	EUR (UK)	0.464	412	0.536	476	5.35E-04 ^a	0.191	85	0.545	242	0.264	117	3.50E-06 ^a	(28)
Nicolac <i>et al</i> (2009)	EUR (Croatia)	0.489	223	0.511	233	0.002 ^a	0.197	45	0.583	133	0.219	50	1.30E-05 ^a	(33)
Dworacka <i>et al</i> (2007)	EUR (Poland)	0.45	36	0.55	44	2.54E-04 ^a	0.25	10	0.4	16	0.35	14	6.00E-06 ^a	(37)

^aP<0.05 (95% confidence interval); p χ^2 , χ^2 test of independence; CDMX, type 2 diabetics from Mestizo Mexico City (all of the following are 1000 Genomes Project third release): AFR, African; EAS, East Asian; SAS, South Asian; EUR, European; IBS, Iberian population in Spain; AMR, Admixed American; CLM, Colombians from Medellin, Colombia; MXL, Mexican ancestry from Los Angeles, USA; PER, Peruvians from Lima, Peru; PUR, Puerto Ricans from Puerto Rico.

In this first analysis, whose objective was mainly SNP frequency description, the authors included patients receiving glibenclamide or ME either as a mono- or combined therapy, as the SNP distribution is not affected by treatment. In future studies, the aim will be to investigate clinical implications of using ME-only treated patients as a control group to distinguish the ME effect.

The *ABCC8* rs1799854 polymorphism has been associated with a predisposition for diabetes (25,47,48). In terms of pharmacogenetics, certain studies have found that the TT genotype may be associated with an increase in HbA1c and triglyceride levels in SU-treated diabetics (33,49), and deemed partially determinant of hyperglycemia-cardiovascular risk factor in rs1799854 heterozygotes (37). However, other authors report no significant associations when analyzing FPG and BMI (28,50). Even when results in the case of this SNP are contradictory, the difference in the allelic and genotypic frequencies observed in our sample in comparison with the majority of reported cases, indicates a considerable requirement to evaluate their implications in diabetes progression and drug response in the MM population.

The SNP frequencies of rs5219 and rs757110 polymorphisms appear to be well conserved among the majority of populations, including Mexicans, there is not yet a clear association between them and the pharmacological effects.

The present results may contribute to future studies to clarify whether there is a real association.

The aim of the present study was to describe the genetic architecture of three pharmacogenetically important SNPs of *ABCC8* and *KCNJ11* within an MM population. To the best of our knowledge, this study is the first to report allelic and genotypic frequencies of *ABCC8* rs757110 and rs1799854 SNPs in an MM population. Diabetes is a major concern in Mexico, and current pharmacological treatment is considered insufficient, as shown by the latest national health survey. Therefore, understanding the characteristics of our population is a priority for elucidating a viable hypothesis to improve our knowledge of this complex pathology. It is known that interindividual responses to SU are affected by clinical factors, such as baseline glucose levels, disease duration, β -cell function and insulin resistance levels (51). However, multiple gene interaction may explain the marginal impact of each individual SNP, indicating, the necessity to construct an interaction model.

Acknowledgements

The present study was conducted as part of the Universidad Nacional Autónoma de México (National Autonomous University of Mexico-UNAM) Biological Sciences PhD postgraduate academic program fulfillment, and it was supported

by the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (Support Program for Research and Technological Innovation Projects-PAPIIT) as the IN218216 Dirección General de Apoyo a Personal Académico (General Directorate for Academic Personnel Support-DGAPA)-UNAM project. The authors would like to thank María de los Ángeles Granados-Silvestre for her technical assistance and training in the use of the qPCR equipment and sample processing; Professor Marta Menjivar-Hiraeta for the access granted to her facility and equipment to perform qPCR experiments. To Dr Isaac González Romero (Centro de Salud Portales), Dr Mario Alberto Tinoco Centeno and Mr. José Antonio Rojas (Centro de Salud Mixcoac) for providing his technical expertise for sample collection.

References

- American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 37 (Suppl 1): S81-S90, 2014.
- World Health Organization: Global health risks: Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, 2009.
- Hernandez AM: PROYECTO de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes; para quedar como Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-015-SSA2-2007, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *Diario Oficial de la Federación, Mexico*. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa2/ssa2015-09pm.pdf>. Accessed Oct 20, 2009.
- Navarro Robles AG, astañeda Vargas JC, Alam Mittilo B, *et al*: Agenda Estadística 2010. *Journal* 171: 2010, 2011.
- Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martínez R and Hernández-Ávila M: Type 2 diabetes and frequency of prevention and control measures. *Salud Publica Mex* 55 (Suppl 2): S137-S143, 2013 (In Spanish).
- Rodríguez Bolaños RdeL, Reynales Shigematsu LM, Jiménez Ruíz JA, Juárez Márquez SA and Hernández Ávila M: Direct costs of medical care for patients with type 2 diabetes mellitus in Mexico micro-costing analysis. *Rev Panam Salud Publica* 28: 412-420, 2010 (In Spanish).
- Singh S, Usman K and Banerjee M: Pharmacogenetic studies update in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 7: 302-315, 2016.
- Glamočlija U and Jevrić-Čaušević A: Genetic polymorphisms in diabetes: influence on therapy with oral antidiabetics. *Acta Pharm* 60: 387-406, 2010.
- Kota SK, Meher LK, Jammula S, Kota SK and Modi KD: Genetics of type 2 diabetes mellitus and other specific types of diabetes; its role in treatment modalities. *Diabetes Metab Syndr* 6: 54-58, 2012.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352: 837-853, 1998.
- Kirpichnikov D, McFarlane SI and Sowers JR: Metformin: An update. *Ann Intern Med* 137: 25-33, 2002.
- Bennett WL, Maruthur NM, Singh S, Segal JB, Wilson LM, Chatterjee R, Marinopoulos SS, Pahan MA, Ranasinghe P, Block L, *et al*: Comparative effectiveness and safety of medications for type 2 diabetes: An update including new drugs and 2-drug combinations. *Ann Intern Med* 154: 602-613, 2011.
- Maruthur NM, Tseng E, Hutfless S, Wilson LM, Suarez-Cuervo C, Berger Z, Chu Y, Iyoha E, Segal JB and Bolen S: Diabetes medications as monotherapy or metformin-based combination therapy for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 164: 740-751, 2016.
- Klein-Schwartz W, Stassinis GL and Isbister GK: Treatment of sulfonylurea and insulin overdose. *Br J Clin Pharmacol* 81: 496-504, 2016.
- Lim PC and Chong CP: What's next after metformin? focus on sulphonylurea: Add-on or combination therapy. *Pharm Pract (Granada)* 13: 606, 2015.
- Altagracia-Martínez M, Kravzov J, Moreno Md R, *et al*: Diabetes Mellitus Tipo2: Ventas de los Hipoglucemiantes Orales y Costos de los Tratamientos Farmacológicos en México. *Rev Mex Cienc Farm* 38: 23-33, 2007.
- Díaz de León-Castañeda C, Altagracia-Martínez M, Kravzov-Jinich J, Cárdenas-Elizalde MdelR, Moreno-Bonett C and Martínez-Núñez JM: Cost-effectiveness study of oral hypoglycemic agents in the treatment of outpatients with type 2 diabetes attending a public primary care clinic in Mexico City. *Clinicoecon Outcomes Res* 4: 57-65, 2012.
- Loganadan NK, Huri HZ, Vethakkan SR and Hussein Z: Genetic markers predicting sulphonylurea treatment outcomes in type 2 diabetes patients: Current evidence and challenges for clinical implementation. *Pharmacogenomics J* 16: 209-219, 2016.
- Dawed AY, Zhou K and Pearson ER: Pharmacogenetics in type 2 diabetes: Influence on response to oral hypoglycemic agents. *Pharmacogenomics Pers Med* 9: 17-29, 2016.
- Gloyn AL and McCarthy MI: The genetics of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 15: 293-308, 2001.
- Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA and Abecasis GR: 1000 Genomes Project Consortium: A global reference for human genetic variation. *Nature* 526: 68-74, 2015.
- Hernandez-Escalante VM, Nava-Gonzalez EJ, Voruganti VS, Kent JW, Haack K, Laviada-Molina HA, Molina-Segui F, Gallegos-Cabriaes EC, Lopez-Alvarenga JC, Cole SA, *et al*: Replication of obesity and diabetes-related SNP associations in individuals from Yucatán, México. *Front Genet* 5: 380, 2014.
- Lara-Riegos JC, Ortiz-López MG, Peña-Espinoza BI, Montúfar-Robles I, Peña-Rico MA, Sánchez-Pozos K, Granados-Silvestre MA and Menjivar M: Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4α, KCNJ11, PPARγ, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene* 565: 68-75, 2015.
- He YY, Zhang R, Shao XY, Hu C, Wang CR, Lu JX, Bao YQ, Jia WP and Xiang KS: Association of KCNJ11 and ABCC8 genetic polymorphisms with response to repaglinide in Chinese diabetic patients. *Acta Pharmacol Sin* 29: 983-989, 2008.
- Yokoi N, Kanamori M, Horikawa Y, Takeda J, Sanke T, Furuta H, Nanjo K, Mori H, Kasuga M, Hara K, *et al*: Association studies of variants in the genes involved in pancreatic beta-cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. *Diabetes* 55: 2379-2386, 2006.
- Rastegari A, Rabbani M, Sadeghi HM, Imani EF, Hasanzadeh A and Moazen F: Association of KCNJ11 (E23K) gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in Iranian patients. *Adv Biomed Res* 4: 1, 2015.
- Holstein A, Hahn M, Stumvoll M and Kovacs P: The E23K variant of KCNJ11 and the risk for severe sulfonylurea-induced hypoglycemia in patients with type 2 diabetes. *Horm Metab Res* 41: 387-390, 2009.
- Gloyn AL, Hashim Y, Ashcroft SJ, Ashfield R, Wiltshire S and Turner RC; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS 53): Association studies of variants in promoter and coding regions of beta-cell ATP-sensitive K-channel genes SUR1 and Kir6.2 with type 2 diabetes mellitus (UKPDS 53). *Diabet Med* 18: 206-212, 2001.
- Sesti G, Laratta E, Cardellini M, Andreozzi F, Del Guerra S, Irace C, Gnasso A, Grupillo M, Lauro R, Hribal ML, *et al*: The E23K variant of KCNJ11 encoding the pancreatic beta-cell adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channel subunit Kir6.2 is associated with an increased risk of secondary failure to sulfonylurea in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 2334-2339, 2006.
- Ragia G, Tavridou A, Petridis I and Manolopoulos VG: Association of KCNJ11 E23K gene polymorphism with hypoglycemia in sulfonylurea-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 98: 119-124, 2012.
- Javorsky M, Klimcakova L, Schroner Z, Zidzik J, Babjakova E, Fabianova M, Kozarova M, Tkacova R, Salagovic J and Tkac I: KCNJ11 gene E23K variant and therapeutic response to sulfonylureas. *Eur J Intern Med* 23: 245-249, 2012.
- Klen J, Dolžan V and Janež A: CYP2C9, KCNJ11 and ABCC8 polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur J Clin Pharmacol* 70: 421-428, 2014.
- Nikolac N, Simundic AM, Katalinic D, Topic E, Cipak A and Zjadic Rotkovic V: Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR-1) but not with KCNJ11 polymorphisms. *Arch Med Res* 40: 387-392, 2009.
- Chistiakov DA, Potapov VA, Khodirev DC, Shamkhalova MS, Shestakova MV and Nosikov VV: Genetic variations in the pancreatic ATP-sensitive potassium channel, beta-cell dysfunction, and susceptibility to type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 46: 43-49, 2009.

35. Sokolova EA, Bondar IA, Shabelnikova OY, Pyankova OV and Filipenko ML: Replication of KCNJ11 (p.E23K) and ABCC8 (p.S1369A) association in Russian diabetes mellitus 2 type cohort and meta-analysis. *PLoS One* 10: e0124662, 2015.
36. Matharoo K, Arora P and Bhanwer AJ: Association of adiponectin (AdipoQ) and sulphonylurea receptor (ABCC8) gene polymorphisms with type 2 diabetes in North Indian population of Punjab. *Gene* 527: 228-234, 2013.
37. Dworacka M, Winiarska H and Jagodziński PP: Impact of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) exon 16-3c/t polymorphism on acute hyperglycaemia in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 77: 258-262, 2007.
38. Zhang H, Liu X, Kuang H, Yi R and Xing H: Association of sulfonylurea receptor 1 genotype with therapeutic response to gliclazide in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 77: 58-61, 2007.
39. Rojas W, Parra MV, Campo O, Caro MA, Lopera JG, Arias W, Duque C, Naranjo A, García J, Vergara C, *et al*: Genetic make up and structure of Colombian populations by means of uniparental and biparental DNA markers. *Am J Phys Anthropol* 143: 13-20, 2010.
40. Ossa H, Aquino J, Pereira R, Ibarra A, Ossa RH, Pérez LA, Granda JD, Lattig MC, Groot H, Fagundes de Carvalho E, *et al*: Outlining the ancestry landscape of Colombian admixed populations. *PLoS One* 11: e0164414, 2016.
41. Homburger JR, Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Nelson D, Sanchez E, Ortiz-Tello P, Pons-Estel BA, Acevedo-Vasquez E, Miranda P, Langefeld CD, *et al*: Genomic insights into the ancestry and demographic history of South America. *PLoS Genet* 11: e1005602, 2015.
42. Florez JC, Burt N, de Bakker PI, Almgren P, Tuomi T, Holmkvist J, Gaudet D, Hudson TJ, Schaffner SF, Daly MJ, *et al*: Haplotype structure and genotype-phenotype correlations of the sulfonylurea receptor and the islet ATP-sensitive potassium channel gene region. *Diabetes* 53: 1360-1368, 2004.
43. Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR, Turner MJ, Knight BA, Hitman G, Walker M, Levy JC, Sampson M, Halford S, *et al*: Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 568-572, 2003.
44. Schwanstecher C, Meyer U and Schwanstecher M: K(IR)6.2 polymorphism predisposes to type 2 diabetes by inducing overactivity of pancreatic beta-cell ATP-sensitive K(+) channels. *Diabetes* 51: 875-879, 2002.
45. Hamming KS, Soliman D, Matemisz LC, Niazi O, Lang Y, Gloyn AL and Light PE: Coexpression of the type 2 diabetes susceptibility gene variants KCNJ11 E23K and ABCC8 S1369A alter the ATP and sulfonylurea sensitivities of the ATP-sensitive K(+) channel. *Diabetes* 58: 2419-2424, 2009.
46. Lang VY, Fatehi M and Light PE: Pharmacogenomic analysis of ATP-sensitive potassium channels coexpressing the common type 2 diabetes risk variants E23K and S1369A. *Pharmacogenet Genomics* 22: 206-214, 2012.
47. Inoue H, Ferrer J, Welling CM, Elbein SC, Hoffman M, Mayorga R, Warren-Perry M, Zhang Y, Millns H, Turner R, *et al*: Sequence variants in the sulfonylurea receptor (SUR) gene are associated with NIDDM in Caucasians. *Diabetes* 45: 825-831, 1996.
48. Hart LM, de Knijff P, Dekker JM, Stolk RP, Nijpels G, van der Does FE, Ruige JB, Grobbee DE, Heine RJ and Maassen JA: Variants in the sulphonylurea receptor gene: Association of the exon 16-3t variant with type II diabetes mellitus in Dutch Caucasians. *Diabetologia* 42: 617-620, 1999.
49. Meirhaeghe A, Helbecque N, Cottel D, Arveiler D, Ruidavets JB, Haas B, Ferrières J, Tauber JP, Bingham A and Amouyel P: Impact of sulfonylurea receptor 1 genetic variability on non-insulin-dependent diabetes mellitus prevalence and treatment: A population study. *Am J Med Genet* 101: 4-8, 2001.
50. Zychma MJ, Gumprecht J, Strojek K, Grzeszczak W, Moczulski D, Trautsoit W and Karasek D: Sulfonylurea receptor gene 16-3 polymorphism - association with sulfonylurea or insulin treatment in type 2 diabetic subjects. *Med Sci Monit* 8: CR512-CR515, 2002.
51. Dawed AY, Donnelly L, Tavendale R, Carr F, Leese G, Palmer CN, Pearson ER and Zhou K: CYP2C8 and SLCO1B1 variants and therapeutic response to thiazolidinediones in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 39: 1902-1908, 2016.



Frecuencia de los polimorfismos E23K (*KCNJ11*) y R1273R (*ABCC8*) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2: asociación del control glucémico en pacientes tratados con hipoglucemiantes orales

Nidia Samara Rodríguez-Rivera,* Patricia Cuautle-Rodríguez,*,** María Guadalupe Ortiz-López,**
María de los Ángeles Granados-Silvestre,**** Martha Menjivar-Iraheta,**** Juan Molina-Guarneros*

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad muy heterogénea, con una tasa de respuesta a los diferentes fármacos muy diversa; cerca del 75% de los pacientes en tratamiento no están controlados de acuerdo con datos de ENSANUT 2006, 2012 y MC 2016. Se han descrito polimorfismos asociados con riesgo de padecer esta enfermedad en varias poblaciones que podrían estar también relacionados con variaciones en la respuesta farmacológica de los pacientes. Las sulfonilureas están entre los fármacos más utilizados para el control de la diabetes; los polimorfismos en los genes que codifican para el canal blanco de estos fármacos *KCNJ11* y *ABCC8* podrían estar relacionados con estas variaciones. En México, existe poca información acerca de la frecuencia de estos polimorfismos en la población en general y diabéticos. Se genotipificaron 80 pacientes diabéticos en tratamiento con hipoglucemiantes orales para los polimorfismos E23K (*KCNJ11*) y R1273R (*ABCC8*) mediante PCR-RFLP. Las frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas fueron comparadas con las reportadas para las principales poblaciones mundiales y con las de diabéticos encontrando que son diferentes a la mayoría de las poblaciones descritas. No se detectó asociación en nuestros datos entre E23K y R1273R con el control glucémico de los pacientes.

Palabras clave: K_{ATP} , diabetes, polimorfismos, hipoglucemiantes orales, *KCNJ11*, *ABCC8*.

ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus is a very heterogeneous disease with a very diverse response rate to different drugs; about 75% of patients under treatment are not controlled according to data from ENSANUT 2006, 2012 and MC 2016. Polymorphisms associated with the risk of this disease have been described in several populations that may also be related to variations in the pharmacological response of patients. Sulfonylureas are among the most commonly used drugs for diabetes control; polymorphisms in the genes that code for the target channel of these drugs: *KCNJ11* and *ABCC8* could be related to these variations. In Mexico there is little information about the frequency of these polymorphisms in the general population and diabetics. We genotyped 80 diabetic patients in treatment with oral hypoglycemic agents, for polymorphisms E23K (*KCNJ11*) and R1273R (*ABCC8*) by PCR-RFLP. The genotypic and allelic frequencies obtained were compared with those reported for the main world populations and with those of diabetics, finding that they are different from most of the reported populations. We found no association in our data between E23K and R1273R with glycemic control of patients.

Key words: K_{ATP} , diabetes, polymorphisms, oral hypoglycemic agent, *KCNJ11*, *ABCC8*.

* Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

** Postgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

*** Laboratorio de Endocrinología Molecular, Hospital Juárez de México.

**** Departamento de Biología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido: 28/11/2018. Aceptado para publicación: 30/12/2018.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad metabólica caracterizada por altos niveles de glucosa en la sangre, debido a una resistencia celular a las acciones de la insulina combinada con una secreción deficiente,

la misma por el páncreas. Ha sido definida como un padecimiento de adultos; no obstante, su prevalencia ha crecido significativamente en gente joven y se presenta con muy alta frecuencia en nuestro país,¹ encabezando la lista de mortalidad general en las últimas décadas. La tasa de mortalidad nacional por DMT2 con base en las estadísticas oficiales de la Secretaría de Salud va en aumento de 59.0% en 2004 a 70.8% en 2008.²

De acuerdo con los datos más recientes de la ENSANUT MC 2016, la prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 en adultos aumentó de 9.2% (2012) a 9.4%. Dentro de la población total la prevalencia es mayor en mujeres (10.3%) que en hombres (8.4%).^{3,4} Entre el 70 y 75% de los pacientes diagnosticados no están controlados.³ Este padecimiento presenta múltiples complicaciones y riesgo a comorbilidades, con costos directos e indirectos asociados con la atención médica de los pacientes, mismos que son de alrededor de 363,000 millones de pesos (2.25% del PIB con costos directos de 1.11% del PIB e indirectos de 1.14% del PIB).⁵

La Asociación Americana de Diabetes (ADA por sus siglas en inglés) y la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés) consideran la metformina como fármaco de primera línea para el tratamiento de la DMT2, con la posibilidad de añadir un segundo hipoglucemiante oral cuando no se alcanzan las metas del tratamiento después de llegar a aplicar dosis máximas, como sulfonilureas u otros hipoglucemiantes orales.^{6,7} Aunque en los últimos años cada vez se descontinúa más el uso de sulfonilureas en países desarrollados debido a sus efectos adversos a nivel cardiovascular,⁸ en México y muchos países en desarrollo éstos se siguen utilizando ampliamente. La reglamentación vigente para México y las guías de práctica clínica aún las toman en cuenta como medicamentos de primera línea en pacientes no obesos o con sensibilidad a biguanidas,^{2,9} lo que puede deberse principalmente a su bajo costo.¹⁰ De acuerdo con la ENSANUT MC 2016, el uso de la metformina y glibenclamida es el pilar del tratamiento hipoglucemiante vía oral (67.9% de pacientes con este tratamiento). Si se combina con insulina suma otro 8.8%; es decir, 76.7%.

Las sulfonilureas son fármacos que inhiben los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) para estimular la secreción de insulina¹¹ que están constituidos por cuatro subunidades de la proteína Kir 6.2 y cuatro subunidades regulatorias del receptor a sulfonilureas (SUR-1). Proveen la conductancia de K^+ dominante en reposo y determinan el potencial de membrana en las células β -pancreáticas y otros tipos de células excitables.¹²

Al incrementarse los niveles plasmáticos de glucosa en células β -pancreáticas, ésta es transportada al citosol por

el transportador de glucosa 2 (GLUT-2) donde se desata la producción de ATP, que bloquea los K_{ATP} despolarizando la membrana y desencadenando un potencial de acción que activa canales de calcio dependientes de voltaje (Ca^{2+}) y desencadena la exocitosis de insulina.¹³

Los genes que codifican para las subunidades del K_{ATP} en células β -pancreáticas, *KCNJ11* (Kir 6.2) y *ABCC8* (SUR-1), se encuentran en el mismo cromosoma en humanos (11p15.1).¹⁴ Mutaciones en los genes que codifican para los K_{ATP} conocidas como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), están muy relacionadas con enfermedades de manejo de glucosa y desórdenes de la secreción de insulina.¹⁵ Se ha relacionado algunas de estas SNP con el riesgo de desarrollar DMT2, o bien su respuesta a fármacos en poblaciones bien definidas.^{12,16-18}

En el caso de *KCNJ11* que codifica para Kir 6.2, uno de los polimorfismos más ampliamente estudiados es E23K, se ha encontrado que la presencia de este polimorfismo puede predisponer al desarrollo de DMT2 en varias poblaciones.^{16,17,19-22} Estudios funcionales han revelado que el alelo K23 disminuye la probabilidad de cierre del canal, llevando a una susceptibilidad reducida la inhibición por ATP,^{18,23} aunque otros estudios sugieren un efecto protector del fenotipo K en el desarrollo de la enfermedad.¹⁶ Diversos estudios indican que el genotipo G/G está asociado con menor respuesta al tratamiento con sulfonilureas en monoterapia y terapia combinada.²⁴⁻²⁶ En población mexicana existen pocos estudios al respecto, pero un estudio reciente parece sustentar esta misma idea.²⁷

Para el caso de *ABCC8* que codifica para SUR-1 existe una cantidad más elevada de polimorfismos reportados, y con amplia prevalencia en diferentes poblaciones. Varios de estos polimorfismos se han asociado con mayor predisposición a presentar DMT2,²⁸ o bien a una respuesta diferencial de los fármacos como las sulfonilureas o repaglinida.^{20,29,30}

Existen pocos estudios de asociación de polimorfismos relacionados con la diabetes en población mexicana mestiza o nativa americana.^{27,31-35} En México, en el caso de los polimorfismos que afectan los K_{ATP} un estudio en 2009 observó los polimorfismos T759T de SUR-1 y de E23K de Kir 6.2 en 504 pacientes de unidades de medicina familiar del IMSS de cuatro estados;³⁶ se trata de una tesis que presentó los primeros datos en población mexicana acerca de las frecuencias del polimorfismo E23K (G/G: 86.31%, G/C: 5.36% y C/C: 8.33%) y T759T (C/C: 97.22%, C/T: 2.58% y T/T: 0.2%); en el caso de E23K, las frecuencias para los tipos silvestres (G/G) que encontró este grupo son casi el doble que las reportadas para otras poblaciones como la caucásica y asiática,^{20,30,37} mientras que las frecuencias



observadas para T759T resultaron muy similares a las descritas en caucásicos.^{38,39} Sin embargo, no encuentran ninguna asociación significativa de estos polimorfismos con parámetros determinantes de la DMT2 como niveles de glucosa, HbA1c, colesterol o triglicéridos, ni con el tratamiento con sulfonilureas. Si bien la asociación en el caso de colesterol y triglicéridos con T759T no fue significativa, presentan OR de 1.55 y 1.77 para T/T, respectivamente, y en el caso de E23K una OR de 1.23 para G/C en asociación con colesterol y OR de 1.24 en el caso de triglicéridos para C/C; sin embargo, no se discutieron las implicaciones de estos resultados en una enfermedad de claro origen poligénico y multifactorial como la diabetes. Otro grupo recientemente ha reportado las frecuencias de E23K en pacientes diabéticos de Monterrey²⁷ y en un análisis de asociación se encontró que los pacientes con genotipos homocigotos (GG y AA) presentaban menor respuesta al tratamiento con sulfonilureas en comparación con los heterocigotos (GA). A nivel experimental, se observó que el alelo K de E23K confiere mayor sensibilidad a la sulfonilurea gliclacida.²³ En el caso de E23K, existen resultados contradictorios, algunos estudios, sobre todo en población caucásica de Europa del este, no detectaron asociación entre este polimorfismo con modificaciones en el tratamiento con sulfonilureas.^{26,30} En otros estudios en población caucásica, asiática y árabe observaron que el alelo K está asociado a mayor nivel de HbA1c o a la falla del tratamiento con sulfonilureas y el alelo E se asocia con mayor disminución en HbA1c y tiempo más prolongado en el control con sulfonilureas.^{24,40-42}

No existen reportes a la fecha de las frecuencias del polimorfismo R1273R de ABCC8 en población mexicana ni de su asociación con la farmacogenética de sulfonilureas, pero en otras poblaciones se ha descrito que estas variantes alélicas pueden modificar parámetros bioquímicos como la HbA1c o los niveles de lípidos.⁴³⁻⁴⁵ En población caucásica se observó que pacientes diabéticos tratados con sulfonilureas de genotipo G/G para SNP R1273R tienen un aumento significativo en los niveles de HbA1c, en comparación con los demás genotipos.³⁰

Resulta de gran importancia estudiar en pacientes diabéticos tipo 2 mexicanos la frecuencia de estas variantes alélicas de riesgo, ya que proporcionarán información útil para determinar los casos en que se deben utilizar terapias que involucren sulfonilureas, determinar si las dosis suministradas deben modificarse en casos específicos para prevenir posibles riesgos de incremento en la sensibilidad o resistencia y también decidir cuándo debe emplearse una combinación diferente de fármacos para optimizar el tratamiento oral de su enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio observacional con 80 muestras de pacientes diabéticos tipo 2 del Hospital Juárez de México que fueron genotipificadas mediante PCR-RFLP para determinar los polimorfismos: E23K (rs5219) de *KCNJ11*, R1273R (rs1799859) y S1369A (rs757110) de *ABCC8*. En el caso del polimorfismo E23K de *KCNJ11*, en nueve reacciones no fue posible realizar análisis por no estar en condiciones aceptables, por lo que se obtuvo el genotipo únicamente de 65 individuos; en el caso del polimorfismo R1273R de *ABCC8*, se amplificaron y procesaron 73 muestras. Las muestras fueron proporcionadas por el Laboratorio de Endocrinología Molecular de la División de Investigación del Hospital Juárez de México, mismo que nos facilitó los valores de los biomarcadores bioquímicos y antropométricos de los pacientes.

En el análisis final de las 80 muestras, se descartaron seis muestras correspondientes a dos pacientes que recibían tratamiento con insulina, de las cuales tres recibían tratamiento combinado de insulina e hipoglucemiantes orales y de uno no se tenía información del tratamiento.

Para la genotipificación de cada muestra se realizó una reacción de PCR punto final utilizando los oligonucleótidos correspondientes a cada polimorfismo (Cuadro 1) y 200 ng de ADN por reacción en 20 μ L de volumen final. Se corroboró la correcta amplificación de cada amplicón corriendo una alícuota de cada reacción en geles de poliacrilamida 15%; 10 μ L de cada reacción de PCR fueron digeridos con 10 U de la enzima de restricción correspondiente (Cuadro 2); el resultado de las digestiones fue corrido en geles de poliacrilamida 15% para observar los patrones de bandeo correspondientes al genotipo de cada individuo y determinar los genotipos correspondientes.

Se cuantificó la frecuencia genotípica y alélica de cada polimorfismo por conteo directo y se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada caso mediante prueba de χ^2 . El análisis estadístico se realizó utilizando el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) versión 23. La comparación de las frecuencias alélicas con otras poblaciones se efectuó mediante prueba de χ^2 (IC 95%). Para comparar las variables continuas se utilizó ANOVA de una vía con prueba Tukey HSD. La asociación entre los polimorfismos E23K y R1273R con las variables continuas se determinó por regresión logística con modelos dominante y recesivo. Las variables continuas fueron convertidas a logaritmo cuando fue necesario y se realizó un ajuste por índice de masa corporal (IMC).

Cuadro 1. Condiciones experimentales utilizadas para la amplificación y mapeo de las regiones polimórficas.

SNP	Oligonucleótidos	Enzima	Homocigoto 1	Homocigoto 2	Heterocigoto	Tamaño de amplicón
KCNJ11 E23K	F 5'-GACTCTGCAGTGAGGCCCTA-3' R 5'-ACGTTGCAGTTGCCCTTCTT-3'	Ban II	G/G 150 + 32 + 28	A/A 178 + 32	G/A 178 + 150 + 32(2x) + 28	210 pb
ABCC8 Exón 31 (R1273R)	F 5'-CTCCCTCCCCAGGAGTACAT-3' R 5'-CTCACCATTAGGGCGTAGGT-3'	Bsl I	A/A 73 + 58	G/G 131	A/G 131 + 73 + 58	131 pb

Cuadro 2. Datos antropométricos y biomarcadores de los pacientes mexicanos con DMT2.

	Total (n = 65)		Hombres (n = 14)		Mujeres (n = 51)		p*	p**
	Mediana	RI	Mediana	RI	Mediana	RI		
Edad (años)	58.0	13.0	57.0	14.0	59.0	13	0.692	0.393
Evol (años)	5.0	7.0	5.0	3.0	6.0	7.0	0.997	0.936
IMC	27.0	6.0	26.00	3.0	28.0	7.0	0.186	0.068
Glucosa (mg/dL)	146.0	157.0	135.0	173.0	154.0	152.0	0.980	0.842
Colesterol (mg/dL)	193.0	60.0	167.5	57.0	199.0	60.0	0.124	0.042
Triglicéridos (mg/dL)	161.0	101.0	156.0	69.0	174.0	104.0	0.901	0.649
Insulina (mUI/dL)	5.6	9.0	7.6	8.7	5.1	9.4	0.669	0.371
Péptido C (ng/mL)	5.4	3.5	5.2	6.1	5.4	3.1	0.961	0.780

Evol = tiempo de evolución de la enfermedad; IMC = índice de masa corporal; RI = rango intercuartílico.

* Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes (95% IC). ** (H vs. M) Prueba de U de Mann-Whitney para muestras independientes (95% IC).

RESULTADOS

El análisis de asociación se llevó a cabo con las 65 muestras que contaban con los datos completos de genotipificación y datos antropométricos y bioquímicos. De los pacientes diabéticos que reciben tratamiento con hipoglucemiantes orales, 21.5% corresponde a hombres y 78.5% a mujeres. En el cuadro 2 se observan las medianas de los datos antropométricos y bioquímicos de los individuos analizados en la muestra total y por sexo. Se realizó una comparación de medianas entre sexos (U de Mann-Whitney) y comparando la muestra total y por sexo (Kruskal-Wallis) encontrando que el único parámetro en el que las mujeres presentan niveles significativamente más altos que los hombres es en el colesterol total ($p = 0.042$).

Las frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para cada polimorfismo y el cálculo de equilibrio de Hardy-Weinberg se pueden observar en el cuadro 3; las

frecuencias del polimorfismo R1273R se encuentra en equilibrio, mientras que las de E23K no. Es posible que las frecuencias de E23K no estén en equilibrio debido al tamaño de la muestra.

Las frecuencias alélicas observadas de E23K y R1273R fueron comparadas con los datos del proyecto de los 1,000 genomas que representa la variabilidad genética mundial, y con estudios en los que se analizaba la frecuencia de controles sanos e individuos con diabetes,^{16,17,24,34,37,43-50} incluyendo los encontrados por nuestro grupo en una población de mestizos mexicanos del centro del país para el caso de E23K.³⁵ Los resultados de esta comparación se observan en los cuadros 4 y 5.

La distribución de los alelos para ambos polimorfismos son diferentes a prácticamente todas las poblaciones analizadas, tanto población abierta como pacientes con diabetes. En el caso de E23K sólo dos estudios reportan frecuencias tanto alélicas como genotípicas similares a las encontradas en el presente estudio,^{47,50} de Rusia e Irán,



Cuadro 3. Frecuencias genotípicas y alélicas observadas de los polimorfismos estudiados en pacientes mexicanos con DMT2.

Polimorfismo	Genotipo/alelo	Total (%)	p ^a
KCNJ11 E23K (n = 65)	C/C	5 (7.7)	7.79
	C/T	42 (64.6)	
	T/T	18 (27.7)	
	C	52 (40.0)	
	T	78 (60.0)	
ABCC8 exón 31 R1273R (n = 73)	G/G	12 (16.4)	0.13*
	G/A	37 (50.7)	
	A/A	24 (32.9)	
	G	61 (41.8)	
	A	85 (58.2)	

p^a < 3.84 en prueba de χ^2 para equilibrio Hardy-Weinberg.

respectivamente. Para R1273R las únicas poblaciones con frecuencias que no fueron diferentes son las registradas por el proyecto de los 1,000 genomas para colombianos y peruanos.⁴⁶

De forma similar a lo que ocurre en nuestro estudio, el estudio de la población iraní también corresponde a un tamaño de muestra pequeño (n = 20). El alelo con mayor representación en nuestros resultados: T, que corresponde a la sustitución por lisina (K), ha sido reportado en varios trabajos como alelo de riesgo o predisposición a DMT2⁵¹ y menor secreción de insulina.^{16,23}

Para explorar la posible asociación de los alelos de riesgo de E23K y R1273R se realizó un análisis de regresión binaria multivariado agrupando los genotipos bajo el modelo dominante y recesivo ajustado por IMC. No se detectó ninguna asociación significativa para ninguna de las variables (Cuadro 6).

DISCUSIÓN

Existe controversia con respecto al alelo de riesgo en E23K, varios estudios han reportado que el alelo T (K) de E23K está asociado a protección contra la DMT2 y que el alelo G (E) confiere riesgo de padecer la enfermedad;^{43,47} no obstante, otros estudios dicen que la presencia del alelo T se asocia con menor secreción de insulina¹⁷ e incluso funcionalmente demuestra menor sensibilidad a ATP y a sulfonilureas en los K_{ATP}.²⁴ Por lo tanto, T puede ser considerado el alelo de riesgo de este polimorfismo al disminuir la probabilidad de cierre del canal, lo que puede involucrarlo en la falla del control glucémico en pacientes tratados con sulfonilureas. Bajo

esta hipótesis consideramos un modelo dominante (CC vs. CT+TT) para analizar la posible asociación de los genotipos encontrados con los datos bioquímicos de los pacientes, observando una tendencia a mayor IMC en los pacientes con el alelo de riesgo y contradictoriamente menor nivel de glucosa prepandial; no obstante, los valores no fueron estadísticamente significativos (Cuadro 5). Se exploró también un modelo recesivo (datos no mostrados), pero tampoco se observa ninguna asociación, o tendencia en cuanto a las variables de glucosa en ayunas, o insulina.

A pesar de que R1273R es una mutación silenciosa, se ha relacionado al alelo A de este polimorfismo con mayor riesgo de padecer DMT2.^{44,45,48} Adicionalmente, el genotipo G/G se asocia a menor concentración de glucosa posterior a dos horas y a mayor concentración de insulina en ayuno,⁴⁷ por lo que nuestra hipótesis era que el alelo de riesgo es A para este polimorfismo y por lo tanto decidimos analizar la posible asociación de estas variables bajo un modelo dominante (GG vs. AG+AA), en donde no obtuvimos ningún valor significativo, aunque se aprecia una tendencia a menor nivel de triglicéridos en los pacientes homocigotos a GG (Cuadro 5).

Con nuestros resultados no somos capaces de replicar las hipótesis de la literatura para ambos polimorfismos, pero observamos tendencias que sientan un precedente para futuras investigaciones.

En el sistema de salud mexicano los hipoglucemiantes más utilizados son sulfonilureas y biguanidas, en específico glibenclamida y metformina, respectivamente, solas o en combinación. Datos del sistema de atención hospitalaria nos dicen que cerca del 46% de los pacientes reciben sulfonilureas, ya sea como monoterapia o en combinación con biguanidas.⁵² Es probable que de existir alguna asociación entre algún genotipo o alelo no seamos capaces de distinguirla debido a interferencia de otros fármacos diferentes a sulfonilureas. Además, que un ajuste por dosis sería necesario en nuestro modelo multivariado. No obstante, estos datos representan las primeras frecuencias reportadas en pacientes diabéticos mexicanos para el polimorfismo de ABCC8 de R1273R y también de los primeros datos en diabéticos mexicanos en cuanto a E23K de KCNJ11 en población mestiza, que inicialmente parecen muy diferentes a los descritos para población abierta y otros grupos de diabéticos (Cuadro 4). Es necesario replicar este estudio en una muestra mayor para comprobar las frecuencias obtenidas y analizar más cuidadosamente posibles asociaciones de estos polimorfismos con los marcadores de control glucémico.

Cuadro 4. Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de KCNJ11 rs5219 (E23K).

Autor (año)	Población	C	n	T	n	p%	CC	n	CT	n	TT	n	p%
Auton et al. (2015)	HJ	0.400	52	0.600	78		0.077	5	0.646	42	0.277	18	
	AFR	0.977	1291	0.023	31	7.11E-25	0.956	632	0.047	27	0.003	2	3.46E-41
	EAS	0.662	667	0.338	341	1.88E-04	0.429	216	0.466	235	0.105	53	5.76E-09
	SAS	0.604	591	0.396	387	0.004	0.380	186	0.448	219	0.172	84	8.37E-07
	EUR	0.647	651	0.353	355	4.39E-04	0.400	201	0.495	249	0.105	53	4.16E-08
	IBS	0.617	132	0.383	82	0.002	0.374	40	0.486	52	0.140	15	7.71E-07
	AMR	0.707	491	0.293	203	1.10E-05	0.496	172	0.424	147	0.081	28	1.26E-11
	CLM	0.803	151	0.197	37	3.11E-09	0.638	60	0.330	31	0.032	3	9.73E-19
	MXL	0.594	76	0.406	52	0.006	0.328	21	0.531	34	0.141	9	1.40E-05
	PEL	0.682	116	0.318	54	5.60E-05	0.435	37	0.494	42	0.071	6	5.38E-10
Rodríguez-Rivera et al. (2017)	PUR	0.712	148	0.288	60	5.27E-43	0.519	54	0.385	40	0.096	10	E-12
	MM	0.603	298	0.397	196	0	0.377	93	0.453	112	0.170	42	1.02E-06
Hernández-Escalante et al. (2014)	AMR YCN	0.633	164	0.367	95	0.001							
Lara-Riegos et al. (2015)	AMR MYN	0.654	75	0.346	40	2.98E-04							
Holstein A et al. (2009)	EUR (Alemania)	0.604	116	0.396	76	3.79E-03	0.385	37	0.437	42	0.177	17	5.88E-07
Javorsky M et al. (2012)	EUR (Eslovaquia)	0.599	121	0.401	81	0.005	0.366	37	0.465	47	0.168	17	2.10E-06
Gloyn AL et al. (2001)	EUR (RU)	0.593	427	0.407	293	0.006	0.369	133	0.447	161	0.183	66	1.88E-06
Klen J et al. (2014)	EUR	0.622	194	0.378	118	0.002	0.378	59	0.487	76	0.135	21	5.21E-07
Nicolac N et al. (2009)	EUR (Croacia)	0.607	277	0.393	179	0.003	0.382	87	0.452	103	0.167	38	7.13E-07
Sesti G et al. (2009)	EUR (Italia)	0.642	674	0.358	376	0.001	0.385	202	0.514	270	0.101	53	9.03E-08
Ragia G et al. (2012)	EUR (Grecia)	0.668	235	0.332	117	1.13E-04	0.455	80	0.426	75	0.119	21	1.39E-09
Filipenco et al. 2015	Rusia	0.649	1926	0.351	1042	3.93E-04	0.428	635	0.442	656	0.130	193	1.40E-08
Chistiakov DA et al. (2009)	Rusia	0.496	128	0.504	130	0.172	0.217	28	0.558	72	0.225	29	0.017
He YY et al. (2008)	EAS (China)	0.620	124	0.380	76	0.002	0.350	35	0.540	54	0.110	11	1.18E-06
Yokoi N et al. (2006)	EAS JPT	0.614	1954	0.386	1226	0.002	0.384	610	0.462	734	0.155	246	5.37E-07
Shimajiri et al. (2013)	EAS JPT	0.607	260	0.393	168	0.003	0.374	80	0.467	100	0.159	34	1.11E-06
Rastegari et al. (2015)	SAS (Irán)	0.400	16	0.600	24	1.000	0.150	3	0.500	10	0.350	7	0.078

HJ = muestra de pacientes con diabetes del Hospital Juárez; AFR = africanos; EAS = Asia del este; SAS = Asia del sureste; EUR = europeos; IBS = población ibérica en España; AMR = mestizos americanos; CLM = colombianos de Medellín, Colombia; MXL = mexicano-estadounidenses de Los Ángeles; EJA; PEL = peruanos de Lima, Perú; PUR = puertorriqueños, Puerto Rico; MM = mestizos mexicanos con DMT2; YCN = mestizos con DMT2 de Yucatán; MYN = mayas con DMT2; p% = prueba de independencia de χ^2 . Los resultados en **negrita** representan las únicas poblaciones que no fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$ IC 95%).

**Cuadro 5.** Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de ABCC8 rs1799859 (R1273R).

Autor (año)	Población	G	n	A	n	p¥	GG	n	GA	n	AA	n	p¥
	HJ	0.418	61	0.582	85		0.164	12	0.507	37	0.329	24	
Auton et al. (2015)	AFR	0.230	304	0.770	1018	4.29E-03	0.053	35	0.354	234	0.593	392	2.81E-04
	EAS	0.913	920	0.087	88	1.00E-14	0.833	420	0.159	80	0.008	4	4.91E-24
	SAS	0.708	692	0.292	286	3.10E-05	0.497	243	0.421	206	0.082	40	3.62E-08
	EUR	0.730	734	0.270	272	6.68E-06	0.545	274	0.370	186	0.085	43	3.23E-09
	IBS	0.743	159	0.257	55	2.53E-06	0.551	59	0.383	41	0.065	7	4.21E-10
	AMR	0.576	400	0.424	294	0.025	0.320	111	0.513	178	0.167	58	0.005
	CLM	0.521	98	0.479	90	0.144	0.223	21	0.596	56	0.181	17	0.050
	MXL	0.672	86	0.328	42	2.86E-04	0.438	28	0.469	30	0.094	6	1.43E-06
	PEL	0.494	84	0.506	86	0.280	0.235	20	0.518	44	0.247	21	0.293
	PUR	0.635	132	0.365	76	0.002	0.404	42	0.462	48	0.135	14	7.30E-05
Gonen et al. (2012)	SAS	0.519	140	0.481	130	1.52E-01	0.111	15	0.815	110	0.074	10	2.62E-06
	(Turquía)												
Nicolac et al. (2009)	EUR	0.776	354	0.224	102	1.68E-07	0.596	136	0.36	82	0.044	10	2.76E-12
	(Croacia)												
Rissanen et al. (2000)	EUR	0.870	35	0.130	5	6.32E-12							
	(Finlandia)												
Odgerel et al. (2012)	EAS	0.670		0.330		3.12E-04							
	(Mongolia)												

HJ = muestra de pacientes con diabetes del Hospital Juárez; AFR = africanos; EAS = Asia del este; SAS = Asia del sureste; EUR = europeos; IBS = población ibérica en España; AMR = mestizos americanos; CLM = colombianos de Medellín, Colombia; MXL = mexicoamericanos de los Ángeles, USA; PEL = peruanos de Lima, Perú; PUR = puertorriqueños, Puerto Rico; MM = mestizos mexicanos con DMT2; p¥ = prueba de independencia de χ^2 . Los resultados en **negrita** representan las únicas poblaciones que no fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$ IC 95%).

Cuadro 6. Efecto del alelo de riesgo de E23K (*KCNJ11*) y R1273R (*ABCC8*) en pacientes mexicanos con diabetes mellitus tipo 2.

	E23K		R1273R	
	CC	CT+TT	GG	A/G+AA
	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE
N	5	60	11	62
Edad (años)	60 $\pm$ 6	59 $\pm$ 10	55 $\pm$ 12	59 $\pm$ 10
Evolución (años)	7 $\pm$ 6	7 $\pm$ 7	6 $\pm$ 3	8 $\pm$ 7
IMC	25.5 $\pm$ 1	28.5 $\pm$ 4.29	29.5 $\pm$ 3.83	28.27 $\pm$ 4.47
Glucosa (mg/dL)	223 $\pm$ 145	186 $\pm$ 83	193 $\pm$ 83	189 $\pm$ 91
Colesterol (mg/dL)	193 $\pm$ 31	188 $\pm$ 42	191 $\pm$ 51	189 $\pm$ 38
Triglicéridos (mg/dL)	177 $\pm$ 54	177 $\pm$ 88	151 $\pm$ 46	181 $\pm$ 89
Insulina (mIU/dL)	11.74 $\pm$ 14.83	10.33 $\pm$ 13.79	10.72 $\pm$ 11.60	10.25 $\pm$ 13.57
Péptido C (ng/mL)	5.14 $\pm$ 3.29	5.41 $\pm$ 3.43	4.80 $\pm$ 2.36	5.79 $\pm$ 3.86

IMC = índice de masa corporal. Alelo de riesgo subrayado. Modelo dominante. * $p < 0.05$.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado como parte del cumplimiento de plan académico del Doctorado del Postgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, apoyado por el Proyecto PAPIIT IN203418 DGAPA-UNAM.

REFERENCIAS

- Villalpando S, de la Cruz V, Rojas R, Shamah-Levy T, Avila MA, Gaona B, et al. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. *Salud Publica Mex* 2010; 52 Suppl 1: S19-26.
- Hernández AM. Proyecto de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes; para quedar como Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-015-SSA2-2007, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. S.d. Gobernación, Editor 2008.
- Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martínez R, Hernández-Ávila M. Type 2 diabetes and frequency of prevention and control measures. *Salud Publica Mex* 2013; 55 Suppl 2: S137-43.
- Hernández AM, Rivera DJ, Shamah-Levy T, Cuevas NL, Gómez AML, Gaona PE, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016: Informe final de resultados. S.d. Salud, Editor 2016. p. 151.
- Barraza-Lloréns M, Guajardo-Barrón V, Picó J, García R, Hernández C, Mora F, et al. Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013. México: Funsalud; 2015. p. 131.
- Standards of Medical Care in Diabetes-2016: summary of revisions. *Diabetes Care* 2016; 39 Suppl 1: S4-5.
- Colagiuri S. Global guideline for type 2 diabetes. Bélgica: I.D. Federation; 2012. p. 123.
- Genuth S. Should sulfonylureas remain an acceptable first-line add-on to metformin therapy in patients with type 2 diabetes? No, it's time to move on! *Diabetes Care* 2015; 38(1): 170-5.
- Zarate A, Barsuto L, Saucedo R, Hernández-Valencia M. Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010; 3(48): 293-6.
- Altagracia-Martínez M, Kravzov J, Moreno MR, Rubio C, Skromne D, Rivas MS, et al. Diabetes mellitus tipo 2: ventas de los hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 2007; 38(001): 23-33.
- Bryan J, Crane A, Vila-Carriles WH, Babenko AP, Aguilar-Bryan L. Insulin secretagogues, sulfonylurea receptors and K(ATP) channels. *Curr Pharm Des* 2005; 11(21): 2699-716.
- Proks P, Ashcroft FM. Modeling K(ATP) channel gating and its regulation. *Prog Biophys Mol Biol* 2009; 99(1): 7-19.
- Vedovato N, Ashcroft FM, Puljung MC. The nucleotide-binding sites of SUR1: a mechanistic model. *Biophys J* 2015; 109(12): 2452-60.
- Flanagan SE, Clauin S, Bellanne-Chantelot C, de Lonlay P, Harries LW, Gloyn AL, et al. Update of mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K(ATP) channel subunits Kir6.2 (*KCNJ11*) and sulfonylurea receptor 1 (*ABCC8*) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 2009; 30(2): 170-80.
- Gloyn AL, Siddiqui J, Ellard S. Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (*KCNJ11*) and SUR1 (*ABCC8*) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 2006; 27(3): 220-31.
- Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, et al. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms *KCNJ11* E23K and *ABCC8* A1369S influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 2007; 56(2): 531-6.
- Zhou D, Zhang D, Liu Y, Zhao T, Chen Z, Liu Z, et al. The E23K variation in the *KCNJ11* gene is associated with type 2 diabetes in Chinese and East Asian population. *J Hum Genet* 2009; 54(7): 433-5.
- Schwanstecher C, Neugebauer B, Schulz M, Schwanstecher M. The common single nucleotide polymorphism E23K in K(IR)6.2 sensitizes pancreatic beta-cell ATP-sensitive potassium channels toward activation through nucleoside diphosphates. *Diabetes* 2002; 51 Suppl 3: S363-7.
- Laukkanen O, Pihlajamäki J, Lindstrom J, Eriksson J, Valle TT, Hamalainen H, et al. Polymorphisms of the SUR1 (*ABCC8*) and Kir6.2 (*KCNJ11*) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. The Finnish Diabetes Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(12): 6286-90.
- He YY, Zhang R, Shao XY, Hu C, Wang CR, Lu JX, et al. Association of *KCNJ11* and *ABCC8* genetic polymorphisms with response to repaglinide in Chinese diabetic patients. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29(8): 983-9.
- Alsmadi O, Al-Rubeaan K, Wakil SM, Imtiaz F, Mohamed G, Al-Saud H, et al. Genetic study of Saudi diabetes (GSSD): significant association of the *KCNJ11* E23K polymorphism with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; 24(2): 137-40.
- Koo BK, Cho YM, Park BL, Cheong HS, Shin HD, Jang HC, et al. Polymorphisms of *KCNJ11* (Kir6.2 gene) are associated with type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. *Diabet Med* 2007; 24(2): 178-86.
- Hamming KS, Soliman D, Maternisz LC, Niazi O, Lang Y, Gloyn AL, et al. Coexpression of the type 2 diabetes susceptibility gene variants *KCNJ11* E23K and *ABCC8* S1369A alter the ATP and sulfonylurea sensitivities of the ATP-sensitive K(+) channel. *Diabetes* 2009; 58(10): 2419-24.
- Javorsky M, Klimcakova L, Schroner Z, Zidzik J, Babjakova E, Fabianova M, et al. *KCNJ11* gene E23K variant and therapeutic response to sulfonylureas. *Eur J Intern Med* 2012; 23(3): 245-9.
- Gloyn AL, Hashim Y, Ashcroft SJ, Ashfield R, Wiltshire S, Turner RC. Association studies of variants in promoter and coding regions of beta-cell ATP-sensitive K-channel genes SUR1 and Kir6.2 with Type 2 diabetes mellitus (UKPDS 53). *Diabet Med* 2001; 18(3): 206-12.
- Klen J, Dolzan V, Janez A. CYP2C9, *KCNJ11* and *ABCC8* polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2014; 70(4): 421-8.
- Sanchez-Ibarra HE, Reyes-Cortes LM, Jiang XL, Luna-Aguirre CM, Aguirre-Trevino D, Morales-Alvarado IA, et al. Genotypic and phenotypic factors influencing drug response in Mexican patients with type 2 diabetes mellitus. *Front Pharmacol* 2018; 9: 320.
- Tarasov AI, Nicolson TJ, Riveline JP, Taneja TK, Baldwin SA, Baldwin JM, et al. A rare mutation in *ABCC8*/SUR1 leading to altered ATP-sensitive K+ channel activity and beta-cell glucose sensing is associated with type 2 diabetes in adults. *Diabetes* 2008; 57(6): 1595-604.



29. Yu M, Xu XJ, Yin JY, Wu J, Chen X, Gong ZC, et al. *KCNJ11* Lys23Glu and TCF7L2 rs290487(C/T) polymorphisms affect therapeutic efficacy of repaglinide in Chinese patients with type 2 diabetes. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 87(3): 330-5.
30. Nikolac N, Simundic AM, Katalinic D, Topic E, Cipak A, Zjacic Rotkovic V. Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR-1) but not with *KCNJ11* polymorphisms. *Arch Med Res* 2009; 40(5): 387-92.
31. Parra EJ, Cameron E, Simmonds L, Valladares A, McKeigue P, Shriver M, et al. Association of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in Mexico City. *Clin Genet* 2007; 71(4): 359-66.
32. Acuna-Alonzo V, Flores-Dorantes T, Kruit JK, Villarreal-Molina T, Arellano-Campos O, Hunemeier T, et al. A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Hum Mol Genet* 2010; 19(14): 2877-85.
33. Gamboa-Melendez MA, Huerta-Chagoya A, Moreno-Macias H, Vazquez-Cardenas P, Ordonez-Sanchez ML, Rodriguez-Guillen R, et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican Mestizo population. *Diabetes* 2012; 61(12): 3314-21.
34. 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*, PPARGgamma, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene* 2015; 565(1): 68-75.
35. Rodríguez-Rivera NS, Cuautle-Rodríguez P, Castillo-Najera F, Molina-Guarneros JA. Identification of genetic variants in pharmacogenetic genes associated with type 2 diabetes in a Mexican-Mestizo population. *Biomed Rep* 2017; 7(1): 21-8.
36. Aguilar-Juárez M. Caracterización de los polimorfismos T259T del gen Sur-1 y E23K del gen Kir 6.2 en pacientes Mexicanos con DMT2 en tratamiento con sulfonilureas. Ciudad de México: Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional; 2009. p. 117.
37. Li L, Shi Y, Wang X, Shi W, Jiang C. Single nucleotide polymorphisms in K(ATP) channels: muscular impact on type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54(5): 1592-7.
38. van Dam RM, Hoebee B, Seidell JC, Schaap MM, de Bruin TW, Feskens EJ. Common variants in the ATP-sensitive K⁺ channel genes *KCNJ11* (Kir6.2) and *ABCC8* (SUR1) in relation to glucose intolerance: population-based studies and meta-analyses. *Diabet Med* 2005; 22(5): 590-8.
39. Gloyn AL, McCarthy MI. Genetics: how the UKPDS contributed to determining the genetic landscape of type 2 diabetes. *Diabet Med* 2008; 25 Suppl 2: 35-40.
40. Sesti G, Laratta E, Cardellini M, Andreozzi F, Del Guerra S, Irace C, et al. The E23K variant of *KCNJ11* encoding the pancreatic beta-cell adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channel subunit Kir6.2 is associated with an increased risk of secondary failure to sulfonylurea in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(6): 2334-9.
41. Shimajiri Y, Yamana A, Morita S, Furuta H, Furuta M, Sanke T. Kir6.2 E23K polymorphism is related to secondary failure of sulfonylureas in non-obese patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig* 2013; 4(5): 445-9.
42. El-Sisi AE, Hegazy SK, Metwally SS, Wafa AM, Dawood NA. Effect of genetic polymorphisms on the development of secondary failure to sulfonylurea in Egyptian patients with type 2 diabetes. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2011; 2(4): 155-64.
43. Gonen MS, Arikoglu H, Erkoc Kaya D, Ozdemir H, Ipekci SH, Arslan A, et al. Effects of single nucleotide polymorphisms in K(ATP) channel genes on type 2 diabetes in a Turkish population. *Arch Med Res* 2012; 43(4): 317-23.
44. Rissanen J, Markkanen A, Karkkainen P, Pihlajamäki J, Kekalainen P, Mykkanen L, et al. Sulfonylurea receptor 1 gene variants are associated with gestational diabetes and type 2 diabetes but not with altered secretion of insulin. *Diabetes Care* 2000; 23(1): 70-3.
45. Odgerel Z, Lee HS, Erdenebileg N, Gandbold S, Luvsanjamba M, Sambuughin N, et al. Genetic variants in potassium channels are associated with type 2 diabetes in a Mongolian population. *J Diabetes* 2012; 4(3): 238-42.
46. Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015; 526(7571): 68-74.
47. Rastegari A, Rabbani M, Sadeghi HM, Imani EF, Hasanzadeh A, Moazen F. Association of *KCNJ11* (E23K) gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in Iranian patients. *Adv Biomed Res* 2015; 4: 1.
48. Gloyn AL. The search for type 2 diabetes genes. *Ageing Res Rev* 2003; 2(2): 111-27.
49. Yokoi N, Kanamori M, Horikawa Y, Takeda J, Sanke T, Furuta H, et al. Association studies of variants in the genes involved in pancreatic beta-cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. *Diabetes* 2006; 55(8): 2379-86.
50. Chistiakov DA, Potapov VA, Khodirev DC, Shamkhalova MS, Shestakova MV, Nosikov VV. Genetic variations in the pancreatic ATP-sensitive potassium channel, beta-cell dysfunction, and susceptibility to type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2009; 46(1): 43-9.
51. Sokolova EA, Bondar IA, Shabelnikova OY, Pyankova OV, Filipenko ML. Replication of *KCNJ11* (p.E23K) and *ABCC8* (p.S1369A) Association in Russian Diabetes Mellitus 2 type cohort and meta-analysis. *PLoS One* 2015; 10(5): e0124662.
52. Calvillo R, Ramírez A. Boletín del Sistema de Vigilancia Hospitalaria de Diabetes Tipo 2. D.G.d.E. Secretaría de Salud; 2013. p. 38.

Solicitud de sobretiros:

Juan Molina-Guarneros
 Nidia Samara Rodríguez-Rivera
 Universidad Nacional Autónoma de México,
 Facultad de Medicina, Departamento de Farmacología,
 Laboratorio de Inmunofarmacología.
 Av. Universidad Núm. 3000,
 Copilco Universidad, C.P. 04510,
 Ciudad de México, México.
 Teléfono: 56232164
 Correo electrónico: jamg@unam.mx
 nidia.rodriguez@comunidad.unam.mx

APÉNDICE III

TRES ARTÍCULOS

DE

REVISIÓN

Mini Review

Patricia Cuautle-Rodríguez, Adrián Llerena and Juan Molina-Guarneros*

Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico

Abstract: Drug costs account for up to 24% of the country's health expenditure and there are 13,000 registered drugs being prescribed. Diabetes is the main cause of death in the country, with over 85% of diabetic patients currently under drug treatment. The importance of knowing interindividual variability in drug metabolism on Mexican populations is thus evident. The purpose of this article is to provide an overlook of the current situation of pharmacogenetic research in Mexico, focusing on drug-metabolizing enzymes, and the possibility of developing a phenotyping cocktail for Mexican populations. So far, 21 pharmacogenetic studies on Mexican population samples (Mestizos and Amerindian) have been published. These have reported interindividual variability through phenotyping and/or genotyping cytochromes: CYP2D6, 2C19, 2C9, 2E1, and phase II enzymes UGT and NAT2. Some cytochromes with important clinical implications have not yet been phenotyped in Mexican populations. The development of a cocktail adapted to them could be a significant contribution to a larger knowledge on drug response variability at a lower price and shorter time. There are validated phenotyping cocktails that present several practical advantages, being valuable, safe, and inexpensive tools in drug metabolism characterization, which require only a single experiment to provide information on several cytochrome activities.

Keywords: cytochrome P450; drug-metabolizing enzymes; interindividual variability; pharmacogenetics; phenotyping cocktails.

***Corresponding author: Juan Molina-Guarneros, MD,** Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, National Autonomous University of Mexico, Mexico City, Mexico; and Av. Universidad 3000 Ed. D 1er. Piso, Facultad de Medicina, Ciudad Universitaria, Distrito Federal, CP04510, E-mail: jamg@unam.mx

Patricia Cuautle-Rodríguez: Faculty of Medicine, Research Division, National Autonomous University of Mexico, Mexico City, Mexico

Adrián Llerena: CICAB Clinical Research Center, Extremadura University Hospital and Medical School, Servicio Extremeño de Salud, Badajoz, Spain

Pharmacogenetics and the main problems of mortality and morbidity in Mexico

In Mexico, pharmacogenetics is still in its infancy; particularly, the branch connected to drug metabolism has yet to be consolidated. Among the general population, the main cause of death is diabetes and its complications, followed by cardiovascular problems [1, 2]. This disease has a prevalence of 14%, and it is calculated that in Mexico there are 8 million diabetic patients; 85% of them are treated with oral hypoglycemics, mainly sulfonylureas, metformin, or both [3]. Hypoglycemic agents like glibenclamide are metabolized mainly by CYP2C9 [4]. Glibenclamide and a combination of this with metformin are the best-selling glycemia-control drugs in Mexico, and this particular market has shown a general rising trend, with an increase of 141% between 1999 and 2003 [5]. The sulfonylurea/biguanide combinations are the best-selling hypoglycemic agents, having passed from 57.33% in 1999 to 56.03% in Mexico in 2003. The monthly cost of glibenclamide treatment is 54.00 Mexican pesos [5, 6].

In a meta-analysis published in 2012, Díaz reports the success odds ratios of various treatments prescribed in Mexico for diabetic outpatients: 6.76 (metformin-glibenclamide), 5.82 (glibenclamide), 3.86 (metformin), and 3.5 (acarbose) [6].

CYP2C9 polymorphisms may modify drug response, yielding enzymes on altered activity and, consequently, circulating drug levels above or below the expected concentration, increasing the risk of adverse drug reactions or decreasing their efficacy. One of the benefits of pharmacogenetics is that it optimizes recommended drug dosages [7].

In 2011, Surendiran et al. found a significant association between *CYP2C9**1/*1 genotypes and the lack of control of diabetic Hindi patients receiving combined therapy with metformin and glibenclamide [4].

*CYP2C9**1 variant frequency is higher in Mexicans (Mexican Mestizos, 82.4%; Amerindian, 95%) compared

to Caucasians (76%) [8], and according to ENSANUT 2006, 94.65% of treated diabetic patients in Mexico are still uncontrolled [3]. In Mexico, there are no studies on CYP2C9 in diabetic patients. Pharmacogenetic research on drug metabolism has focused on studies in healthy volunteers and has not been associated with major health problems.

CYP2C9 allelic variant frequencies are still unknown in several Mexican populations. Extensive metabolizer frequencies and those of the more recently described ultrarapid metabolizers of CYP2C9 are also unknown [7]. It would be of great interest to genotype and phenotype a wide population sample in several geographical areas due to the large number of native groups in our country.

Regulatory framework for health research in Mexico and its infrastructure

In 1943, the Mexican Government created the Public Health and Assistance Office, today the Health Office that regulates, controls, and promotes sanitary issues and policies. On February 7, 1984, the General Health Law was published [9] followed by a decree in December 1986, containing the Law's regulations in matters of health research [10]. In its second title, this code deals with the ethical implications of research in human beings, and on its third title it deals with research on new prophylactic, diagnostic, therapeutic, and rehab resources. This last title, on its second chapter, deals with pharmacological research. Finally, chapter 3 deals with research on other new resources. In 2003, the Mexican government created the Federal Protection Commission against Sanitary Risks (COFEPRIS, by its Spanish acronym) as the Health Office's decentralized organ [11]. One of the remits of this commission is to exercise the regulation, control, vigilance, and promotion of health issues and to determine national policies on protection against health risks and their implementation in the following areas: health establishments; drugs and other health supplies; disposal of organs, tissues, human cells, and their components; prevention and control of harmful effects on human health originating from environmental factors; occupational health and basic sanitation. All this is done in coordination with state and federal district governments [11].

Biomedical research in Mexico takes place fundamentally in public institutions: 12 National Health Institutes, higher education institutions (state and national universities as well as technology institutes) financed through

subsidies by the Mexican government and, complementarily, by the National Science and Technology Council (CONACYT, by its Spanish acronym), which provides resources through open contests between researches from all over the country.

Pharmacogenetics concerning drug-metabolizing enzymes in the Mexican population

Today's Mexican population consists of Mexican Mestizos (93%) and 65 Amerindian-origin groups [12].

Mexican Mestizos are the resulting breed of different ancestral components, and differences among this genetic contribution have been linked to the various geographical areas in Mexico. Studies in Northern population samples (Monterrey, Nuevo León) have shown a larger contribution of the European component (38% vs. 30%) and a smaller presence of the Amerindian component (56% vs. 65%) compared to Mexico City's Mestizo population, whereas the African component is very similar (4% vs. 5%) [13].

In Mexico, research linking health and genetics has been focused mainly on identifying the genomic basis (candidate genes) of the most frequent diseases (diabetes, obesity, and cardiovascular pathologies), biomarkers for several kinds of cancer and nutrigenomics [14].

Pharmacogenetic studies in Mexican population samples: phase I and II biotransformation enzymes

In the past 22 years, 28 genotyping and/or phenotyping studies on phase I and phase II drug-metabolizing enzymes have been reported in Mexican population samples.

The first contributions took place abroad, using Mexican-American samples (seven studies) by groups of foreign researchers at institutes and universities in the USA (Texas and Los Angeles, CA, USA), and using Mexican Mestizo samples (three studies) with the contribution of one Mexican researcher.

In 1991, Lam published a first report on Mexican-Americans (cited by Mendoza), identifying a larger metabolic rate (2.7 times) of dextromethorphan/dextrorphan in hypothyroid individuals compared to euthyroid individuals [15]. The most recent report on Mexican-Americans (2007) consisted of a haplotype polymorphism analysis of CYP2E1 associated with alcoholic cirrhosis [16].

The first international collaboration of a Mexican institution in this field (1999) was a CYP2E1 phenotyping study with chlorzoxazone in which this cytochrome was identified as inducible by volatile organic solvents in Mexican Mestizos (León, Guanajuato) [17]. The most recent collaboration dates from 2013: a report on CYP2C9 in eight indigenous populations from Northwestern Mexico [18].

Pharmacogenetic research in Mexico is now represented by 18 publications by national researchers on Mexican Mestizo samples. These started in 2003 with a study on CYP2C19 and CYP3A4's participation in omeprazole's metabolism in Mexican Mestizos (Guadalajara, Jalisco) [19]. From this year on, the number of articles published by Mexicans increased, mainly about CYP P450 in Mexican Mestizos, and subsequently Amerindian groups (Tepehuano, Tzotzil, Maya, etc.) were included.

The largest scientific productivity in this area has been reached in 2005 and 2008 with three papers and six publications related to drug metabolic enzymes in 2012 (genotyping and/or phenotyping). Studied cytochromes among Mexicans (Mestizo and/or Amerindian) are CYP2D6, 2C9, 2C19, 2E1, 3A4, and phase II enzymes GST, UGT, and NAT2.

In 2005 the first pheno-genotyping study on an Amerindian group (Tepehuano from Durango) assessed CYP2D6 [20].

It has to be noted that in the first case studies and controls, the sizes of the Mexican population samples used in pharmacogenetic research were very small (<30 individuals). In contrast, samples from over 100 to 200 individuals were used in the study on activity modulation of drug metabolic enzymes in Mexican Mestizos and Mexican-Americans. There also have been studies on Mestizos from Guerrero, Sonora, Guanajuato, Veracruz, Yucatán, and Zacatecas using samples of <50 individuals.

The first studies on Amerindian population samples (Durango's Tepehuano) used 55 subjects. With other groups (Maya, Mixtec, and Zapotec) the sample size was 30.

Studies on drug metabolism in Mexicans (Americans, Mestizos, and Amerindians)

Of the 28 studies on pharmacogenetics in Mexican population samples, 20 have been focused on enzymes related to drug metabolism (Table 1), and 8 more have been related to diseases such as cancer and alcoholic cirrhosis.

Phase I metabolic enzymes

CYP P450

CYP2D6 polymorphism has been the most studied enzyme in the Mexican population (nine publications).

In Mexican-Americans (Los Angeles, CA, USA), nine slow metabolizers were identified (3.2%) by using dextromethorphan/dextrorphan metabolic ratio (DM/DX). The poor metabolizers (PMs) in this ethnic group are present at a lower rate than the 4.5% cited in 22 Mexican-Americans in Texas. Frequencies of CYP2D6*1, *2, *3, *4 (null activity), *4XN, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *14, *17, *29, *41, and *XN have also been determined [15, 21]. The most common variants were *1, *2 and *4. Fifty percent of PMs were homozygous for allele *4. Functional variants frequency was 73.1% (CYP2D6*1 and *2) and 26.1% of diminished enzymatic capability variants [15, 21]. The CYP2D6 allele frequencies are shown in Table 1.

A 2005 study by López et al. identified the following frequencies in Mexico City Mestizos: *2, *3, *4, *5, *10, *17, and XN (Table 1). Heterozygous (wild type/mutant) was 35.80%, homozygous (*1/*1) 24.28%, and heterozygous (mutant/mutant) 22.63%. Final results revealed that the most common variants in this sample were *1, *2, *4, and *10 [25]. In this case, the phenotyping substrate was dextromethorphan, and the anti-mode value of 0.3 described for Caucasians was used. PMs in Mexican Mestizos were reported at 10% under this anti-mode value [25].

In 2006 and 2010 studies (Sosa et al.), Durango Mestizos presented bimodal distribution (DM/DX) at 6.8% (six slow metabolizers, four of whom were *4/*4 genotype) of PMs. CYP2D6*2A, *3, *4, *6, *10, and *35 alleles were determined [23]. The most frequent genotypes were *1/*1 (73.6 5%), *1/*4 (17.3%), and *4/*4 (3.6%) [23, 24]. Tepehuano presented unimodal distribution, no slow metabolizers, and CYP2CD6's allelic variant frequencies were reported (Table 1) as follows: *1, *2A, *5, *41, and *XN [20, 23, 24].

The CYP2D6 gene has been re-sequenced on Mexican Mestizos (Guanajuato, Veracruz, Yucatán, and Zacatecas) and Amerindians (Tepehuano, Maya, Mixtec, and Zapotec) in a 2011 study, which reported 14 new variants, 13 SNPs, and a conversion to CYP2D7 (*85) in the exon discovered [22]. The frequencies of functional allele variants *1 and *2 were 50% (3.2% of the new variants) and 25.5% (18.6% present three new variants), respectively, whereas *4 was 14%. Two new haplotypes were found: *1661 and *4180 at 3.2% in the Sonora volunteers and 1.3% in the Guerrero volunteers. Variant *82 was found in three of four Amerindian groups (Mixtec, Tepehuano, and Mayas) and four Mexican Mestizo groups (Yucatán, Zacatecas, Durango, and Veracruz) [22].

Table 1 Most-studied allelic frequencies of drug-metabolizing enzymes in Mexican populations.

Enzyme	Studied population [reference]	Allelic frequencies variants, %
CYP2D6	Mexican-Americans Los Angeles, CA (n=349) [15]	*1=55.2, *2=22.8, *3=0.3, *4=10.3, *5=2.3, *10=7.4, *17=0.7, XN=1.0
	Los Angeles, CA (n=264) [21]	*1=55.1, *2=18.0, *3=0.2, *4=10.0, *5=1.7, *6=0.4, *9=1.1, *10=2.8, *17=0.2, *29=0.2, *41=9.5, XN=0.8
	Mexican Mestizos Zacatecas (n=30) [22]	*82=1.67
	Durango (n=110, 112) [23, 24]	*1=83.6, *2A=10.7, *3=0.9, *4=13.1, *5=1.3, *10=2.3, *35=4.1, *41=2.2, XN=4.1
	Mexico City (n=243) [22, 25]	*1=38.48, *2=19.34, *3=1.44, *4=11.21, *5=2.67, *10=12.45, *17=1.65, XN=12.76
	Guadalajara (n=125) [22]	*1=93.2, *3=1.2, *4=5.6
	Sonora (n=46) [22]	*1=39.1, *2=34.8, *4=14.1, *5=2.1, *10=3.3, *53=1.1, XN=4.3, *1661=3.2, *4180=3.2, *82=0.0
	Guerrero (n=50) [22]	*1=60, *2=17, *4=14, *5=2.0, *10=2.0, *29=2.0, *82=4.0, XN=3.0, *1661=1.0, *4180=1.0
	Yucatán [22]	*82=3.4
	Guanajuato [22]	*82 was not founded
	Veracruz [22]	*82 was not founded
	Amerindians Tepehuano, (Durango) (n=101, 99, 30) [22–24, 26]	*1=99.4, *2A=20, XN=1.0–1.5, *4=0.6, *35=1.5, *5=0.5, *41=1.0, *82=3.3
	Tzotzil, (Chiapas) (n=56) [26]	*1=97.3, *4=2.7, *3, *6, *7, and *8 were not observed
	Tarahumara, (Chihuahua) (n=88) [26]	*1=92.7, *4=7.3, *3, *6, *7, and *8 were not observed
	Purépecha, (Michoacán) (n=85) [26]	*1=97.1, *4=2.9, *3, *6, *7, and *8 were not observed
	Tojolabal, (Chiapas) (n=43) [26]	*1=98.8, *4=1.2, *3, *6, *7, and *8 were not observed
	Tzeltal, (Chiapas) (n=19) [26]	*1=94.7, *4=5.3, *3, *6, *7, and *8 were not observed
	Maya, (Campeche) (n=30) [22]	*82=1.67
	Mixtec, (Oaxaca) (n=30) [22]	*82=5.0
	Zapotec, (Oaxaca) (n=30) [26]	*82 was not observed
CYP2C19	Mexican-Americans Los Angeles, CA (n=346) [27]	*1=90.2, *2=9.7, *3=0.1
	Mexican Mestizos Guadalajara, Jalisco (n=145) [28]	*1=93.1, *2=6.9
	Amerindians Purépecha, (Michoacán) (n=101) [26]	*1=94.6, *2=5.4
	Tojolabal, (Chiapas) (n=68) [26]	*1=96.3, *2=3.6
	Tzotzil, (Chiapas) (n=88) [26]	*1=94.3, *2=5.6
	Tzeltal, (Chiapas) (n=20) [26]	*1=100
	Tarahumara (Chihuahua) (n=84) [18]	*1=69, *2=31
CYP3A4	Mexican Mestizos Durango (n=100) [28]	*1B=8.8
	Amerindians Tepehuano, (Durango) (n=100) [28]	*1B=8.0, *2=0.01
CYP2C9	Mexican-Americans Los Angeles, CA (n=98) [29]	*1=86, *2=8, *3=6
	Mexican Mestizos Durango (n=102) [8]	*2=7, *3=1.5, *6=0.5
	Amerindians Tepehuano, (Durango) (n=99, 127) [8, 18]	*1=92.5, *2=0.0, *3=7.5
	Mexicanero, (Durango) (n=38) [18]	*1=100
	Huichol, (Durango) (n=107) [18]	*1=96.7, *2=0.0, *3=3.3
	Cora (Nayarit) (n=81) [18]	*1=96.3, *2=0.0, *3=3.7
	Tarahumara (Chihuahua) (n=74) [18]	*1=89.6, *2=0.0, *3=10.4
	Seri (Sonora) (n=19) [18]	*1=97.4, *2=2.6, *3=0.0
	Guarijio, (Sonora) (n=15)	*1=93.3, *2=0.0, *3=6.7
	Mayo, (Sonora) (n=44) [18]	*1=85.2, *2=5.7, *3=9.1
NAT2	Mexican Mestizos Mexicali (Baja California) (n=25) [30]	*4=20, *5A=2, *5B=34, *5C=6, *6A=24, *7A=14
	Mexico City (n=250) [31]	191=1, 282=31, 341=31.6, 481=29.2, 590=16, 803=35.8, and 857=12.5
UGT	Mexican Mestizos Mexico City (n=248) [32]	wt=75.8, *1b=7.6, *2=3.4, *3b=13.1

In a 2012 study (Salazar et al.), Western Mexico Mestizos were found to present *CYP2D6**3, *4, *6, *7, and *8. Only one of these variants (*4) was observed in five Amerindian samples (Tarahumara, Purépecha, Tojobal, Tzotzil, and Tzeltal), in which the wild-type allele (*1) was predominant (Table 1) [26].

CYP2C19

*CYP2C19**2 and *3 (null variants) are associated with PM status [27]. Mexican-Americans (Los Angeles, CA, USA) were found to present a bimodal distribution with *S*-mephenytoin substrate in which extensive metabolizers were found together with 3.2% of slow metabolizers. Genotype *1/*1 was 81%, whereas heterozygous genotypes were 18.5%. Only two individuals were found to be *2/*2, and none was *3/*3 [27].

In Guadalajara Mestizos, phenotyping was performed with omeprazole, which is metabolized into hydroxyomeprazole [19]. The distribution was found to be trimodal with 4% ultrametabolizers (UMs), 90% extensive metabolizers (EMs) and 6% PMs [19]. In Western Mestizo and Amerindian groups (Tarahumara, Purépecha, Tojobal, Tzotzil, and Tzeltal) *CYP2C19**1, *2, *3, *4, and *5 were detected (Table 1). The wild-type allele (*1) was predominant and *4 and *5 variants were not found. A high frequency of variant *2 was found in Tarahumaras (Table 1), and a *2/*2 genotype of 10.7%, which means a potentially poor metabolizer group. Furthermore, these frequencies are different from those reported for Guadalajara Mestizos [18].

CYP3A4

CYP3A4 contributes to the metabolism of approximately half of the drugs in clinical use today.

In a phenotyping study of Mexican-Americans, data very similar to those of European populations were obtained using midazolam [33]. In Durango Mestizos and Tepehuano, *CYP3A4**1B, *2, *4, *5, and *18 were determined [28]. Variant *2 was identified in one individual; variants *4, *5, and *18 were not found.

In Guadalajara Mestizos, phenotyping with omeprazole and its sulfone metabolite revealed a multimodal distribution, with 9% ultrametabolizers (UMS), 80% EMs, and 11% PMs [19].

CYP2C9

In 2004, Llerena et al. [29] found that the most common genotypes of *CYP2C9* in Mexican-American volunteers

were *1/*1 (74%), *1/*2 (15%), and *1/*3 (10%). Homozygous *2/*2 and *3/*3 were not found. The frequencies on the *CYP2C9* allele are shown in Table 1.

In 2011, Dorado et al. found that in Mexican Mestizos [8] the genotype frequency was *1/*1: 82.4%, and *1/*2 or *3 (16.6%). The homozygous variants *2 and *3 were not found. These data differ from those reported in Spaniards (*1/*1; 60%; heterozygous: 39%; *2/*2: 2.4%, and *3/*3: 1%) and Mexican-Americans [29]. A *1/*1 genotype frequency of 94.9% was found in Tepehuano, whereas *1/*2 was 2.02% and *1/*3 was 3.03% [8].

In 2013, Sosa et al. reported that genotype *1/*1 was present in 100% of the Mexicanero sample [18], and it also was the most frequent in Seri (94.74%), Huichol (93%), Cora (92.59%), Guarijio (86.67%), and Tepehuano (86.61%) samples. Genotype *1/*2 was found only in two of the eight samples [Seri (5.26%) and Mayo (11.36%)], at higher frequencies than those reported in Asian populations. Genotype *1/*3 was found in six of the studied samples [Tarahumara (20.27%), Mayo (18.18%), Tepehuano (11.81%), Guarijio (13.33%), Huichol (6.54%), Cora (7.41%)]. Variant *6 was not found [18].

In Seri (5.26%) and Mayo (11.36%) samples, genotype *1/*2 was more frequent when compared with the other samples, whereas homozygous genotype variant *2 was not found [18].

Heterozygous genotype *1/*3 was found in Tarahumara (20.27%), Mayo (18.18%), Guarijio (13.33%), and Tepehuano (11.8%) samples. It was less frequent in Cora (7.41%) and Huichol (6.45%). Homozygous genotype *3/*3 (1.57%) was found only in the Tepehuano sample. A higher variant *3 frequency than in East Asian and African-American populations was found in Tarahumara, Tepehuano, and Mayo [18]. Allelic frequencies of *CYP2C9* in Mexican Mestizo and Amerindian groups are shown in Table 1.

Phase II metabolic enzymes

N-acetyl transferase 2 (NAT2)

NAT2 is encoded by a highly polymorphic gene. Phenotyping of healthy volunteers with isoniazid was reported in Baja, California, Mestizos, finding a bimodal distribution of extensive and slow acetylators. This study showed an association between genotype and acetylator phenotype (OR=7.78, 95% CI) [30]. *NAT2**4 is considered the wild type; the most prevalent alleles are shown in Table 1. *NAT2**4/*4 frequency was 11.6%, *5B/*5B: 24%, *4/*6A: 12%, and *6A/*A: 12%. The variant *4 and *4/*4 have been related to slow acetylators [30]. *NAT2* was sequenced

in Mexican Mestizo samples, and seven SNPs were found: 191, 282, 341, 481, 590, 803, and 857 [31] (Table 1).

Glutathione S-transferase (GST)

Variants *GSTM1* (43%) and *GSTT* (9.3%), which have null activity in Mexican-Americans, have been identified [32].

Glucuronosyl transferase (UGT)

UGT1A4 catalyzes 35% of all drugs metabolized by phase II enzymes. In healthy Mexican Mestizo individuals, the most common genotype was *wt/*3*; genotype *UGT1A4*2/*2* was not found. The allelic frequencies of *UGT1A4* are described in Table 1 [34].

Phenogenotyping techniques used in Mexican population samples

In 1991, the first phenotyping study (DM/DX) in Mexican-Americans was reported, and the first genotyping study of *CYP2D6* also in Mexican-Americans dates from 2001 [15, 17].

In 23 (16 of which correspond to genotyping and 7 to pheno-genotyping) of the 28 works on Mexican samples (Americans, Mestizos, or Amerindians), genetic studies aim to determine the frequencies of the different allelic variants. The other 5 correspond to phenotyping (determination of the enzyme's metabolic capability).

The phenotyped cytochromes in Mexicans are *CYP2D6* (dextromethorphan), *CYP2E1* (chlorzoxazone), *CYP2C19* (S-mephenytoin and omeprazole), *CYP3A4* (midazolam and omeprazole), and *NAT2* (isoniazid) [17, 19, 25].

Phenotyping samples were obtained either from blood (collected generally at 3 h after drug administration) or urine (collected 8 h later). In every case, the original drug and its metabolites were assayed by high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with either a UV detector or fluorescence [17, 19, 25]. These methods were used for both Mexican-American samples at US institutions as well as at Mexican hospitals, institutes, and universities that have this technology available [19, 26].

There are 16 publications in which only genotyping was performed. In these, venous blood samples were used, from which genomic DNA was extracted. The most commonly used technique for genotyping was RFLP-PCR

analysis (14 studies). In the most recent works, *CYP2E1*, and *UGT1A4* were studied in Mexico City Mestizos using this technique [16, 34]. Other techniques used are L-PCR (*CYP2D6*), nested PCR (*CYP2D6*), XLT-PCR (*CYP2D6*), and allelic discrimination by Taqman assay with real-time PCR (*CYP3A4*, *CYP2C9*). Since 2010, SNPs have been studied with more recent technologies such as sequencing (*CYP2D6*, and *NAT2*) or SNaPshot and capillary electrophoresis (*CYP2D6* and *CYP2C19*) [17–19, 25].

Drug costs and treatment of major health issues in Mexico

In 2007, drug costs in Mexico represented 24% of the country's health expenditure [35], reaching 1.4% of GDP. The Mexican Social Security Institute (IMSS; 43 million beneficiaries) accounts for 47.9% of public drug expenditure. It is followed by institutions attending the uninsured population with 26.8%, the Security and Service Institute for State Service Workers (ISSSTE) with 18.2%, and Mexican Petroleum's (PEMEX) Health Services with 7% [35].

An important fraction of drug expenditure in Mexico corresponds to *CYP2C9*-metabolized drugs, particularly oral hypoglycemics (glibenclamide), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), and oral anticoagulants (coumarin and warfarin) [3].

Pharmacogenetics research perspectives in Mexico

In 1989, the first cocktails were designed to test the induction and inhibition of various substrate metabolic enzymes [36] to elucidate common regulation or co-segregation of metabolic pathways of different compounds involving the administration of more than one test drug simultaneously from a single experiment (hence, intrasubject variability), and they have been developed with the subsequent drug/metabolite determination in plasma or urine through validated HPLC and/or mass spectrometry [37].

There are several cocktails to assess more clinically relevant drug metabolic enzymes (Pittsburgh, Karolinska, Cooperstown, Cooperstown 5+1, and Inje cocktails), which include *CYP1A2* (caffeine), *CYP2C9* (losartan, flurbiprofen, tolbutamide, warfarin), *CYP2D6* (debrisoquine, dextromethorphan), *CYP2C19* (omeprazole, mephenytoin), *CYP3A4* (midazolam, quinine, dapsone), and *NAT2* (dapsone), which are well tolerated [38–40].

Phenotyping has been conducted both on individual drugs and on the cocktail without any differences being found. It is important to use commercially available drugs with a minimal adverse effect profile [37, 40]. Most of these cocktails have used caffeine for CYP1A2, combined with different substrates for other enzymes such as CYP2D6, CYP2C9, and CYP3A4 with intravenous midazolam, which provides information on hepatic metabolism regardless of gastrointestinal enzymatic activity. Oral midazolam considers both metabolisms, but it also inhibits CYP2E1 (chlorzoxazone) [37]. Through phenotyping, González et al. identified a trimodal distribution of CYP3A4 (hydroxy-omeprazole/omeprazole) and CYP2C19 (sulfone omeprazole/omeprazole) in a Mexican Mestizo sample [19]. This could allow to the inclusion of CYP2E1 and avoids the inconvenience of intravenous and oral midazolam in a cocktail design. Dextromethorphan has already been used to assess CYP2D6 in Mexican samples [23–25]. Caffeine is included as a substrate in a few cocktails that evaluate NAT2 and CYP1A2 simultaneously, measuring their respective metabolites [37].

Caffeine, omeprazole, dextromethorphan, and losartan have not shown drug interaction; they are all commercially available and have a low side-effect profile, and their metabolisms are enzymatically specific [37, 40].

The development of a specifically adapted phenotyping cocktail would be a significant benefit for the following reasons: It would contribute to a better understanding of interethnic variability in drug response; it would allow us to assess the relationship between genotype and phenotype in major metabolism enzymes in Mexican population; and it would reduce research costs and time.

In conclusion, detailed knowledge of the current state of pharmacogenetics research on drug-metabolizing enzymes in Mexico allows us to propose a seven enzyme substrate combination not suggested before: a UNAM cocktail design that would include caffeine (CYP1A2, NAT2), losartan (CYP2C9), omeprazole (CYP2C19, CYP3A4), dextromethorphan (CYP2D6), and chlorzoxazone (CYP2E1). These enzymes cover 90% of drug metabolism. This cocktail could be applied as a tool for drug interaction studies.

Such studies have shown differences from either Caucasian, Asian, and African populations, or variability

within the same given Mexican populations, and they may help us to expand our knowledge on drug response variability in order to reduce drug adverse reaction, drug interaction, and therapeutic responses.

There are currently 59 clinical pharmacology units (denominated “Authorized third parties for drug-interchangeability approval”) authorized by the Mexican government to carry out bioequivalence studies, which must take place every 5 years for all registered health drugs on the market. This logistic infrastructure, with its corresponding regulations and trained personnel on which the country may rely, would allow drug metabolism by different cytochromes to be studied in a larger healthy individual sample. The Mexican drug market currently keeps 13,000 registered health items in stock and available in drugstores. Of these, 600 are international nonproprietary names (INNs). It would be very convenient to use a phenotyping cocktail in these suggested studies, although it would have to be specifically adapted to the Mexican population, thus allowing a more solid basis for the dosage of the huge amount of drugs currently prescribed in Mexico [35].

Acknowledgments: This paper constitutes a partial fulfillment of the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of México (UNAM). The authors thank Hiram Molina Espinosa for critically reading the final version of the manuscript and making valuable suggestions.

Conflict of interest statement

Authors’ conflict of interest disclosure: The authors stated that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article. Research funding played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

Research funding: None declared.

Employment or leadership: None declared.

Honorarium: None declared.

Received May 2, 2013; accepted August 26, 2013

References

1. Dirección General de Información en salud (DGIS). Base de datos de defunciones generales 1979–2007. Sistema Nacional de Salud (SINAIS). Available at: <http://www.sinais.salud.gob.mx>.
2. Dirección General de Información en Salud (DGIS). Base de datos de egresos hospitalarios por morbilidad en Instituciones Públicas, 2004–2007. Sistema Nacional de Salud (SINAIS). Available at: <http://www.sinais.salud.gob.mx>.

3. Villalpando S, De la Cruz V, Rojas R, Shamah T, Ávila M, Gaona B, et al. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. *Salud Pública Mex* 2010;52(Suppl):S19.
4. 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;67:797–801.
5. Martínez MA, Kravzov J, Moreno MR, Rubio C, Skromne D, Rivas M, et al. Diabetes mellitus type 2: sales of oral hypoglycemic agents and costs of the pharmacological treatments in Mexico. *Rev Mex Cienc Farm* 2007;38:23–33.
6. Díaz C, Martínez MA, Kravzov J, Cárdenas MR, Moreno C, Martínez JM. Cost-effectiveness study of oral hypoglycemic agents in the treatment of outpatients with type 2 diabetes attending a public primary care clinic in Mexico City. *Clinicoecon Outcomes Res* 2012;4:57–65.
7. Hatta F, Teh L, Hellden A, Hellgren K, Roh H, Salleh M, et al. Search for the molecular basis of ultra-rapid CYP2C9-catalysed metabolism: relationship between SNP IVS8-109A>T and the losartan metabolism phenotype in Swedes. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68:1033–42.
8. Dorado P, Sosa M, Peñas M, Alanis R, Wong L, Licinio J, et al. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2011;11:108–12.
9. Ley General de Salud, Diario Oficial de la Federación, 7 de febrero de 1984:1–148. Available at: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/142.pdf>.
10. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Diario Oficial de la Federación, 6 de enero de 1987:1–24. Available at: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>.
11. Reglamento de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, Diario Oficial de la Federación, 13 de abril de 2004:1–15. Available at: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/regla/29.PDF>.
12. Rubí R, Martínez G, Muñoz JF, González A, Cerda RM, Anaya M, et al. Pre-Hispanic mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of mestizos throughout the territory of Mexico. *Am J Phys Anthropol* 2009;139:284–94.
13. Martínez M, Beuten J, Leach R, Parra E, Cruz M, Rangel H, et al. Ancestry informative markers and admixture proportions in northeastern Mexico. *J Hum Genet* 2009;54:504–9.
14. Jiménez G, Silva I, Hidalgo A, March S. Genomic medicine in Mexico: initial steps and the road ahead. *Genome Res* 2008;18:1191–8.
15. Mendoza R, Wan Y, Poland R, Smith M, Zheng Y, Berman N, et al. CYP2D6 polymorphism in Mexican American population. *Clin Pharmacol Ther* 2001;70:552–60.
16. Yang M, Tsuang J, Yvonne A. A haplotype analysis of CYP2E1 polymorphisms in relation to alcoholic phenotypes in Mexican Americans. *Alcohol Clin Exp Res* 2007;31:1991–2000.
17. Lucas D, Ferrab R, Gonzalez E, Bodenez P, Albores A, Imannob R, et al. Chlorzoxazone, a selective probe for phenotyping CYP2E1 in humans. *Pharmacogenetics* 1999;9:377–88.
18. Sosa-Macias M, Lazalde BP, Galaviz C, Rangel H, Salazar J, Martínez VM, et al. Influence of admixture components on CYP2C9*2 allele frequency in eight indigenous populations from Northwest Mexico. *Pharmacogenomics J* 2013;1–6.
19. González H, Romero EM, Peregrina A, Chavez T, Escobar E, Lozano F, et al. CYP2C19- and CYP3A4-dependent omeprazole metabolism in West Mexicans. *J Clin Pharmacol* 2003;43:1211–5.
20. Lares I, Sosa M, Elizondo G, Flores C, Flores J, Bradley F. Phenotypical expression of CYP2D6 in Amerindians of Tepehuano origin from Durango, Mexico. *Proc West Pharmacol Soc* 2006;48:102–7.
21. Luo H, Gaedigk A, Aloumanis V, Wan Y. Identification of CYP2D6 impaired functional alleles in Mexican Americans. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:797–802.
22. Contreras A, Monge T, Alfaro L, Hernández S, Miranda H, Carrillo K, et al. Resequencing, haplotype construction and identification of novel variants of CYP2D6 identification of novel variants of CYP2D6 in Mexican Mestizos. *Pharmacogenomics* 2011;12:745–56.
23. Sosa M, Elizondo G, Flores C, Flores J, Bradley F, Alanis R, et al. CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Clin Pharmacol* 2006;46:527–36.
24. Sosa M, Dorado P, Alanis R, Llerena A, Lares I. Influence of CYP2D6 deletion, multiplication, -1555584C-G, 31 G-A and 2988 G-A gene polymorphism on dextromethorphan metabolism among Mexican Tepehuano and Mestizos. *Pharmacology* 2010;86:30–6.
25. López, M, Guerrero J, Jung H, Alonso M. CYP2D6 genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:749–54.
26. Salazar J, Torres LA, Martínez G, Rubí R, Sosa M, Muñoz JF, et al. Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and Western Mestizos from Mexico. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;22.
27. Luo H, Poland R, Lin K, Yvonne Y. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexicans Americans: a cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:33–40.
28. Reyes O, Lares I, Sosa M, Vega L, Albores A, Elizondo G. A comparative study of CYP3A4 polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo populations. *Pharmacology* 2008;81:97–103.
29. Llerena A, Dorado P, O’Kinwan F, Jepson R, Licinio J, Wong M. Lower frequency of CYP2C9*2 in Mexican-Americans compared to Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2004;4:403–6.
30. Díaz R, Cornejo J, Ramos M, Estrada J, Morales O, Reyes R, et al. Genotype and phenotype of NAT2 and the occurrence of adverse drug reactions in Mexican individuals to an isoniazid-based propylactic chemotherapy for tuberculosis. *Mol Med Rep* 2008;1:875–9.
31. Taja L, Agúndez JA, Míguez C, Chavez A, Dueñas A. Arylamine N-acetyl transferase 2 genotypes in a Mexican population. *Genet Mol Res* 2012;11:1082–92.
32. Montero R, Araujo A, Carranza P, Mejía C, Serrano L, Albores A, et al. Genotype frequencies of polymorphic GSTM1, GSTT1 and cytochrome P450 CYP1A1 in Mexicans. *Hum Biol* 2007;79:299–312.
33. Poland R, Lin K, Nuccio C, Wilkinson G. Cytochrome P450 2E1 and 3A activities do not differ between Mexicans and European Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:288–93.
34. López M, Dorado P, Ortega A, Peñas E, Monroy N, Silva I, et al. Interethnic differences in UGT1A4 genetic polymorphisms between Mexican Mestizo and Spanish populations. *Mol Biol Rep* 2013;40:3187–92.

35. Gómez O, Sesma S, Becerril V, Knaul F, Arreola H, Frenk J. Mexico Health System. *Salud Pública de México* 2011;53(Suppl):S220. Available at: http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo_e4.php?id=002625.
36. Breimer D, Schellens J. A cocktail strategy to assess in vivo oxidative drug metabolism in humans. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11:223–5.
37. Fuhr U, Jetter A, Kirchheiner J. Appropriate phenotyping procedures for drug metabolizing enzymes and transporters in human and their simultaneous use in the cocktail approach. *Clin Pharmacol Ther* 2007;81:270–83.
38. Frye R, Matzke G, Adedoyin A, Porter J, Branch A. “Pittsburgh cocktail” approach for assessment of selective regulation of drug-metabolizing enzymes. *Clin Pharmacol Ther* 1997;365–76.
39. Christensen M, Anderson K, Dalén P, Mirghani R, Muirhead G, Nordmark A, et al. The Karolinska cocktail for phenotyping of five human cytochrome P450 enzymes. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73:517–28.
40. Ryu J, Song I, Sunwoo Y, Shon J, Liu K, Cha I, et al. Development of the “Inje cocktail” for high-throughput evaluation of five human cytochrome P450 isoforms in vivo. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82:531–40.

Polimorfismos de CYP P450 asociados a enfermedades y su valor como biomarcadores

PATRICIA CUAUTLE-RODRÍGUEZ^{1,2}, NIDIA SAMARA RODRÍGUEZ-RIVERA^{2,3}, ELISEO PÉREZ-SILVA⁴
Y JUAN ARCADIO MOLINA-GUARNEROS^{3*}

¹División de Investigación; ²Posgrado en Ciencias Biológicas; ³Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México; ⁴Servicio de Medicina Interna/Endocrinología, Hospital Regional de alta Especialidad, Ixtapaluca, Edo. de México. México

RESUMEN

El citocromo P450 (CYP P450) es una superfamilia de hemoproteínas que participan en el metabolismo de compuestos endógenos (esteroides, hormonas) y xenobióticos (ambientales, fármacos). Los polimorfismos de CYP P450 generan variabilidad en la actividad enzimática, y por ello se han asociado con la protección o susceptibilidad a varias enfermedades. Las investigaciones al respecto son recientes y existen controversias en sus resultados; de ahí la importancia de continuar con la búsqueda de biomarcadores adecuados y fiables que ayuden a la identificación, la prevención, el pronóstico y el tratamiento de las enfermedades. El objetivo de esta revisión es mostrar el panorama actual de las investigaciones que asocian a CYP P450 con algunas enfermedades, debido a su participación en el metabolismo endógeno y de xenobióticos ambientales, y su posible aplicación clínica como biomarcadores. Los citocromos más estudiados son los que se asocian con algún tipo de cáncer, como CYP1A1, CYP1B1 y CYP2E1; otras enfermedades, como la progresión de la cirrosis y algunos trastornos del comportamiento, con CYP2D6, y glaucoma con CYP1B1. Aproximadamente en el 60% de los estudios revisados se encontró asociación con la susceptibilidad a desarrollar alguna enfermedad. Sin embargo, las controversias en los resultados dificultan la validación de los polimorfismos como biomarcadores.

Palabras clave: Citocromo P450. Polimorfismos. Enfermedades. Biomarcadores.

Abstract

Cytochrome P450 (CYP P450) is a superfamily of hemo-containing proteins. These are involved in the metabolism of endogenous substrates (steroids, hormones) and xenobiotics (environmental, drugs). Genetic polymorphisms of *CYP P450* are sources of variability in their metabolic activity; therefore, these have been associated with protection against or susceptibility to several diseases. Research on P450 is very recent and its early results are controversial, thus making further attempts to find adequate and reliable biomarkers even more necessary in order to identify, prevent, prognosticate, and treat diseases. This work provides an overview of the most recent advances in different studies on diseases associated to *CYP P450* polymorphisms (endogenous and chemical xenobiotics metabolism) and their potential

Correspondencia:

*Juan Arcadio Molina-Guarneros
Departamento de Farmacología
Edificio D, Primer piso, Facultad de Medicina
Circuito escolar s/n
Ciudad Universitaria
Col. Universidad Nacional Autónoma de México, C.U.
Del. Coyoacán
C.P. 04510, Ciudad de México, México
E-mail: molina_ja2007@yahoo.com.mx

Recibido: 27-09-2016

Aceptado: 07-12-2016

clinical application as biomarkers. The most studied are cytochromes *CYP1A1*, *CYP1B1*, and *CYP2E1* associated with cancer, while other diseases such as cirrhosis and behavior disorders have been associated with *CYP2D6* and glaucoma with *CYP1B1*. About 60% of the current research on P450 polymorphisms has found some kind of association with disease susceptibility. Nevertheless, the controversy due to result variations makes it difficult to validate polymorphisms as biomarkers. (Evid Med Invest Salud. 2016;9:167-78)

Corresponding author: Juan Arcadio Molina-Guarneros, molina_ja2007@yahoo.com.mx

Key words: Cytochrome P450. Polymorphisms. Diseases. Biomarkers.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento actual sobre las enfermedades asociadas a polimorfismos del citocromo P450 (CYP P450) está en crecimiento constante debido al incremento de las investigaciones realizadas con muestras de humanos, tal como se observó en el periodo 2010-2012, con la publicación de aproximadamente 143 estudios, y en los últimos 3 años se llevan realizados 49. Además de identificar susceptibilidades a enfermedades, en estudios recientes se han investigado las diferencias entre poblaciones, así como la combinación de varios genes, y esto ha contribuido a que las investigaciones sean más complejas. En esta revisión se consideró la información más reciente (2012-2016), incluyendo la replicación de varios estudios y algunos metaanálisis. Se incluyeron artículos con estudios en humanos sobre polimorfismos de *CYP P450* asociados a enfermedades (metabolismo de sustratos endógenos o xenobióticos ambientales) publicados en revistas indexadas y bases de datos (PubMed).

CITOCROMO P450

El CYP P450 es una superfamilia de hemoproteínas que participan en el metabolismo de xenobióticos (ambientales, fármacos) y en la síntesis de compuestos endógenos (esteroides, hormonas, ácido araquidónico, vitaminas, etc.) importantes para la fisiología humana¹. Las enzimas P450 se expresan en gran variedad de órganos, glándulas y tejidos, como los riñones, el cerebro, los testículos, la mucosa intestinal, la garganta y el hígado². En los humanos se han identificado 57 genes de *CYP P450* que están organizados de acuerdo a su nivel de identidad en familias (números) y subfamilias (letras), así como en variantes alélicas nombradas *1 (más frecuente), *2, etc.^{1,2}.

POLIMORFISMOS DE *CYP P450*

Los polimorfismos (mutaciones genéticas identificadas en al menos el 1% de la población) de *CYP P450* pueden generar enzimas con diferentes niveles de actividad, como la pérdida o ganancia de función (afectaciones en el corte y empalme del mRNA, número de copias y variantes en regiones promotoras)³. Se ha reportado variabilidad individual en diferentes poblaciones, y debido a su relevancia clínica son ampliamente estudiados⁴. Se han identificado tres tipos de metabolismos para las enzimas CYP:

- Lento: enzimas con actividad disminuida.
- Rápido: enzimas con actividad no modificada (más frecuente).
- Ultrarrápido: enzimas con actividad mayor que el metabolismo más frecuente.

POLIMORFISMOS DE *CYP P450* ASOCIADOS A ENFERMEDADES

Los polimorfismos de *CYP P450* se han asociado con la variabilidad en el metabolismo de sustratos endógenos y con la activación de sustancias químicas ambientales, por lo que generan alteraciones o desviaciones del estado fisiológico en algunos tejidos. Es por ello que al menos 13 diferentes citocromos (*CYP1B1*, *CYP11A1*, *CYP1A29*, etc.) se han asociado con la protección o la susceptibilidad de enfermedades. En este trabajo las agrupamos, de acuerdo al tipo de sustrato, en enfermedades asociadas al metabolismo de sustratos endógenos y enfermedades asociadas al metabolismo de xenobióticos ambientales.

ENFERMEDADES ASOCIADAS CON EL METABOLISMO DE SUSTRATOS ENDÓGENOS

El CYP P450 está involucrado en el metabolismo de sustratos endógenos esenciales para la fisiología humana, como son el colesterol (CYP7A1, CYP11A1, CYP7B1 y CYP8A1), los esteroides (CYP17A1 y CYP19A1), las prostaglandinas (CYP5A1 y CYP 8A1), las vitaminas solubles (24A1 y 26A1) y los eicosanoides (CYP2C8, CYP2C9 y CYP2J2)¹. En el metabolismo de los esteroides llegan a participar más de 40 citocromos; en la activación y la inactivación de vitaminas participan cuatro citocromos; y en la síntesis de ácidos grasos y eicosanoides por oxidación del ácido araquidónico participan nueve citocromos^{1,2} (Tabla 1).

CYP1B1

CYP1B1 es el citocromo más estudiado con respecto al metabolismo de sustratos endógenos. Constituye una fracción importante del CYP extrahepático, con expresión en casi todos los tejidos: ojos, riñón, pró-

Tabla 1. Citocromos involucrados en el metabolismo de sustratos endógenos

CYP	Sustrato endógeno	Producto	Función
11A1	Colesterol	Pregnenolona	Precursor de todas las hormonas esteroideas
11B1	Biosíntesis	Cortisol	Control de niveles de glucosa, respuesta al estrés y metabolismo de ácidos grasos
		Aldosterona	Regula la presión arterial y al equilibrio ácido-base
17A1	Biosíntesis	Glucocorticoides	Regulan el metabolismo de hidratos de carbono
		Testosterona	Desarrollo y promoción de caracteres sexuales
19A1	Biosíntesis	Estrógenos	Desarrollo y promoción de caracteres sexuales
21A1	Progesterona	Aldosterona	Regula la presión arterial y al equilibrio ácido-base
46A1	Colesterol	24-hidroxi-colesterol	Atraviesa barrera hematoencefálica, se degrada en hígado
7B1	Hidroxilación de metabolitos del colesterol, un paso obligatorio en la modificación de núcleos esteroideos		
27A1	Hidroxilación de ácidos biliares		
7A1	Eliminación del colesterol del cuerpo		
51	Cataliza desmetilaciones de los precursores del colesterol		

tata, glándulas mamarias y ovarios. El cambio de aminoácido Leu432Val se ha identificado en pacientes con glaucoma primario congénito, neonatal y juvenil; sin embargo, existe controversia en los resultados.

A continuación se comentan los estudios más recientes sobre CYP1B1 y su asociación con enfermedades (Tabla 2).

CYP2D6

CYP2D6 es el segundo citocromo más estudiado y se ha asociado con diversas enfermedades, como el cáncer de mama (metabolismo de hormonas), en el que se observó una mayor frecuencia de la variante *10 en pacientes con respecto al grupo control; las variantes *3 y *4 (actividad disminuida y asociadas al metabolismo lento) no mostraron diferencias¹³. Este CYP también se ha estudiado con respecto a enfermedades inflamatorias de intestino y Alzheimer, sin encontrar asociación con la variante *4^{14,15}. En la progresión de cirrosis hepática (*4; *odds ratio* [OR]: 2.27; *p* = 0.05), el lupus eritematoso (*4; OR: 2.9; *p* = 0.047) y los trastornos de la alimentación (más frecuentes en mujeres portadoras de más de dos genes activos), de personalidad y suicidio (*3 y *4; más frecuentes en pacientes), se han identificado algunos polimorfismos de *CYP2D6*; en los últimos cuatro debido a su expresión en el cerebro¹⁶⁻¹⁹. Sin embargo, no hay replicaciones de estos estudios en diversas poblaciones, salvo en el caso del intento de suicidio y los trastornos de la personalidad¹⁹.

CYP2C9 y 2C19

CYP2C9 y CYP2C19 se han asociado con distintas enfermedades debido a la variabilidad en el metabolismo del ácido araquidónico o por cambios en su nivel de expresión. CYP2C9 se ha estudiado como marcador de disminución de la agresividad en el cáncer de mama (altos niveles de expresión disminuyen la proliferación y la migración de células cancerígenas), 430C>T se ha asociado con la susceptibilidad al cáncer y al adenoma colorectal (OR: 0.92 y 1.39, respectivamente; *p* = 0.05); en la enfermedad de arteria coronaria, el alelo *C* se identificó como factor de riesgo (OR: 2.42; *p* = 0.05), y la disminución de la densidad mineral ósea se asoció con las variantes *2 o *3 (OR: 4; *p* = 0.05)²⁰⁻²³. CYP2C19 metaboliza al ácido araquidónico y produce ácido epoxi-eicosanoico, que está involucrado en el tono vascular y en la regulación de la presión sanguínea; los niveles elevados

Tabla 2. Investigaciones que involucran a CYP1B1 con enfermedades

Enfermedad (n.º de estudios)	Estudio (n)	Resultados	Referencias (año)
Glaucoma congénito primario (3)	Casos (57) - controles (101)	14.9% de los pacientes presentaron fenotipo atribuible a SNP de <i>CYP1B1</i>	5 (2015)
	Prevalencia de SNP (26 pacientes)	Sí; 182G>A, 317C>A, 535delG, 1064_1076del, 1159G>A, 1310C>T, 1390dupT	6 (2015)
	Prevalencia del número de copias de genes (50 pacientes)	No se identificaron variaciones en el número de copias del gen en pacientes	7 (2013)
Glaucoma ángulo abierto juvenil (2)	Casos (61) - controles (100)	No hubo diferencia en la frecuencia entre casos y controles (403-13C>T, 142C>G, 355G>T, 1294G>C, 1347T>C)	8 (2012)
	Metaanálisis (6 estudios)	Se estudiaron 20 SNP y no se encontró diferencia entre casos y controles	9 (2012)
Glaucoma en recién nacidos (1)	Casos (5) - controles (110)	443A>G solo se identificó en 2 de los 5 casos	10 (2012)
Lesiones en ovario/endometrio (1)	Casos (58 pacientes) - controles (25)	Incremento en niveles de expresión	11 (2016)
Menopausia (síntomas) (1)	Cohorte (399)	Leu342Val se identificó en pacientes menopáusicas con inflamación estomacal, sequedad vaginal, etc.	12 (2012)

SNP: polimorfismos de un solo nucleótido.

en su expresión se han observado como factor predisponente a padecer enfermedad crónica de Keshan y cardiomiopatía dilatada, pero no hemorragias^{24,25}. Las variantes *2 y *3 (metabolismo lento) se asociaron con una mayor susceptibilidad a la retinopatía en pacientes (mujeres) con diabetes *mellitus* tipo 2 (OR: 7.49; $p = 0.05$)²⁶.

Otros citocromos como CYP1A2, CYP4F y CYP2J2 metabolizan el ácido araquidónico a ácido epoxi-eicosatrienoico, el cual posee efectos cardioprotectores, vasodilatadores, antiinflamatorios, antitrombóticos, etc., y las enzimas con baja actividad se asocian con enfermedades cerebrovasculares (hipertensión y enfermedad arteriocoronaria)² (Tabla 3).

CYP4A11 y CYP4F2 sintetizan al ácido 20-hidroxi-eicosanoico (20-HETE) a partir del ácido araquidónico. El 20-HETE es un potente vasoconstrictor de las arterias cerebrales. La combinación entre los polimorfismos de *CYP4A11* (C-296T) y *CYP4F2* (V433M) se ha asociado con susceptibilidad a padecer isquemia cerebral (OR: 1.5 y 1.38, respectivamente; $p < 0.05$)³⁷.

ENFERMEDADES ASOCIADAS AL METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Varios estudios sugieren que tanto las predisposiciones genéticas adquiridas (modificaciones epigenómicas)

como las heredadas desempeñan un papel importante en la carcinogénesis². Las enzimas P450 pueden activar la mayoría de los carcinógenos químicos, y se ha reportado que las principales enzimas implicadas en este proceso son CYP1A1, CYP1B1 y CYP2E1. Sin embargo, la relevancia en la modulación de P450 y su asociación con el riesgo de desarrollar cáncer no han sido fáciles de establecer en los seres humanos.

CYP1A1

CYP1A1 se expresa en diversos tejidos y es una de las enzimas de mayor importancia en la carcinogénesis en humanos, debido a que activa diversos procarcinógenos y compuestos, como los hidrocarburos policíclicos aromáticos². Es el citocromo más estudiado por su asociación con el cáncer de pulmón, y se sabe que su transcripción es inducida por hidrocarburos aromáticos presentes en el humo del tabaco. Se ha reportado que la interacción entre el alelo 2 y la delección del gen y ser fumador incrementa el riesgo de padecer cáncer de pulmón. Además, la delección del gen es más frecuente en los pacientes en comparación con los controles³⁸ (Tabla 4). Se han observado con mayor frecuencia modificaciones en la actividad de CYP1A1 en pacientes con cáncer de cérvix, próstata y ovario, que tienen en común la influencia hormonal y la biotransformación de carcinógenos^{39,40}.

Tabla 3. Otros citocromos que metabolizan sustratos endógenos que se han asociado con enfermedades

Citocromo (n.º de estudios)	Enfermedad	Estudio (n)/resultados	Referencias (año)
1A1 (3)	Arteria coronaria	Casos (293) - controles (408)/rs4886605 CC (OR: 0.37, $p = 0.018$) en pacientes vs. controles	27 (2015)
	Cardiopatías (Keshan y cardiomiopatía dilatada)	Casos (67 y 28) - controles (58)/nivel de expresión incrementado en pacientes	24 (2016)
	Lesiones de ovario y peritoneales	Casos (24) - controles (25)/nivel de expresión incrementado en pacientes	11 (2016)
17 (2)	Cáncer de vesícula biliar	Casos (414) - controles (230)/rs743572 alelo de riesgo (OR: 2.23, $p = 0.016$)	28 (2014)
	Síndrome de ovario poliquístico	Casos (287) - controles (187)/No se encontraron diferencias en las frecuencias de rs10883783, rs1004467, rs6162 y rs743572 entre pacientes y controles	29 (2012)
4A11 (2)	Enfermedad arteriocoronaria	Casos (361) - controles (315)/rs3890011 fue más frecuente en pacientes que en controles	30 (2013)
	Infarto al miocardio	Casos (239) - controles (285)/la frecuencia del haplotipo T-T-A(rs2269231, rs1126742 y rs9333025) fue menor entre pacientes (hombres) vs. controles ($p < 0.001$)	31 (2012)
2CB (2)	Evento cerebrovascular (susceptibilidad)	Casos (396) - controles (378)/No hay diferencia en la frecuencia de rs17110453 y rs1934980	32 (2015)
	Cáncer de mama	Cohorte (40 pacientes)/nivel de expresión incrementado en pacientes (2.5 veces)	20 (2014)
2J2 (2)	Alzheimer (susceptibilidad)	Casos (672) - controles (351)/para rs890293, alelo T OR: 2.641, $p < 0.05$	33 (2015)
	Cáncer de mama	Cohorte (40 pacientes)/nivel de expresión incrementado en pacientes (2.5 veces)	20 (2014)
26B1 (1)	Aterosclerosis	Cohorte (233)/(rs2241057) para portadores del alelo menor, el tamaño de la lesión (aterosclerosis) fue diferente a la del alelo mayor ($p < 0.013$)	34 (2012)
11B2 (1)	Hipertensión arterial	Casos (514) - controles (192)/T-344C afecta las estructuras ventriculares en mujeres (T/T) más propensas a hipertensión vs. controles ($p = 0.045$)	35 (2013)
4F2 (1)	Hipertensión arterial Evento cerebrovascular	Casos (507; 279 hipertensos: 228 no hipertensos) - controles (487)/para 1347 G/A, el alelo A se asoció con hipertensión y evento cerebrovascular (OR: 1.59, $p < 0.05$)	36 (2012)

Para el estudio de las asociaciones entre los polimorfismos de *CYP1A1* y el riesgo de padecer cáncer se han empleado herramientas como el metaanálisis y la estratificación por grupos. Además, en estudios recientes, *CYP1A1* se ha asociado con 17 tipos de cáncer en diferentes órganos (Tabla 4).

CYP1B1

CYP1B1 se expresa en diversos tejidos, metaboliza procarcinógenos y activa algunas especies reactivas electrófilas para la formación de aductos. Se ha considerado como factor de predisposición a desarrollar

carcinogénesis en el hígado, el pulmón, la próstata, la vejiga y el riñón. Son dos los cambios de aminoácidos que se han estudiado principalmente: Ile462Val y Asn453Ser^{57,58}. En la tabla 5 se muestran los tipos de cáncer estudiados con respecto a *CYP1B1*.

CYP2E1

CYP2E1 es importante en el metabolismo del etanol. Su expresión se incrementa en los sujetos alcohólicos, ya que es inducible por el consumo crónico de alcohol, y esto contribuye a una tolerancia al alcohol y otras drogas⁶⁶. Se ha asociado a la variante *c2*, con una mayor

Tabla 4. Estudios realizados sobre los diferentes tipos de cáncer asociados a CYP1A1 y el nivel de evidencia reportada

Enfermedad (n.º de estudios)	Estudio (n)	Resultados	Referencias (año)
Cáncer de pulmón de células no pequeñas (1)	Casos (150) - controles (150)	Deleción del gen en 73.3% pacientes (OR: 2.28, $p < 0.05$) Alta prevalencia de fumadores: 77.8% de los pacientes Riesgo de padecer la enfermedad si hay deleción del gen y el hábito de fumar: OR: 5.6 ($p < 0.05$)	38 (2016)
Neoplasia cervical (3)	Metaanálisis: casos (1,912) - controles (1,812)	T3801C = factor de riesgo alelo T (OR: 1.32, $p < 0.05$) y genotipo TT (OR: 1.99, $p < 0.05$)	39 (2013)
	Metaanálisis: casos (1,087) - controles (1,326)	Incrementa riesgo: Val vs. Ile (OR: 1.43, $p < 0.05$); ValVal vs. IleIle (OR: 2.43, $p < 0.05$); ValVal+ ValIle vs. IleIle (OR: 1.59, $p < 0.05$). Asociación significativa para caucásicos: (OR: 2.03, $p < 0.05$)	40 (2012)
	Casos (195) - controles (106)	T380C = factor de riesgo alelo T, no se observó para la muestra de la población de China y de India. Para la muestra de la población Malay si es factor de riesgo (OR: 4.66, $p < 0.05$)	41 (2016)
Cáncer de próstata (2)	Metaanálisis: casos (2,350) - controles (2,992)	Asociación de Ile462Val con riesgo: Val vs. Ile: OR: 1.27 ($p < 0.001$); ValVal vs. IleIle: OR: 1.51 ($p = 0.004$); ValVal+ValIle vs. IleIle: OR: 1.31 ($p < 0.001$)	42 (2013)
	Casos (138) - controles (138)	La frecuencia de las variantes w1m1 (15.22%) y m1m1 (17.39%) fue similar en pacientes y en controles	43 (2012)
Carcinoma renal (1)	Metaanálisis Mspl: casos (531) - controles (739)	Polimorfismo de riesgo; modelo alélico OR: 1.49, $p < 0.05$ Modelo dominante OR: 1.72, $p < 0.05$	44 (2015)
	Ile462Val: casos (742) - controles (975)	No hubo diferencia en la frecuencia del polimorfismo entre pacientes y controles Estratificación por hábito de fumar: alelo Val; OR: 3.39, $p < 0.05$	
Leucemia mieloide crónica (1)	Casos (132) - controles (140)	Frecuencia del alelo *2C fue diferente entre controles y pacientes: AA = 16 vs. 38%, AG = 78 vs. 57% y GG = 6 vs. 5% Alta frecuencia de AG en controles lo sugieren como factor protector	45 (2015)
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (1)	Metaanálisis: casos (1,050) - controles (1,202)	Polimorfismo Mspl factor de riesgo: CC vs. TC+TT; OR: 1.57, $p = 0.02$ CC vs. TT; OR: 1.73, $p = 0.005$ Polimorfismo Ile462Val factor de riesgo: GG vs. AG+AA; OR: 2.75, $p = 0.009$ GG vs. AA; OR: 3.23, $p = 0.003$ AG vs. AA; OR: 1.39, $p = 0.04$	46 (2015)
Cáncer colorectal (1)	Casos (74) - controles (199)	Polimorfismo Mspl: OR: 0.75, $p = 0.463$	[47] (2015)
Cáncer de esófago (1)	Metaanálisis: casos (1,519) - controles (1,962)	Polimorfismo Mspl: C vs. T OR: 1.25, $p < 0.05$; CC+CT vs. TT OR: 1.35, $p < 0.05$; CC vs. TT+CT OR: 1.35, $p < 0.05$	[48] (2015)
Tumor óseo (1)	Casos (52) - controles (100)	Polimorfismo Ile462Val: mas frecuente en pacientes (46.2%). Homócigo Val como factor de riesgo: OR: 4.15, $p < 0.05$	[49] (2015)
Cáncer hepatocelular (1)	Metaanálisis: casos (731) - controles (1,059)	Polimorfismo 3801T>C: TT vs. CC OR: 1.21, $p < 0.05$; TT vs. TC OR: 0.87, $p < 0.05$. Por grupo étnico: Modelo dominante OR: 1.26, $p < 0.05$ y modelo recesivo OR: 1.25, $p < 0.05$ para asiáticos	[50] (2015)

(Continúa)

Tabla 4. Estudios realizados sobre los diferentes tipos de cáncer asociados a CYP1A1 y el nivel de evidencia reportada (*Continuación*)

Enfermedad (n.º de estudios)	Estudio (n)	Resultados	Referencias (año)
Cáncer de mama (1)	Casos (742) - controles (742)	Polimorfismo A4889G: Alelo G como factor de riesgo OR: 1.5, $p < 0.05$. Para caucásicos, el alelo G OR: 1.6, $p < 0.05$	[51] (2015)
Cáncer de vejiga (1)	Casos (114) – controles (114)	Polimorfismo T6235C: CC más frecuente en pacientes (48.4%) No hubo diferencia en la frecuencia de los polimorfismos para Ile462 entre pacientes y controles	[52] (2013)
Cáncer de ovario (1)	Metaanálisis: MspI Casos (1,051) - controles (1,613) Ile462Val Casos (1,680) - controles (3,345) Th461Asn Casos (349) - controles (785)	Polimorfismo MspI: TC vs. TT OR: 1.10, $p = 0.329$ Polimorfismo (Ile462Val): Homócigos como factor de riesgo, OR: 2.65, $p = 0.02$ Polimorfismo (Th461Asn): heterócigo OR: 1.62, $p = 0.06$	[53] (2012)
Carcinoma oral (1)	Metaanálisis: Casos (1,515) - controles (2,233)	Polimorfismo Ile462Val: Val/Val vs. Ile/Ile OR: 1.46, $p < 0.05$. Modelo dominante OR: 1.01, $p < 0.05$ y modelo recesivo OR: 1.46, $p < 0.05$ Análisis por grupo étnico, para asiáticos: modelo recesivo aditivo (Val/Val vs. Ile/Ile) OR: 1.74, $p < 0.05$	[54] (2012)
Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (1)	Casos (313) - controles (417)	Polimorfismo MspI: asociación con la edad OR: 8.15, $p < 0.05$. Asociación con el hábito de fumar OR: 5.37, $p < 0.05$	[55] (2012)
Leucemia linfoblástica (1)	Metaanálisis: casos (2,013) - controles (2,903)	Polimorfismo MspI: CC+TC vs. TT OR: 1.33, $p < 0.05$. De acuerdo al grupo étnico, no se encontraron asociaciones con asiáticos ni caucásicos	[56] (2012)

tasa de transcripción en el desarrollo de determinados tipos de cáncer (Tabla 6); se ha considerado como un factor de susceptibilidad para cáncer de garganta junto con el hábito de fumar, y para cáncer de pulmón (fumadores moderados). Es más relevante en poblaciones orientales, donde la frecuencia de c es alta⁶⁷.

Otros citocromos menos estudiados son CYP17A1, asociado con cáncer de pulmón de células no pequeñas; CYP3A5 y CYP1A2, con riesgo de padecer cáncer^{71,72}; CYP2W1, 4F11 y 8A1, con cáncer de mama; y la variante *4 de CYP2D6 con la progresión de cirrosis hepática y con la disminución en la transformación de procarcinógenos y un efecto protector para cáncer de mama^{73,74}. En la actualidad, las investigaciones han ampliado el panorama de estudio al considerar la interacción de varios citocromos que, en conjunto, participan en la generación de carcinógenos. Por ejemplo, la interacción de CYP1A1, 1A2 y 2E1 (Japón) se ha asociado con susceptibilidad a padecer cáncer gástrico⁷⁵. Además, se ha considerado la combinación con enzimas de fase II, como la glutatión S-transferasa. Por

ejemplo, en la interacción de CYP1A1, 1B1 y ALDH en pacientes jóvenes con carcinoma escamoso, no se encontró asociación con el nivel de expresión de CYP1A1, pero sí con el de CYP1B1, que fue mayor en los controles, lo que se sugiere un menor riesgo de recurrencia con un metabolismo incrementado de CYP1B1⁷⁶.

Cada vez son más las poblaciones estudiadas con respecto a las asociaciones entre citocromos y enfermedades, ya que se ha reportado que existe variabilidad étnica. La mayoría de los citocromos se han estudiado en población china, quienes han buscado la reproducibilidad de sus resultados dentro de sus grupos étnicos. Como se muestra en la tabla 7, son pocas las poblaciones estudiadas hasta el momento y la mayoría de las investigaciones se han realizado en poblaciones asiáticas y europeas. Del continente americano, solo se tienen estudios en muestras de los EE.UU., Brasil y México, pero son pocos los citocromos estudiados en estas poblaciones.

Tabla 5. Estudios realizados sobre los diferentes tipos de cáncer asociados a CYP1B1 y evidencia reportada

Enfermedad (n.º de estudios)	Estudio (n)	Resultados	Referencias (año)
Cáncer de próstata (3)	Metaanálisis: casos (3,221) - controles (3,447)	Polimorfismo Leu432Val: Val/Val vs. Leu/Leu (OR: 1.07, p = 0.67); Leu/Val vs. Leu/Leu (OR: 1.05, p = 0.42). Asiáticos Val/Val vs. Leu/Leu OR: 2.48, p = 0.02; Leu/Leu vs. Leu/Leu OR: 1.40, p = 0.03	57 (2012)
	Metaanálisis: casos (2,788) - controles (2,968)	Polimorfismo 4326C/G: factor de riesgo alelo G OR: 1.100, p = 0.014; GC vs. CC OR: 1.10, p = 0.421; GG vs. CC OR: 1.15, p = 0.027	58 (2012)
	Metaanálisis: G119T - casos (15,376) - controles (18,382)	Polimorfismo G119T: TT vs. GG OR: 1.59, p = 0.051; G/T vs. G/G OR: 1.31, p = 0.305	59 (2015)
Cáncer colorectal (2)	A453G - casos (27,983) - controles (35,839)	Polimorfismo A453G: G/G vs. A/A OR: 1.266, p = 0.277; A/G vs. A/A OR: 1.182, p = 0.045	60 (2012)
	Metaanálisis: casos (6,375) - controles (7,003)	Polimorfismo Asn453Ser: factor de riesgo G/G vs. A/A OR: 0.94, p < 0.05; G/A vs. A/A OR: 0.99, p < 0.05	
Cáncer hepatocelular (1)	Metaanálisis: casos (8,466) - controles (9,301)	Polimorfismo (Leu432Val): G/G vs. C/C OR: 1.01, p < 0.05; G/C vs. C/C OR: 0.97, p < 0.05	61 (2012)
	Casos (468) - controles (515)	Polimorfismo rs1056836: alelo de riesgo G OR: 2.13, p < 0.05; combinación del genotipo G/G con el hábito de fumar OR: 13.97, p < 0.05	62 (2015)
Cáncer de laringe (1)	Casos (300) - controles (300)	Polimorfismo rs1056827: alelo de riesgo T OR: 1.43, p < 0.0034 Polimorfismo rs1056836: alelo de riesgo G OR: 0.56, p < 0.0027	63 (2015)
Cáncer de pulmón (1)	Metaanálisis: casos (7,067) - controles (9,374)	Polimorfismo 432GG vs. CC tuvo un 39.7% de riesgo y el alelo de riesgo G tuvo un riesgo del 26.3% Polimorfismo 119TT OR: 2.13, p < 0.05 Polimorfismo 48G/G: factor de riesgo OR: 3.859, p < 0.05	64 (2012)
Cáncer renal (1)	Casos (133) - controles (208)	Polimorfismo G/G (Ala119): factor de riesgo OR: 2.08, p < 0.05	65 (2012)

Tabla 6. Estudios realizados sobre los diferentes tipos de cáncer asociados a CYP2E1 y el nivel de evidencia reportada

Enfermedad (n.º de estudios)	Estudio (n)	Resultados	Referencias (año)
Cáncer gástrico (2)	Casos (510) - controles (510)	Polimorfismo PstI/RsaI: factor de riesgo para C2/C2 OR: 2.15, p < 0.05; alelo de riesgo C2 OR: 1.48, p < 0.05	66 (2012)
	Casos (105) - controles (118)	Polimorfismo rs2031920: alelo de riesgo OR: 8.38, p < 0.0001	67 (2015)
Cáncer colorectal (1)	Metaanálisis: rs2031920 - casos (5,291) - controles (6,477)	Polimorfismo rs2031920: c2 vs. c1 OR: 1.19, p = 0.02; c2/c2 vs. c2/c1 OR: 1.16, p = 0.046	68 (2013)
	rs3813867 - casos (2,312) - controles (3,002)	Polimorfismo rs3813867: c2 vs. c1 OR: 0.96, p = 0.67; c2/c2 vs. c2/c1 OR: 1.26, p = 0.67	
Carcinoma de tiroides (1)	Metaanálisis: casos (767) - controles (2,429)	Polimorfismo rs2480258: factor de riesgo G/A OR: 1.24, p < 0.05 y A/A OR: 1.56, p < 0.05	69 (2016)
Hepatocarcinoma (1)	Metaanálisis: casos (1,661) - controles (2,317)	Polimorfismo PstI/RsaI: factor de riesgo c2/c2 vs. c1/c1 OR: 0.73, p < 0.05; c1/c2 vs. c1/c1 OR: 1.00, p < 0.05 Alelo de riesgo c2 y alcoholismo OR: 1.73, p < 0.05	70 (2012)

Tabla 7. Citocromos estudiados por su asociación con enfermedades en muestras de diferentes poblaciones

Citocromo (CYP)	Muestras (países)	Citocromo (CYP)	Muestras (países)	Citocromo (CYP)	Muestras (países)
1B1	Brasil	2D6	España	4F	China
	Eslovaquia		China		India
	Turquía		Brasil		
	Arabia Saudita		República Checa		2C9
	Estados Unidos de Norteamérica		Rusia		China
	Australia				Austria
			Estados Unidos de Norteamérica		Estados Unidos de Norteamérica
	Portugal				
	España		China		4A11
	India		Italia		Japón
1A1	China	2E1	Brasil	3A5	China
	India		India		
	Brasil		Taiwán		1A2
	Malasia				China
		2C19	Corea	2W1, 4F11	
			Estados Unidos de Norteamérica		México
		17	Japón	8A1	
			China		2J2
					China
			Estados Unidos de Norteamérica	2C8	China
			India		
			China		

POLIMORFISMOS COMO POSIBLES BIOMARCADORES

La mayoría de las enfermedades se deben a factores ambientales y genéticos; de ahí la necesidad de estudiarlos para obtener un perfil molecular de una determinada enfermedad. Los polimorfismos genéticos o de un solo nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*) en enzimas involucradas en la degradación y eliminación de xenobióticos y de sustratos endógenos presentan variabilidad en el metabolismo de los individuos⁴. Es por ello que su uso como biomarcadores puede ser un factor clave en la medicina. Se entiende como biomarcadores a las biomoléculas, características específicas o indicadores de un cambio en cualquier estructura biológica que pueden ser objetivamente medidos en un organismo vivo. Estos indican un estado biológico normal, algún proceso patológico o bien manifiestan la respuesta a un tratamiento farmacológico^{4,77,78}. Para el establecimiento de algún SNP como posible biomarcador, primero se tiene que

identificar el polimorfismo que esté asociado con alguna enfermedad. Generalmente se hace mediante dos estrategias diferentes: a) estudios de asociación de genoma completo (GWAS, *genome-wide association studies*), en los que se analiza el genoma completo de determinadas regiones o genes, pues no se parte de un gen candidato en concreto; y b) estudios de asociación de genes candidatos y de patogénesis, ya que para la mayoría de las enfermedades existe una gran cantidad de estudios que han identificado genes o regiones cromosómicas de interés^{78,79}. Posteriormente se realiza la genotipificación en una muestra determinada de pacientes y de controles, y se analizan los resultados obtenidos. Una vez que los biomarcadores han sido descubiertos y seleccionados, no solo se considera la significancia estadística, sino también su potencial para resolver realmente un problema clínico y la relación coste-efectividad.

Es por ello que la búsqueda de factores genéticos como biomarcadores adecuados y fiables asociados a

enfermedades podría contribuir a tomar medidas oportunas de prevención, así como a un mejor pronóstico del curso de las enfermedades. Existen dos tipos de biomarcadores importantes para el campo de la biomedicina:

- Biomarcadores predictivos, que proporcionan información sobre qué personas o pacientes es probable e improbable que se asocien con alguna enfermedad o variable sujeta a investigación, o bien que se beneficien con un tratamiento específico.
- Biomarcadores de pronóstico, que reflejan el riesgo inicial o el avance de una enfermedad, además de proveer información sobre el resultado a largo plazo de los pacientes no tratados comparados con los que recibieron tratamiento^{78,79}.

Para el desarrollo de biomarcadores es necesario considerar la validación y la utilidad clínica en el contexto de ensayos clínicos aleatorizados, que son el estándar de referencia para evaluar la utilidad clínica^{78,79}. La encargada de la validación y la aprobación de los biomarcadores en la práctica clínica es la Food and Drug Administration (FDA), que define a un biomarcador validado como aquel que es medido mediante un sistema analítico cuyo procedimiento está bien establecido y cuyo significado científico en el campo biológico, toxicológico, farmacológico o clínico está bien establecido^{78,79}. La criterios de validación analítica, clínica y de utilidad para un biomarcador dependerán del uso previsto. La validación analítica se refiere al establecimiento de la robustez, la reproducibilidad del ensayo y la precisión de la medición (sensibilidad y especificidad) relativas a un estándar en una cohorte inicial. La validación clínica se refiere al establecimiento de la capacidad del biomarcador en la identificación o asociación con alguna enfermedad, o bien del efecto estudiado en pacientes⁷⁷⁻⁷⁹ en una segunda cohorte independiente, generalmente en las fases I y II de ensayos clínicos, seguidos por otros ensayos con mayor tamaño de muestra (fases III y IV). La decisión de continuar con el proceso de implantación de un biomarcador depende de su utilidad en la práctica clínica habitual. Hasta el momento, los avances en la biotecnología y la genómica han contribuido gradualmente al estudio molecular de muchas enfermedades y han generado conocimiento sobre las fuentes de heterogeneidad; sin embargo, son pocos los biomarcadores recogidos en la FDA para los que realmente se recomienda realizar un test genético al tomar una decisión terapéutica.

CONCLUSIONES

En los últimos años, el estudio de los polimorfismos de *CYP P450* asociados a enfermedades ha sido de gran interés, lo que se ve reflejado en el incremento en el número de publicaciones cada año. Citocromos como CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1 y CYP2D6 han sido de los más estudiados, ya que se expresan en varios tejidos y órganos, además que estar involucrados en varias reacciones importantes dentro del metabolismo de sustratos endógenos y de xenobióticos. El cáncer es la enfermedad más común asociada a los polimorfismos de *CYP P450*, con 14 tipos de cáncer asociados a 13 citocromos. Sin embargo, no hay replicación de estudios para una misma enfermedad en una población ni en distintas poblaciones. Cabe mencionar que para CYP1A1 y CYP1B1 se han realizado metaanálisis para el cáncer de próstata, de mama, de cérvix, hepatocelular y de ovario; además, ambos citocromos se han estudiado en forma independiente y en combinación. El metaanálisis reduce la probabilidad de cometer errores tipo I y II al aumentar considerablemente el tamaño de las muestras, lo que proporciona una mayor confianza en las asociaciones identificadas y ayuda a esclarecer las controversias en la información. Cabe mencionar que la tendencia actual es investigar la interacción de varias enzimas que pudieran estar involucradas en una misma enfermedad. La población más estudiada es la china, con estudios sobre 15 de los 18 citocromos que hasta el momento se han asociado a enfermedades y que ha replicado estudios dentro de su población. La mayoría de los estudios existentes no se han replicado en la misma población ni en otros países. Tanto los metaanálisis como los estudios de casos y controles presentaron algunas limitaciones, principalmente estos últimos. Algunas de estas limitaciones son que no se realizaron ajustes en las mediciones, no consideraron subtipos dentro de una misma enfermedad, no consideraron la diferencia debida a la variabilidad étnica, los tamaños de muestra fueron pequeños, hubo poca replicación de estudios, etc. Recientemente se busca que los polimorfismos identificados sean útiles como biomarcadores (pronóstico o prevención), por lo que son necesarias más investigaciones que, además de identificarlos, validen y prueben que son adecuados y fiables para que así contribuyan a tomar medidas oportunas de prevención y mejoren el pronóstico del curso de las enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión constituye un cumplimento parcial del plan académico para la graduación en el Programa en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. PAPIIT IN218216, DGAPA-UNAM.

BIBLIOGRAFÍA

- Guengerich P. Unusual cytochrome P450 enzymes and reactions. *J Biol Chem*. 2013;288:17065-73.
- Pikuleva I, Waterman M. Cytochromes P450: roles in diseases. *J Biol Chem*. 2013;288:17091-8.
- Zanger U, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013;138:103-41.
- Pérez-Prieto R, Cabaleiro T, Abad-Santos F. Cómo se establece la relevancia clínico-farmacológica de polimorfismos. *Actualidad en Farmacología y Terapéutica*. 2012;10:91-4.
- Souzeau E, Hayes M, Ruddie JB, et al. CYP1B1 copy number variation is not a major contributor to primary congenital glaucoma. *Mol Vis*. 2015;21:160-4.
- Cardoso MS, Anjos R, Viera L, Ferreira C, Xavier A, Brito C. CYP1B1 gene analysis and phenotypic correlation in Portuguese children with primary congenital glaucoma. *Eur J Ophthalmol*. 2015;25:474-7.
- Lim S, Tran-Viet K, Yanovitch T, et al. CYP1B1, MYOC, and LTBP2 mutations in primary congenital glaucoma patients in the United States. *Am J Ophthalmol*. 2013;155:508-17.
- Su C, Liu Y, Yang J, Yen Y. Mutations in the CYP1B1 gene may contribute to juvenile-onset open-angle glaucoma. *Eye*. 2012;26:1369-77.
- Dong S, Yang J, Yu W, Kota P, Xia P, Xu H. No association of genetic polymorphisms in CYP1B1 with primary open-angle glaucoma: a meta- and gene- based analysis. *Mol Vis*. 2012;18:786-96.
- Khan A, Aldahmesh MA, Mohamed JY, Hijazi H, Alkuray F. CYP1B1 analysis of unilateral primary newborn glaucoma in Saudi children. *J AAPOS*. 2012;16:571-2.
- Piccinato C, Neme RM, Torres N, et al. Increased expression of CYP1A1 and CYP1B1 in ovarian/peritoneal endometriotic lesions. *Reproduction*. 2016;151:683-92.
- Luptáková L, Siváková D, Srámková D, Čvickelová M. The association of cytochrome P450 1B1 Leu432Val polymorphism with biological markers of health and menopausal symptoms in Slovak midlife women. *Menopause*. 2012;19:216-24.
- Marins DM, Vidal FC, Souza RD, Brusca SA, Brito LM. Determination of CYP2D6*3, *4, and *10 frequency in women with breast cancer in São Luís, Brazil, and its association with prognostic factors and disease-free survival. *Braz J Med Biol Res*. 2014;47:1008-15.
- Dudarewicz M, Rychlik-Sych M, Baranska M, et al. Significance of the genetic polymorphism of CYP2D6 and NAT2 in patients with inflammatory bowel diseases. *Pharmacol Rep*. 2014;66:686-90.
- Lu Y, Qin X, Zhang X, et al. Quantitative assessment of CYP2D6 polymorphisms and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Neurol Sci*. 2014;343:15-22.
- Neopmyashchikn DL, Vavilin VA, Aidagulova SV, et al. Cytochrome P450 2D6 polymorphism is a molecular genetic marker of liver cirrhosis progression. *Bull Exp Med*. 2012;152:633-66.
- Baranska M, Rychlik M, Kaszuba A, Dziankowska B, Waszczykowska E. Genetic polymorphism of CYP2D6 with systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis. *Autoimmunity*. 2016;1-6.
- Peñas-Lledó EM, Dorado P, Agüera Z, et al. CYP2D6 polymorphism in patients with eating disorders. *Pharmacogenomics J*. 2012;12:173-5.
- Blasco H, Peñas E, Vaquero C, et al. CYP2D6 polymorphism and mental and personality disorders in suicide attempters. *J Pers Disord*. 2014;28:873-83.
- Wie X, Zhang D, Dou X, et al. Elevated 14, 15-epoxyeicosatrienoic acid by increasing of cytochrome P450 2C8, 2C9, and 2J2 and decreasing of soluble epoxide hydrolase associated with aggressiveness of human breast cancer. *BMC Cancer*. 2014;18:841.
- Wang H, Ren L, He Y, et al. Association between cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms and colorectal cancer susceptibility: evidence from 16 case-control studies. *Tumor Biol*. 2014;35:4317-22.
- Fu Z, Zhu Q, Ma Y, et al. Diplotypes of CYP2C9 gene is associated with coronary artery disease in the Xinjiang Han Population for women in China. *Lipids Health Dis*. 2014;13:143.
- Brunner-Ziegler S, Giurgea GA, Sunder-Plassmann R, et al. CYP2C9 genotype and association with bone mineral density: a pilot study. *Gene*. 2013;526:295-8.
- Zhou B, He S, Wang Xi, Zhen X, Su S, Tan W. Metabolism of arachidonic acid by the cytochrome P450 enzyme in patients with chronic Keshan disease and dilated cardiomyopathy. *Biomed Rep*. 2016;4:251-5.
- Sorich MJ, Polasek TM, Wiese MD. Systematic review and meta-analysis of the association between cytochrome P450 2C19 genotype and bleeding. *Thromb Haemost*. 2012;108:199-200.
- Kajiwara A, Sauwatari J, Kita A, et al. Sex differences in the effect of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on the risk of diabetic retinopathy: a retrospective longitudinal study in Japanese patients with type 2 diabetes. *Pharmacogenet Genomics*. 2013;23:1-4.
- Zou J, Ma Y, Xie X, Yang Y, Lui F. Association between CYP1A1 genetic polymorphisms and coronary artery disease in Uyghur population in Xinjiang, China. *Zhonghua Liu Xing Bing Za Zhi*. 2015;36:393-8.
- Rai R, Sharma K, Misra S, Kumar A, Mittal B. CYP17 polymorphism (rs743572) is associated with increased risk of gallbladder cancer in tobacco users. *Tumor Biol*. 2014;35:6531-7.
- Chua A. Association study of CYP17 and HSD11B1 in polycystic ovary syndrome utilizing comprehensive gene coverage. *Mol Human Reprod*. 2012;18:320-4.
- Fu Z, Ma Y, Xie X, et al. A novel polymorphism of the CYP4A11 gene is associated with coronary artery disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2013;19:60-5.
- Fu Z, Nakayama T, Sato N, et al. Haplotype-based case-control study of CYP4A11 gene and myocardial infarction. *Hereditas*. 2012;149:91-8.
- Yi X, Zhang B, Wang C, Liao D, Lin J, Chi L. CYP2C8 rs17110453 and EPHX2 rs751141 two-locus interaction increases susceptibility to ischemic stroke. *Gene*. 2015;565:85-9.
- Yan H, Kong Y, He B, et al. CYP2J2 rs890293 polymorphism is associated with susceptibility to Alzheimer's disease in the Chinese Han population. *Neurosci Lett*. 2015;593:56-60.
- Krivospitskaya O, Elmabsout A, Sundman E, et al. A CYP26B1 polymorphism enhances retinoic acid catabolism and may aggravate atherosclerosis. *Mol Med*. 2012;18:712-8.
- Sia SK, Chiou HL, Chen SC, Tsai CF, Yang SF, Ueng KC. Distribution and phenotypic expression of mineralocorticoid receptor and CYP11B2 T-344C polymorphisms in a Taiwanese hypertensive population. *Mol Biol Rep*. 2013;40:3705-11.
- Munshi A, Sharma V, Kaul S, et al. Association of 1347 G/A cytochrome P450 4F2 (CYP4F2) gene variant with hypertension and stroke. *Mol Biol Rep*. 2012;39:1677-82.
- Ding H, Cui G, Zhang L, et al. Association of common variants of CYP4A11 and CYP4F2 with stroke in the Han Chinese population. *Pharmacogenet Genomics*. 2010;20:187-94.
- Xie YQ, Liu Y. Interaction of the CYP1A1 gene polymorphism and smoking in non-small cell lung cancer susceptibility. *Genet Mol Res*. 2016;14:19411-7.
- Xia L, Gao J, Liu Y, Wu K. Significant association between CYP1A1 T3801C polymorphism and cervical neoplasia risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol*. 2013;34:223-30.
- Yang S, Jia C, Zhu H, Han S. CYP1A1 Ile462Val polymorphism and cervical cancer: evidence from a meta-analysis. *Tumor Biol*. 2012;33:2265-72.
- Tan YH, Sidk SM, Syed H, Lye MS, Chong PP. CYP1A1 MspI polymorphism and cervical carcinoma risk in the multi-ethnic population of Malaysia: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17:57-64.
- Han G, Ma Y, Liu P, Wei X, Zhang X, Zhy F. Quantitative synthesis of the association between the cytochrome P450 1A1 Ile462Val polymorphism and prostate cancer risk. *Tumor Biol*. 2013;34:1511-6.
- Souiden Y, Mahdouani M, Chaleb K, Bakhrout A, Mahdouani K. Lack of association of CYP1A1 polymorphism with prostate cancer susceptibility of Tunisian Men. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16:661-6.
- Meng FD, Ma P, Sui CG, Tian X, Jiang YH. Association between cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene polymorphisms and the risk of renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5:8108.
- Lakkireddy S, Aula S, Avn S, Kapley A, Rao Digumarti R, Jamil K. Association of the common CYP1A1*2C variant (Ile462Val polymorphism) with chronic myeloid leukemia (CML) in patients undergoing imatinib therapy. *Cell J*. 2015;17:510-9.
- Wang CD, Chen N, Huang L, et al. Impact of CYP1A1 polymorphisms on susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:942958.
- Proença MA, Fernandes GM, Russo A, et al. A case-control of CYP2E1 (PstI) and CYP1A1 (MspI) polymorphisms in colorectal cancer. *Genet Mol Res*. 2015;14:17856-63.
- Zheng H, Zhao Y. Association of CYP1A1 MspI polymorphism in the esophageal cancer risk: a meta-analysis in the Chinese population. *Eur J Med Res*. 2015;30:20-46.
- Li L, Li JG, Liu CY, Ding YJ. Effect of CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms on bone tumor susceptibility. *Genet Mol Res*. 2015;14:16600-7.

50. Yu BW, Zhang LQ, Teng XL, Zhang Y, Zou LB, Ying HY. Association between the CYP1A1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2015;14:1076-84.
51. Oliveira CB, Cardoso-Filho C, Bossi LS, Lourenço GJ, Costa-Gurgel MS, Lima CS. Association of CYP1A1 and T6235C polymorphisms with the risk of sporadic breast cancer in Brazilian women. *Clinics*. 2015;70:680-5.
52. Berber U, Yilmaz I, Yilmaz O, et al. CYP1A1 (Ile462Val), CYP1B1 (Ala119Ser and Val432Leu), GSTN1 (null) and GSTT1 (null) polymorphisms and bladder cancer risk in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;11:3925-9.
53. Sergeantanis TN, Economopoulos KP, Choussein S, Vlahos NF. Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene polymorphisms and ovarian cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012;39:9921-30.
54. Zhuo X, Zhao H, Chang A, et al. Cytochrome P450 1A1 Ile462Val polymorphism and oral carcinoma risk: an updated meta-analysis including 1,515 cases and 2,333 controls. *Tumor Biol*. 2012;33:2079-89.
55. Cury NM, Russo A, Galbiatti AL, et al. Polymorphisms of CYP1A1 and CYP2E1 gene in head and neck squamous cell carcinoma risk. *Mol Biol Rep*. 2012;39:1055-63.
56. Zhuo W, Zhang L, Qiu Z, Zhu B, Chen Z. Does cytochrome P450 1A1 MspI polymorphism increase acute lymphoblastic leukemia risk? Evidence from 2,013 cases and 2,903 controls. *Gene*. 2012;510:14-21.
57. Cui L, Dillehay K, Chen W, Shen D, Dong Z, Li W. Association of the CYP1B1 Leu432Val polymorphism with the risk of prostate cancer. *Mol Biol Rep*. 2012;39:7465-71.
58. Yang J, Xu D, Lu Q, et al. Prostate cancer risk and aggressiveness association with the CYP1B1 432601G (Leu432Val) polymorphism: a meta-analysis of 2788 cases and 2968 controls. *Asian J Andrology*. 2012;14:560-8.
59. Li C, Long B, Qin X, Li W, Zhou Y. Cytochrome P1B1 (CYP1B1) polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 52 studies. *Toxicol*. 2015;327:77-86.
60. Mei Q, Zhou D, Han J, Lu H, Tang B. CYP1B1 Asn453Ser polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Metabolism*. 2012;61:1321-9.
61. Xie Y, Liu GQ, Milao XY, Liu Y, Zhou W, Zhoun DW. CYP1B1 Leu432Val polymorphism and colorectal cancer risk among Caucasians: a meta-analysis. *Tumor Biol*. 2012;33:809-16.
62. Liu F, Luo LM, Wei YG, et al. Polymorphisms of the CYP1B1 gene and hepatocellular carcinoma risk in a Chinese population. *Gene*. 2015;564:14-20.
63. Yu PJ, Chen WG, Feng QL, Chen W, Jiang MJ, Li ZQ. Association between CYP1B1 gene polymorphisms and risk factors and susceptibility to laryngeal cancer. *Med Sci Monit*. 2015;21:239-45.
64. Xu W, Zhou Y, Hang X, Shen D. Current evidence on the relationship between CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012;39:2821-9.
65. Salinas-Sánchez A, Sánchez-Sánchez F, Donate-Moreno MJ, et al. GSTT1, GSTM1, and CYP1B1 gene polymorphisms and susceptibility to sporadic renal cell cancer. *Urol Oncol*. 2012;30:864-70.
66. Feng J, Pan X, Yu J, et al. Functional Pst I/Rsa I polymorphism in CYP2E1 is associated with the development, progression and poor outcome of gastric cancer. *Plos One*. 2012;7:e4478.
67. Elingarami S, Liu H, Kalinjuma AV, Hu W, Li S, He N. Polymorphisms in NEIL-2, APE-1, CYP2E1 and MDM2 genes are independent predictors of gastric cancer risk in Northern Jiangsu Population. *J Nanosci Nanotechnol*. 2015;15:4815-28.
68. Peng H, Xie SK, Huang MJ, Ren DL. Association of CYP2E1 rs2031920 and rs3813867 polymorphisms with colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol*. 2013;34:2389-95.
69. Pellé L, Cipollini M, Tremmel R, et al. Association between CYP2E1 polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinoma. *Arch Toxicol*. 2016;90:3099-109.
70. Liu C, Wang H, Pan C, Shen J, Liang Y. CYP2E1 1 PstI/Rsa I polymorphism and interaction with alcohol consumption in hepatocellular carcinoma susceptibility evidence from 1,661 cases and 2,317 controls. *Tumor Biol*. 2012;33:979-84.
71. Wang B, Liu Z, Xu WX, Sun SL. CYP3A5*3 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Tumor Biol*. 2013;34:2357-66.
72. Wang H, Zhang Z, Han S, Lu Y, Feng F, Yan J. CYP1A2 rs762551 polymorphism contributes to cancer susceptibility: a meta-analysis from 19 cases-controls studies. *BMC Cancer*. 2012;12:528.
73. Cárdenas-Rodríguez N, Lara-Padilla E, Bandala C, et al. CYP2W1, CYP4F11, and CYP8A1 polymorphisms and interaction of CYP2W1 genotypes with risk factors in Mexican women with breast cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2012;13:837-41.
74. Fernández-Santander A, Del Saz-Sánchez M, Tejerina-Gomez A, Bandrés-Moya F. CYP2D6 allele and breast cancer risk: is there any association? *Clin Transl Oncol*. 2012;14:157-9.
75. Ghoshal U, Tripathi S, Kumar S, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, and CYP2E1 genes modulate susceptibility to gastric cancer in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Gastric Cancer*. 2014;17:226-34.
76. Kaminagakura E, Caris A, Coutinho-Camillo C, Soares FA, Takahama-Júnior A, Kowalski LP. Protein expression of CYP1A1, CYP1B1, ALDH1A1, and ALDH2 in young patients with oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45:706-12.
77. Arango S. Biomarkers for the evaluation of human health risks. *Rev Fac Nac Salud Pública*. 2011;30:75-82.
78. Pérez-Prieto R, Cabaleiro T, Abad-Santos F. Cómo se establece la relevancia clínico-farmacológica de polimorfismos. *Actualidad en Farmacología y Terapéutica*. 2012;10:91-4.
79. Matsui S. Genomic biomarkers for personalized medicine: development and validation in clinical studies. *Comput Math Methods Med*. 2013;2013:865980.



Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México

Nidia Samara Rodríguez-Rivera,* Patricia Cuautle-Rodríguez,** Juan Arcadio Molina-Guarneros*

RESUMEN

De acuerdo con su mecanismo de acción, existen cinco grupos principales de hipoglucemiantes orales para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2: secretagogos de insulina (sulfonilureas y glinidas), sensibilizadores a la insulina (biguanidas y tiazolidinedionas), inhibidores de α -glucosidasa, agonistas de GLP-1 e inhibidores de DPP-4. En la regulación mexicana, tanto la Norma Mexicana 015-SSA-2010 como la guía clínica contemplan el uso de estos fármacos basadas en las evidencias científicas reportadas. El cuadro básico de uso de medicamentos no concuerda por completo con los medicamentos que citan tanto la norma como las guías. Algunos fármacos que ya han sido retirados en otros países dada su evidencia de efectos adversos siguen siendo utilizados en nuestro país y considerados en el cuadro básico. No existen muchos datos respecto al costo-beneficio de los medicamentos sugeridos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2; hace falta información que fundamente la inclusión o exclusión de algunos fármacos en este esquema. Datos recientes indican que en el país existe una menor disponibilidad de medicamentos para padecimientos crónicos en el sector salud, lo que se traduce en mayor gasto para el paciente y menor control de la enfermedad. Es necesario replantear y unificar las políticas de uso y abastecimiento considerando los datos presentes en la literatura y las necesidades y condiciones de nuestra población.

Palabras clave: Diabetes mellitus tipo 2, hipoglucemiantes orales, regulación mexicana.

ABSTRACT

According to its action mechanism, there are five groups of oral hypoglycemic agents for the treatment of diabetes mellitus type 2: insulin secretagogues (sulphonylureas and glinides), insulin sensitizers (biguanides and thiazolidinediones), α -glucosidase inhibitors, GLP-1 agonists, and DPP-4 inhibitors. Mexican regulation (NOM-015-SSA2010) and clinical guides contemplate the use of these drugs based on reported scientific evidence. The real basic drug-use chart does not completely correspond to this current regulation. Some drugs already retired from the market in other countries due to their side effects are still in use in our country and considered in the basic drug-use chart. There are few data on the cost-benefit of the currently recommended drugs against diabetes mellitus type 2. There is not enough information to justify the addition or exclusion of drugs to the basic medical scheme. Recent data indicate that there is a poor availability of drugs to treat chronic diseases in the public health system. This causes an expense increase for patients as well as a decrease in the control of the disease. It is necessary to reconsider and unify both drug use and supply policies, considering the data present in the available literature and the conditions and needs of our population.

Key words: Diabetes mellitus type 2, oral hypoglycemic agents, Mexican regulation.

www.medigraphic.org.mx INTRODUCCIÓN

En México, la DMT2 se ha convertido en una epidemia creciente que encabeza la lista de mortalidad general en los últimos años, con niveles en aumento de pacientes y defunciones. La tasa de mortalidad por esta enfermedad, con base en las estadísticas oficiales de la Secretaría de Salud, va en alza, de 59.0% en 2004 a 70.8% en 2008,¹ siendo la segunda causa de muerte a nivel nacional.² Su

* Departamento de Farmacología.

** División de Investigación.

Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido: 20/12/2015. Aceptado para publicación: 28/01/2016.

prevalencia es de 11.8% de acuerdo con la ENSANUT 2012,³ lo que corresponde aproximadamente a 6.4 millones de adultos mexicanos diagnosticados con diabetes (9.17% de la población adulta, versus 7% en la ENSANUT 2006) y un estimado de seis millones de enfermos sin diagnosticar.⁴ Entre el 70 y 75% de los pacientes diagnosticados se encuentran descontrolados.⁵

El tratamiento farmacológico inicial para tratar la DMT2 consiste en el uso de hipoglucemiantes orales. Existen cinco grupos principales de fármacos que se utilizan para el control de la DMT2: sulfonilureas, glinidas, biguanidas, tiazolidinedionas e inhibidores de α -glucosidasa (Cuadro 1).

Sulfonilureas

Las sulfonilureas son secretagogos de insulina, inhiben los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) y promueven la liberación de insulina a largo plazo.⁶ Generalmente, las sulfonilureas se administran en combinación con biguanidas como metformina, lo cual incrementa la efectividad terapéutica.⁷

En las células β -pancreáticas, la glucosa es transportada al citosol por el transportador de glucosa 2 (GLUT-2), donde se desata la producción de ATP y disminuye el ADP. Los K_{ATP} son bloqueados por ATP de forma fisiológica. El aumento en la glucosa citosólica disminuye entonces la actividad de los K_{ATP} lo que ocasiona que la membrana

se despolarice, desencadena un potencial de acción que activa canales de calcio de tipo L dependientes de voltaje ($L-Ca^{2+}$) y provoca un influjo de Ca^{2+} que origina la exocitosis de gránulos transportadores de insulina.⁸

Glinidas

Las glinidas o meglitinidas estimulan la secreción de la insulina durante la primera fase de su liberación por un mecanismo similar al de las sulfonilureas, al unirse y bloquear a los K_{ATP} despolarizando la membrana y favoreciendo la liberación de insulina vía la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje.

Las glinidas no inducen una liberación prolongada de insulina; es decir, su tiempo de acción es menor al de las sulfonilureas. La concentración máxima se alcanza alrededor de una hora después de su administración,⁹ por lo que deben darse antes de cada comida. Se sabe que su absorción no se ve alterada por la composición de la comida.¹⁰ Se postula que la rápida acción de las glinidas favorece un menor estrés en las células β -pancreáticas, lo que elimina la necesidad de una secreción casi constante de insulina y disminuye también el riesgo de hipoglucemia.

Las más utilizadas son repaglinida y nateglinida. La eficacia de estas en la regulación de la glucosa en ayunas y postprandial durante la fase temprana de secreción de insulina es similar, aunque el efecto de repaglinida en la disminución de la hemoglobina glucosilada es mayor.¹¹

Cuadro 1. Hipoglucemiantes orales de acuerdo con su mecanismo de acción.

Blanco	Mecanismo de acción	Fármaco	Ejemplo	Descripción
Insulina	Secretagogos	Sulfonilureas	Tolbutamida, clorpropamida, glibenclamida, glipizida	Estimulan secreción de la insulina al unirse y bloquear a los receptores SUR1 que despolarizan la membrana, favoreciendo la liberación de insulina vía la apertura de canales de Ca dependientes de voltaje
	Sensibilizadores	Glinidas Biguanidas	Nateglinida, repaglinida Metformina, buformina, fenformina	Reducen la producción hepática de insulina
		Tiazolidinedionas	Pioglitazona, rosiglitazona	
Otros	Inhibidores de α -glucosidasa		Acarbosa, miglitol	Reducen la absorción de carbohidratos intestinales
	Agonistas de GLP-1		Exenatida y liraglutida	Se unen al receptor a GLP-1
	Inhibidores de DPP-4		Sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina	Inhiben a la enzima DPP-4, incrementando el tiempo de acción de incretina

* GLP-1 = Péptido parecido al glucagón-1. DPP-4 = Dipeptidil peptidasa-4. Modificado de: [7,46].



Biguanidas

Las biguanidas son sensibilizadoras a la insulina que disminuyen la hiperglucemia sin estimular la producción de insulina. Aunque pueden producir ganancia de peso e hipoglucemia,¹² tienen efectos benéficos en reducir los lípidos circulantes, cuyo incremento está asociado a un mayor riesgo cardiovascular.¹³ El principal efecto adverso que presentan es la acidosis láctica.¹⁴

La metformina es la más popular y utilizada en este grupo; es una dimetilguanida que reduce los niveles elevados de glucosa sanguínea al disminuir la producción hepática de glucosa e incrementar la sensibilidad periférica a insulina,¹⁵ inhibe la absorción intestinal de glucosa¹⁶ e incrementa la recaptura de glucosa por músculo esquelético.¹⁷

Después de su administración oral, la metformina es absorbida en el intestino por el transportador de monoaminas de la membrana plasmática (PMAT)¹⁸ y llevada por la vena portal hepática al hígado por el transportador de iones orgánicos 1 (OCT1);¹⁹ no se conocen interacciones importantes con otros fármacos. Su eliminación vía renal está mediada por OCT2 y se excreta sin ser metabolizada.¹⁴

Tiazolidinedionas

Las tiazolidinedionas (TZD) o glitazonas, como rosiglitazona y pioglitazona, son sensibilizadoras a la insulina al ser agonistas selectivos del receptor peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR γ), un receptor de la membrana nuclear que se expresa principalmente en adipositos. Su mecanismo de acción preciso y sus efectos metabólicos aún no son completamente claros. El PPAR γ está involucrado en la diferenciación de adipositos y en la captura y almacenamiento de ácidos grasos.²⁰

Las TZD disminuyen la resistencia a insulina y aumentan la respuesta a insulina endógena. Aumentan la expresión de genes involucrados en la adipogénesis y la oxidación de ácidos grasos e interfieren con la expresión y liberación de mediadores de la resistencia a insulina en el tejido adiposo, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), resistina y adiponectina, incrementando la sensibilidad a insulina en músculo e hígado.²¹ Al usarse como monoterapia, las TZD disminuyen los niveles plasmáticos de hemoglobina glucosilada 1Ac (Hb1Ac) en niveles similares a las sulfonilureas, metformina o el tratamiento con insulina, sin causar hipoglucemia.²²⁻²⁴

Los efectos adversos reportados de estos fármacos han limitado su utilidad.²⁵ Se ha observado un riesgo de falla

cardiaca congestiva en 1 a 3% de los pacientes tratados con TZD debido al incremento en el volumen intravascular.^{26,27} Otros efectos adversos observados son a nivel óseo. En 2006 un estudio reportó una mayor incidencia de fracturas en pacientes tratados con rosiglitazona;²⁸ otros trabajos describen resultados más heterogéneos en cuanto al riesgo a fracturas en comparación con otros. Es posible que PPAR γ altere la formación y reabsorción ósea e induzca osteoporosis,^{29,30} aunque el mecanismo aún no es claro; se sabe que PPAR γ es un regulador de la diferenciación en las células estromales de la médula ósea, lo que favorece adipogénesis sobre blastogénesis³¹⁻³³ y podría ser la causa de la reabsorción ósea y mayor propensión a fracturas por osteoporosis, aunque la diferencia en cuanto al sexo aún no queda clara.

La activación de PPAR γ con TZD inhibe la proliferación celular y promueve apoptosis en células cancerosas en ratón.³⁴ El tratamiento con TZD ha sido asociado con la reducción en la incidencia de diferentes tipos de cáncer, como hepático, renal, colorrectal, de pulmón, próstata y mama.²⁰ No obstante, también se ha reportado un riesgo mayor en la incidencia de cáncer de vejiga en el tratamiento con TZD a largo plazo.^{35,36}

La FDA ha emitido recomendaciones para el uso de las TZD. En junio de 2011, la FDA advirtió que el uso de rosiglitazona por más de un año podría estar asociado con un aumento del riesgo de cáncer de vejiga. Recomendó que quienes estuvieran recibiendo tratamiento para el cáncer de vejiga no tomaran rosiglitazona y que las personas con antecedentes de cáncer deberían tomarlo con cautela. Aunque esta advertencia también incluía las píldoras combinadas para la diabetes que contienen pioglitazona, ésta aún se encuentra disponible como prescripción en Estados Unidos. A la fecha, sólo rosiglitazona y todas las formulaciones que la contienen han sido retiradas del mercado estadounidense por la FDA debido a riesgo cardiovascular de falla cardiaca y enfermedad coronaria arterial.³⁷ La Agencia Europea de Medicinas (EMA) recomendó el retiro de rosiglitazona del mercado en 2010.³⁸

Inhibidores de α -glucosidasa

Dentro de estos fármacos se incluyen acarbosa, miglitol y voglibosa, que bloquean la degradación enzimática de carbohidratos complejos en el intestino delgado, lo que disminuye la glucosa postprandial y mejora el control glucémico sin riesgo de aumento de peso o hipoglucemia;^{6,39} además, se ha observado que reducen las concentraciones de triglicéridos.⁴⁰ Aunque tienen la ventaja de su relativa seguridad, presentan poca tolerabilidad a

nivel gastrointestinal, lo que aunado a su alto costo, influye enormemente en su uso. Su potencial para disminuir la glucosa postprandial fue reportado por primera vez en los años 70 y fueron aprobados para su uso en el tratamiento de la DMT2 en los 90.⁴¹

Su mecanismo de acción se centra en impedir, mediante inhibición competitiva en los vellos intestinales de los enterocitos del borde dentado, que las α -glucosidasas y α -glucosidasa-hidrolasas (glucoamilasas) degraden disacáridos y oligosacáridos a monosacáridos antes de su absorción, retrasando la absorción de glucosa; es decir, se provoca una reducción en la producción de insulina postprandial mediante la atenuación del incremento de glucosa postprandial. Los inhibidores de α -glucosidasa disminuyen la secreción de polipéptidos inhibitorios gástricos y aumentan la secreción del péptido parecido a glucagón 1 (GLP-1).⁴¹

Debe ser tomada con las comidas, iniciando en dosis bajas (5 mg/día) debido a sus efectos adversos gastrointestinales; es importante que la dieta de un paciente tratado con estos fármacos sea rica en carbohidratos complejos, en lugar de azúcares simples.⁴²

Los inhibidores de α -glucosidasa son menos efectivos en la disminución de la glucemia que la metformina y las sulfonilureas (reducen Hb1Ac entre 0.5 a 1% en monoterapia);⁴³ sin embargo, inducen una disminución significativa de los niveles de glucosa postprandial sin causar incremento en la insulina circulante y sin riesgo de hipoglucemia.⁴⁰

AGONISTAS DE GLP-1 Y ANTAGONISTAS DE DPP-4

Estos fármacos son relativamente nuevos. GLP-1 es una hormona incretina, componente esencial de la homeostasis normal de la glucosa.⁴⁴ Induce la secreción de insulina dependiente de glucosa y regula la liberación de glucagón, reduciendo la hiperglucemia.⁴⁵ Los agonistas de GLP-1, exenatida y liraglutida, son péptidos que mimetizan la acción de incretina uniéndose al receptor para GLP-1 para mejorar el control glucémico, con la ventaja de tener una vida media mucho mayor a la de GLP-1 debido a una modificación química en su estructura: la ausencia de alanina en posición 2, que es el sitio catalítico reconocido por la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), lo que impide que DPP-4 los degrade,⁴⁶ conservando los mismos efectos glucorregulatorios de GLP-1.⁴⁷

Los agonistas de GLP-1 disminuyen los niveles de Hb1Ac entre 0.5 y 1%, principalmente por la reducción en la glucosa postprandial; también promueven la baja de peso.^{47,48} Se ha propuesto su uso como fármacos de

segunda línea en combinación con metformina o sulfonilureas cuando no se alcancen las metas glucémicas con monoterapia o cuando hay obesidad.⁴⁸ En diversas pruebas clínicas se ha observado, junto con la reducción glucémica, una significativa disminución de peso en comparación con pacientes tratados con placebo.^{47,49}

Un efecto adverso de la exenatida es la alta frecuencia de malestar gastrointestinal: de 30 a 45% de los pacientes tratados pueden sufrir uno o más episodios de vómito, náusea o diarrea.⁴⁶ Liraglutida parece presentar un mejor control glucémico y mayor tolerabilidad que exenatida, lo que permite el uso de mayores dosis a menores tomas.⁵⁰

Por otro lado, los inhibidores de DPP-4, sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina, son moléculas pequeñas que incrementan el efecto de GLP-1 y el péptido insulínico dependiente de glucosa, lo que aumenta la secreción de insulina dependiente de glucosa y suprime la secreción de glucagón.^{51,52}

En pruebas clínicas, los inhibidores de DPP-4 han mostrado una disminución de 0.6 a 0.9% en Hb1Ac; son, en general, bien tolerados y no causan hipoglucemia.⁴⁶

Existe la preocupación de que estos compuestos puedan interferir con la respuesta inmune y se han reportado algunas interacciones con el tracto respiratorio;⁴⁶ sin embargo, aún no existen datos significativos en cuanto a la seguridad y posibles efectos adversos a largo plazo de estos fármacos, y más estudios son necesarios.

USO DE HIPOGLUCEMIANTES ORALES EN MÉXICO

La Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria, establece que en el tratamiento farmacológico de la DMT2, los medicamentos que pueden utilizarse para su control son sulfonilureas, biguanidas, insulinas o sus combinaciones. Asimismo, se podrán emplear los inhibidores de la α -glucosidasa, tiazolidinedionas y otros que en su momento apruebe la Secretaría de Salud. En pacientes no obesos, las sulfonilureas son los fármacos de primera línea cuando no se logran las metas del tratamiento con manejo no farmacológico. En el caso de pacientes obesos, las biguanidas, esencialmente metformina, son los fármacos de primera línea. Cuando no se alcanzan las metas del tratamiento con la metformina después de llegar a aplicar dosis máximas, se puede combinar con sulfonilureas, o bien, sulfonilureas más inhibidores de la α -glucosidasa.⁵³

El cuadro básico y catálogo de medicamentos del sector salud establece los insumos que las instituciones públicas del Sistema Nacional de Salud deberán utilizar;

en su sección de endocrinología y metabolismo menciona para el tratamiento de la DMT2 a los siguientes hipoglucemiantes orales: glibenclamida, tolbutamida, metformina, acarbosa, linagliptina, pioglitazona, rimonabant, rosiglitazona, sitagliptina y vildagliptina (*Cuadro 2*).⁵⁴

La guía para el tratamiento de la DMT2 publicada por el Sector Salud se basa en evidencia científica para establecer el abordaje a seguir con los pacientes diabéticos, y establece a la metformina como tratamiento farmacológico de primera línea a menos que haya contraindicación a ella, en cuyo caso se sugiere el uso de sulfonilureas. La acarbosa sólo se sugiere en caso de falla con el resto de los hipoglucemiantes; se reconoce la importancia de sus efectos adversos y su alto costo. Se identifica la ventaja de los inhibidores de GLP-1 sobre las sulfonilureas y glinidas por su bajo riesgo de hipoglucemia y aumento de peso, pero se desconoce su seguridad a largo plazo. Se menciona que el tratamiento con TZD reduce la Hb1Ac entre 0.9 y 1.5%, pero que presentan efectos adversos como insuficiencia cardíaca y riesgo relativo de fracturas en mujeres, anemia e infarto al miocardio. No obstante, se recomienda la pioglitazona como fármaco de segunda elección en terapia combinada, al igual que las glinidas.⁵⁵ Se indican las glinidas y los inhibidores de α -glucosidasa en caso de hipoglucemia postprandial.

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (IDF, por sus siglas en inglés) las familias en Latinoamérica pagan entre 40 y 60% del costo del tratamiento para la DMT2 de su propio bolsillo.⁵⁶ Las estimaciones de la IDF del costo anual de la atención a la DMT2 en México son de 707 dólares por persona por año; con base en esta estimación, para 2012 se requirieron 3,872 millones de dólares para el manejo de la diabetes, lo que representa un incremento del 13% con respecto a lo estimado para 2011.⁴ Otro estudio reporta que el costo promedio anual por persona es de US\$196.60, lo que representa bajo estas cifras el 14.3% del ingreso anual por paciente.⁵⁷ Entre 2010 y 2012 hubo un aumento del 33% en el gasto en diabetes a nivel de servicios de salud;⁵⁸ no obstante, aun cuando la cobertura de servicios de salud se ha extendido considerablemente, en nuestro país prevalece la inequidad en el gasto y la utilización de medicamentos, con independencia del sector institucional al que el paciente acuda. De acuerdo con la ENSANUT 2012, existe una menor disponibilidad de medicamentos para padecimientos crónicos (como la DMT2) en las instituciones públicas, lo que se traduce en un mayor gasto para los pacientes,⁵⁹ pero también en un menor control de la enfermedad y detrimento de la calidad de vida, lo

que a la larga puede ocasionar un mayor costo financiero debido a complicaciones asociadas.⁶⁰

Es necesario examinar más detenidamente el costo-beneficio de los diferentes tratamientos orales usados para tratar la DMT2 en México. La industria farmacéutica mexicana reportó un incremento en las ventas de hipoglucemiantes orales de US\$58.4 a US\$140.8 entre 1999 y 2003; los medicamentos más vendidos fueron glimepirida (sulfonilurea), metformina (biguanida) y pioglitazona (tiazolidinediona); no obstante existe una enorme diferencia entre el costo promedio mensual del tratamiento más económico y el más caro, que fue de \$54 para glibenclamida y de \$2,373.86 para pioglitazona.⁶¹

Díaz de León y sus colaboradores realizaron en 2012 un estudio de costo-beneficio en el nivel primario de atención del IMSS donde compararon a la glibenclamida y la metformina, que son los fármacos más utilizados en el primer nivel de atención en nuestro país, y acarbosa como estrategia alternativa; encontraron que glibenclamida era el fármaco con mayor costo-beneficio para el tratamiento de la DMT2 en etapas tempranas, presentando mayor eficacia como monoterapia, mientras que en la terapia combinada de glibenclamida y metformina, la adición de glibenclamida posterior a la falla terapéutica de la metformina resultó más eficaz que la adición de metformina tras la falla con glibenclamida.⁵⁷

Es interesante observar que pese a sus recientes actualizaciones, la normativa mexicana actual presenta ciertas incongruencias. Aunque tanto la norma mexicana como el cuadro básico y catálogo de medicamentos del sector salud y las estrategias mostradas en las guías establecen como fármacos de primera línea a las sulfonilureas y biguanidas (las cuales han demostrado presentar el mayor costo-beneficio en diferentes estudios), el cuadro básico de medicamentos sigue considerando fármacos que han sido descontinuados en otras partes del mundo y que, incluso en la práctica común, no suelen utilizarse en nuestro país, como es el caso de la sulfonilurea de primera generación tolbutamida o la TZD rosiglitazona. Por otro lado, se omiten otros cuya eficacia ha probado ser mayor dentro de los fármacos aprobados, como la sulfonilurea gliclazida.

Dentro de las sulfonilureas, la glibenclamida es la más ampliamente usada en nuestro país; no obstante se ha asociado su monoterapia con un incremento en la cardiotoxicidad.^{62,63} La gliclazida selectivamente inhibe K^{+}_{ATP} pancreáticos. Algunos estudios indican que en algunos subgrupos poblacionales, la gliclazida es 3.5 veces más efectiva que la glibenclamida en el control de la Hb1Ac.⁶⁴

Otro aspecto interesante es que, aun cuando la norma oficial y las guías clínicas del sector salud identifican a las

Cuadro 2. Cuadro básico y catálogo de medicamentos 2011.

Grupo 5: Endocrinología y metabolismo*

Nombre	Descripción	Indicaciones	Vía de administración y dosis
Glibenclamida (sulfonilurea)	Tableta 5 mg Envase con 50 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 2.5 a 5 mg cada 24 horas, después de los alimentos Dosis máxima: 20 mg/día Dosis mayores de 10 mg se deben administrar cada 12 horas
Metformina (biguanida)	Tableta Clorhidrato de metformina 850 mg Envase con 30 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 850 mg cada 12 horas con los alimentos Dosis máxima: 2,550 mg al día
Tolbutamida (sulfonilurea)	Tableta Tolbutamida 500 mg Envase con 50 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 500 mg cada 8 o 12 horas, con los alimentos Dosis máxima: 3 g/día
Acarbosa (inhibidor de α -glucosidasa)	Tableta Acarbosa 50 mg Envase con 30 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 50 a 100 mg cada 8 horas, al inicio de las tres comidas principales Dosis máxima: 600 mg al día
Linagliptina (Inhibidor de DPP-4)	Tableta Linagliptina 5 mg Envase con 30 tabletas	Tratamiento coadyuvante de diabetes mellitus tipo 2, a falla de metformina y sulfonilureas	Oral. Adultos: 5 mg cada 24 horas Dosis única y fija, como monoterapia o en tratamiento combinado con metformina, sulfonilureas o tiazolidinedionas
Pioglitazona (Tiazolidinediona)	Tableta Clorhidrato de pioglitazona equivalente a 15 mg de pioglitazona Envase con 7 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 15 a 30 mg cada 24 horas
Rimonabant (Inhibidor del receptor a cannabinoides 1 = CB1)	Tableta Rimonabant 20 mg Envase con 28 tabletas	Coadyuvante en diabetes mellitus tipo 2 con obesidad Coadyuvante en diabetes mellitus tipo 2 con dislipidemia	Oral. Adultos y mayores de 18 años: 20 mg cada 24 horas tomado por la mañana antes del desayuno
Rosiglitazona (Tiazolidinediona)	Tableta Maleato de rosiglitazona equivalente a 4 mg de rosiglitazona Envase con 14 tabletas y Envase con 28 tabletas	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 4 mg cada 24 horas, se puede incrementar la dosis a una tableta cada 12 horas
Sitagliptina (Inhibidor de DPP-4)	Comprimido Fosfato de sitagliptina monohidratada equivalente a 50 mg o 100 mg de sitagliptina Envase con 14 comprimidos y envase con 28 comprimidos para cada caso	Diabetes mellitus tipo 2	Oral. Adultos: 50 mg cada 12 horas o 100 mg cada 24 horas como monoterapia o en tratamiento combinado con metformina o glitazonas
Vildagliptina (Inhibidor de DPP-4)	Comprimido Vildagliptina 50 mg Envase con 28 comprimidos	Diabetes mellitus tipo 2 con falla a metformina sola, con o sin obesidad	Oral. Adultos: 50 mg cada 12 horas

*Modificado de: Kershenobich SD. Cuadro básico y catálogo de medicamentos. México: Diario Oficial de la Nación; 2012. p. 237.



glinidas como fármacos que deben utilizarse en el control de la DMT2, e incluso se reconoce en la evidencia una ventaja sobre las sulfonilureas en cuanto a la generación de hipoglucemia, el cuadro básico y catálogo de medicamentos no las toman en cuenta como insumos para las instituciones públicas, aunque sí consideran, por otro lado, fármacos con un mayor costo económico y mayor grado de reacciones adversas demostradas en la literatura, como las TZD, acarbosa o fármacos relativamente nuevos de los que se reconoce que hacen falta estudios a largo plazo para establecer su bioseguridad, como los inhibidores de la DPP-4.

Siguiendo esta misma línea, se advierte una buena disposición para considerar la inclusión de fármacos novedosos en el tratamiento de la DMT2 en la norma oficial cuando establecen: «Asimismo, se podrán utilizar los inhibidores de la α -glucosidasa, tiazolidinedionas y otros que en su momento apruebe la Secretaría de Salud», pero aunque se admite en el cuadro básico el uso de inhibidores de DPP-4, no se menciona el uso de agonistas de GLP-1, por ejemplo. Es posible que no hayan sido considerados debido a sus efectos adversos gastrointestinales; no obstante, otros fármacos sí considerados, como acarbosa, presentan los mismos efectos. Considero que a nivel normativo, se debe dejar la puerta abierta al uso de estos, pero es posible que a nivel de atención pública, sea más conveniente dar prioridad a fármacos de los que se conoce mejor su funcionamiento y seguridad.

En la práctica vemos que se respetan en buena medida las guías clínicas en cuanto a los tratamientos iniciales; como evidencia está el mayor uso de sulfonilureas y metformina en el primer nivel de atención y sus volúmenes de ventas a nivel nacional.^{57,61}

En cuanto a la politerapia, las normativas establecen inicialmente combinaciones de metformina con sulfonilureas, continuadas por anexión de insulina en caso de falla. Aunque se menciona que el resto de los fármacos citados pueden ser combinados con los de primera línea, se establece que las combinaciones deben darse a criterio del médico tratante de acuerdo a las características particulares de cada caso.

Existen fuertes evidencias contra el uso de TZD, sobre todo en el caso de rosiglitazona, que son citadas en la evidencia de cada normativa; no obstante, continúan siendo consideradas como medicamentos del cuadro básico, y a pesar de existir recomendaciones, no existe regulación para la limitación de su distribución en nuestro país.

Las observaciones anteriores ponen de manifiesto algunas deficiencias de los esquemas y normativas actuales en cuanto al tratamiento de la DMT2 con hipoglucemiantes

orales en nuestro país. Existe evidencia suficiente en la literatura para reconsiderar la estructura de las mismas y realizar un mejor análisis del costo-beneficio en cada caso para tener un esquema de tratamiento más acorde a la realidad de nuestro país, sobre todo en cuanto a los fármacos de segunda línea. Creo que dada la magnitud de la DMT2 en nuestro país, su hasta ahora tan pobre control y su pronóstico a futuro, es de suma importancia tener un mecanismo de tratamiento en constante revisión y mejoramiento.

Conflicto de intereses

El presente trabajo fue conducido como parte del cumplimiento del programa de Doctorado del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y fue apoyado por el proyecto PAPIIT IN218216 de la Dirección General de Apoyo a Personal Académico.

REFERENCIAS

- Hernández AM. Proyecto de modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes; para quedar como Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-015-SSA2-2007, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Secretaría de Gobernación; 2008.
- Hernández-Ávila M, Gutiérrez JP, Reynoso-Noverón N. Diabetes mellitus in Mexico: status of the epidemic. *Salud Pública Mex* 2013; 55(Suppl 2): s129-36.
- Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 103(2): 137-49.
- Ávila HM, Gutiérrez JP. Diabetes mellitus: la urgencia de reforzar la respuesta en políticas públicas para su prevención y control. Secretaría de Salud; 2012. p. 4.
- Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martínez R, Hernández-Ávila M. Type 2 diabetes and frequency of prevention and control measures. *Salud Pública Mex* 2013; 55(Suppl 2): S137-43.
- Glamočlija U, Jevrić-Čaušević A. Genetic polymorphisms in diabetes: influence on therapy with oral antidiabetics. *Acta Pharm* 2010; 60(4): 387-406.
- Zárate A, Basurto L, Saucedo R, Hernández-Valencia M. Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010; 3(48): 293-6.
- Gloyn AL, Siddiqui J, Ellard S. Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 2006; 27(3): 220-31.
- Gribble FM, Manley SE, Levy JC. Randomized dose ranging study of the reduction of fasting and postprandial glucose in type 2 diabetes by nateglinide (A-4166). *Diabetes Care* 2001; 24(7): 1221-5.
- Karara AH, Dunning BE, McLeod JF. The effect of food on the oral bioavailability and the pharmacodynamic actions of the insulinotropic agent nateglinide in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 1999; 39(2): 172-9.

11. Li J, Tian H, Li Q, Wang N, Wu T, Liu Y, et al. Improvement of insulin sensitivity and beta-cell function by nateglinide and repaglinide in type 2 diabetic patients —a randomized controlled double-blind and double-dummy multicentre clinical trial. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9(4): 558-65.
12. Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G, Gerich JE, et al. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995; 333(9): 550-54.
13. Wu MS, Johnston P, Sheu WH, Hollenbeck CB, Jeng CY, Goldfine ID, Chen YD, et al. Effect of metformin on carbohydrate and lipoprotein metabolism in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1990; 13(1): 1-8.
14. Sogame Y, Kitamura A, Yabuki M, Komuro S, Takano M. Transport of biguanides by human organic cation transporter OCT2. *Biomed Pharmacother* 2013; 67(5): 425-30.
15. Hussey EK, Kapur A, O'Connor-Semmes R, Tao W, Rafferty B, Polli JW, et al. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of remogliflozin etabonate, a novel SGLT2 inhibitor, and metformin when co-administered in subjects with type 2 diabetes mellitus. *BMC Pharmacol Toxicol* 2013; 14(1): 25.
16. Ikeda T, Iwata K, Murakami H. Inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption in the perfused rat intestine. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(7): 887-90.
17. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001; 108(8): 1167-74.
18. Zhou M, Xia L, Wang J. Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine transporter) expressed in human intestine. *Drug Metab Dispos* 2007; 35(10): 1956-62.
19. Sogame Y, Kitamura A, Yabuki M, Komuro S. A comparison of uptake of metformin and phenformin mediated by hOCT1 in human hepatocytes. *Biopharm Drug Dispos* 2009; 30(8): 476-84.
20. Yau H, Rivera K, Lomonaco R, Cusi K. The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2013; 13(3): 329-41.
21. Stumvoll M, Haring HU. Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms. *Ann Med* 2002; 34(3): 217-24.
22. Mazzone T, Meyer PM, Feinstein SB, Davidson MH, Kondos GT, D'Agostino RB Sr, et al. Effect of pioglitazone compared with glimepiride on carotid intima-media thickness in type 2 diabetes: a randomized trial. *JAMA* 2006; 296(21): 2572-81.
23. Pavo I, Jermendy G, Varkonyi TT, Kerenyi Z, Gyimesi A, Shoustov S, et al. Effect of pioglitazone compared with metformin on glycemic control and indicators of insulin sensitivity in recently diagnosed patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4): 1637-45.
24. Aljabri K, Kozak SE, Thompson DM. Addition of pioglitazone or bedtime insulin to maximal doses of sulfonylurea and metformin in type 2 diabetes patients with poor glucose control: a prospective, randomized trial. *Am J Med* 2004; 116(4): 230-5.
25. Kung J, Henry RR. Thiazolidinedione safety. *Expert Opin Drug Saf* 2012; 11(4): 565-79.
26. Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2007; 298(10): 1180-8.
27. Hernandez AV, Usmani A, Rajamanickam A, Moheet A. Thiazolidinediones and risk of heart failure in patients with or at high risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis and meta-regression analysis of placebo-controlled randomized clinical trials. *Am J Cardiovasc Drugs* 2011; 11(2): 115-28.
28. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 2006; 355(23): 2427-43.
29. Mieczkowska A, Baslé MF, Chappard D, Mabilieu G. Thiazolidinediones induce osteocyte apoptosis by a G protein-coupled receptor 40-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2012; 287(28): 23517-26.
30. Seth A, Sy V, Pareek A, Suwandhi P, Rosenwaks Z, Poretsky L, et al. Thiazolidinediones (TZDs) affect osteoblast viability and biomarkers independently of the TZD effects on aromatase. *Horm Metab Res* 2013; 45(1): 1-8.
31. Lazarenko OP, Rzonca SO, Hogue WR, Swain FL, Suva LJ, Lecka-Czernik B. Rosiglitazone induces decreases in bone mass and strength that are reminiscent of aged bone. *Endocrinology* 2007; 148(6): 2669-80.
32. Ali AA, Weinstein RS, Stewart SA, Parfitt AM, Manolagas SC, Jilka RL. Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1226-35.
33. Liu L, Aronson J, Huang S, Lu Y, Czernik P, Rahman S, et al. Rosiglitazone inhibits bone regeneration and causes significant accumulation of fat at sites of new bone formation. *Calcif Tissue Int* 2012; 91(2): 139-48.
34. Li MY, Kong AW, Yuan H, Ma LT, Hsin MK, Wan IY, et al. Pioglitazone prevents smoking carcinogen-induced lung tumor development in mice. *Curr Cancer Drug Targets* 2012; 12(6): 597-606.
35. Neumann A, Weill A, Ricordeau P, Fagot JP, Alla F, Allemand H. Pioglitazone and risk of bladder cancer among diabetic patients in France: a population-based cohort study. *Diabetologia* 2012; 55(7): 1953-62.
36. Lewis JD, Ferrara A, Peng T, Hedderson M, Bilker WB, Quesenberry CP Jr, et al. Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: interim report of a longitudinal cohort study. *Diabetes Care* 2011; 34(4): 916-22.
37. FDA. FDA al 1-888-INFO-FDA (1-888-463-6332). 1 [Internet] [2011 Mayo 13, 2013]; Disponible en: www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm259150.htm
38. EMA. European Medicines Agency recommends suspension of Avandia, Avandamet and Avaglim. 2010 [Consultado el 07 Mayo 2013]; Disponible en: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2010/09/news_detail_001119.jsp&murl=menus/news_and_events/news_and_events.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1&jsenabled=false.
39. Evans JL, Rushakoff RJ. Oral pharmacological agents for type 2 diabetes: oral agents, incretins and other «non-insulin» pharmacologic interventions for diabetes, In: *The Endocrine Source, Diabetes Manager*, E. Text, Editor; 2010.
40. Krentz AJ, Bailey CJ. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 2005; 65(3): 385-411.
41. Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. Design and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information. *Curr Top Med Chem* 2009; 9(1): 3-12.
42. Krentz AJ, Ferner RE, Bailey CJ. Comparative tolerability profiles of oral antidiabetic agents. *Drug Saf* 1994; 11(4): 223-41.



43. Van de Laar FA, Lucassen PL, Akkermans RP, Van de Lisdonk EH, Rutten GE, Van Weel C. Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2): CD003639.
44. Kreyman B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR. Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet* 1987; 2(8571): 1300-4.
45. Drucker DJ. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(10): 2929-40.
46. Derosa G, Maffioli P. Efficacy and safety profile evaluation of acarbose alone and in association with other antidiabetic drugs: a systematic review. *Clin Ther* 2012; 34(6): 1221-36.
47. DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(5): 1092-100.
48. Heine RJ, Van Gaal LF, Johns D, Mihm MJ, Widell MH, Brodows RG, et al. Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2005; 143(8): 559-69.
49. Kendall DM, Riddle MC, Rosenstock J, Zhuang D, Kim DD, Fineman MS, et al. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea. *Diabetes Care* 2005; 28(5): 1083-91.
50. Buse JB, Rosenstock J, Sesti G, Schmidt WE, Montanya E, Brett JH, et al. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). *Lancet* 2009; 374(9683): 39-47.
51. Raz I, Hanefeld M, Xu L, Caria C, Williams-Herman D, Khatami H; Sitagliptin Study 023 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006; 49(11): 2564-71.
52. Goldstein BJ, Feinglos MN, Luncford JK, Johnson J, Williams-Herman DE; Sitagliptin 036 Study Group. Effect of initial combination therapy with sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, and metformin on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30(8): 1979-87.
53. Hernández AM, Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria. Secretaría de Salud; 2010.
54. Kershenobich SD. Cuadro básico y catálogo de medicamentos. México: Diario Oficial de la Nación; 2012. p. 237.
55. Gil-Velázquez LE, Sil-Acosta MJ, Domínguez-Sánchez ER, Torres-Areola LP, Medina-Chávez JH. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. En: *Guía Práctica Clínica GPC*. México: IMSS; 2012.
56. IDF. International Diabetes Federation. 2013 [Consultado el 23 Abril 2013]; Disponible en: <http://www.idf.org>.
57. Díaz de Leon-Castaneda C, Altagracia-Martínez M, Kravzov-Jinich J, Cárdenas-Elizalde M del R, Moreno-Bonett C, Martínez-Núñez JM. Cost-effectiveness study of oral hypoglycemic agents in the treatment of outpatients with type 2 diabetes attending a public primary care clinic in Mexico City. *Clinicoecon Outcomes Res* 2012; 4: 57-65.
58. Arredondo A, Reyes G. Health disparities from economic burden of diabetes in middle-income countries: evidence from Mexico. *PLoS One* 2013; 8(7): e68443.
59. Wirtz VJ, Serván-Mori E, Heredia-Pi I, Dreser A, Ávila-Burgos L. Factor associated with medicines utilization and expenditure in Mexico. *Salud Pública Mex* 2013; 55(Suppl 2): S112-22.
60. Arredondo A, De Icaza E. The cost of diabetes in Latin America: evidence from Mexico. *Value Health* 2011; 14(5 Suppl 1): S85-8.
61. Altagracia MM, Kravzov-Jinich J, Moreno SM, Rubio PC, Skromne KD, Rivas CM, et al. Diabetes mellitus tipo 2: ventas de los hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 2007; 38(1): 23-33.
62. McAlister FA, Eurich DT, Majumdar SR, Johnson JA. The risk of heart failure in patients with type 2 diabetes treated with oral agent monotherapy. *Eur J Heart Fail* 2008; 10(7): 703-8.
63. Evans JM, Ogston SA, Emslie-Smith A, Morris AD. Risk of mortality and adverse cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: a comparison of patients treated with sulfonylureas and metformin. *Diabetologia* 2006; 49(5): 930-6.
64. Hamming KS, Soliman D, Maternisz LC, Niaz O, Lang Y, Gloyn AL, et al. Coexpression of the type 2 diabetes susceptibility gene variants KCNJ11 E23K and ABCC8 S1369A alter the ATP and sulfonylurea sensitivities of the ATP-sensitive K(+) channel. *Diabetes* 2009; 58(10): 2419-24.

Solicitud de sobreiros:

Dr. Juan A. Molina Guarneros
 Avenida Universidad Núm. 3000
 Col. Ciudad Universitaria
 Del. Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México, México.
 Tel: 56 23 21 64
 Correo electrónico: sorcener@hotmail.com

ANEXO I

CONSENTIMIENTO

INFORMADO

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DEL CYP2C9 EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 QUE RECIBEN TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA, METFORMINA O AMBAS Y SU RELACIÓN CON LA EFICACIA TERAPÉUTICA.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros

SEDE DONDE SE REALIZARA EL ESTUDIO. Centro de Salud T-III Portales, Secretaría de Salud del D.F.

NOMBRE DEL PACIENTE:

Se le ha pedido que participe en este estudio porque hemos considerado que puede ser representativo de la población sana de su país. El propósito de este documento es explicarle en qué consiste el estudio para que le ayude a tomar una decisión sobre la invitación para participar en el mismo. Antes de decidirse a participar, por favor, tome todo el tiempo que necesite para hacer todas las preguntas necesarias. Asimismo, siéntase con la libertad de hablar con cualquier persona, su familia, amigos, médico de atención primaria o cualquier otro profesional de la salud.

Propósito del estudio

La herencia genética puede hacer que una persona responda de una forma distinta a los medicamentos. El estudio de la variabilidad individual de la respuesta a un medicamento debido a factores hereditarios tiene gran importancia médica. Mediante estos estudios, se intenta averiguar por qué algunas personas responden mejor que otras cuando reciben el mismo medicamento. En la población mexicana no se conoce la composición de los tipos de unidades de información hereditaria que determinan la respuesta a varios grupos de medicamentos empleados para el control de la diabetes del adulto (administrados únicamente por vía oral). Tampoco si esta composición influye de manera determinante en el control de esta enfermedad. Esta composición puede influir para que se presente un efecto menor o mayor de los medicamentos utilizados para el control de la diabetes del adulto, inclusive para provocar toxicidad. Por lo que conocer la composición y la frecuencia de su presencia en la población mexicana tiene gran importancia para determinar si un individuo debe recibir las dosis recomendadas de los medicamentos administrados por vía oral para el control de la diabetes del adulto, ó modificarlas para lograr el efecto terapéutico buscado.

Por lo que en una muestra de su sangre se estudiarán aquellas partes (material genético y otros componentes) que puedan afectar a su enfermedad y a la respuesta al medicamento que emplea para controlar la diabetes del adulto, para lo que se solicitarán datos de sus antecedentes Clínicos.

Este tipo de investigación no tiene como finalidad determinar si otros miembros de su familia corren el riesgo de sufrir alguna enfermedad, ni obtener información relevante que le ayude a tomar la decisión sobre tener hijos o no.

Procedimientos

Si decide participar en el estudio, una persona con experiencia le extraerá una muestra de 20 ml de sangre. Es posible que se le pida una nueva muestra de sangre si durante el procesamiento de la primera hubiera algún problema que le impidiera su utilización. El término “muestra” en este documento, hace referencia tanto a la muestra de su sangre como a sus componentes, incluido el material genético a partir de ella.

Beneficios, riesgos y molestias

Usted no obtendrá ningún beneficio directo por participar en este estudio. Sin embargo, su participación en esta investigación puede ayudar al conocimiento de su capacidad de transformar medicamentos, para mejorar el tratamiento de otras personas con varios tipos de padecimientos.

Los riesgos y molestias físicas de la extracción de sangre para este estudio son los de cualquier extracción de una muestra de sangre de una vena. Puede sufrir un ligero dolor, enrojecimiento, irritación o raramente, infección.

La administración de cualquier fármaco puede causar una reacción alérgica grave, sin embargo es poco probable que esto ocurra. Debido a la baja dosis del medicamento administrada, No se espera que se produzcan efectos del fármaco administrado en esta investigación.

En el caso de que se encuentre algún tipo de enfermedad importante durante el examen clínico, ésta se hará del conocimiento del paciente.

Alternativas

Usted tiene como alternativas participar o no en este estudio.

Revisión de documentos originales, confidencialidad y protección de los datos personales

Información y muestras codificadas

Para proteger su confidencialidad, sus datos médicos, su muestra y sus resultados estarán identificados con una etiqueta en la que sólo aparecerá un código, pero no su nombre ni sus iniciales. A esto se le denomina "información codificada". El médico del estudio (y sus colaboradores) guardará un archivo confidencial con la vinculación de este código con su nombre.

Almacenamiento y análisis posteriores de las muestras

El laboratorio de inmunofarmacología almacenará su muestra junto a otras procedentes de éste estudio, y sus colaboradores utilizarán su muestra sólo para el propósito establecido en este documento. En todo momento las muestras se almacenarán en un lugar seguro. El laboratorio exigirá que las personas que trabajan con su muestra respeten la confidencialidad de toda su información y resultados. Realizados los análisis, la muestra será almacenada anonimizada, de tal manera que no podrá relacionarse con usted ni identificarse. En estas condiciones podría ser analizada en otros estudios o por otros investigadores con un Proyecto aprobado por un Comité de Ética e Investigación Clínica correspondiente, y siempre que se respeten los objetivos y principios establecidos en este documento.

Información personal y resultados

El mantenimiento de la confidencialidad es importante para su médico y por ello no incluirá en su historia clínica ninguna referencia a su participación en esta investigación. Sólo se accederá a la parte de la historia clínica cuyos datos sean relevantes para el estudio, y en cualquier caso, se guardará la más estricta confidencialidad de los mismos.

El consentimiento informado que firma para participar en esta investigación, se conservará en un archivo especial y seguro, separado de su historia clínica y que no forma parte de ella. Así, en su historia clínica no aparecerá ningún resultado derivado de esta investigación. Su nombre no aparecerá en ninguna publicación o informe acerca de esta investigación. Su médico controlará el acceso a los archivos que contengan su información médica y los resultados de esta investigación.

Su información médica y resultados de la investigación formarán parte de los medios que permitirá a su médico comprender la respuesta al medicamento, y servirá para desarrollar nuevos medicamentos o pruebas diagnósticas para predecir su respuesta. Su información y sus resultados se almacenarán en una base de datos electrónica de una computadora. Se seguirá la normativa internacional que regula la información almacenada en estas computadoras. Todas las previsiones legales sobre la

confidencialidad y acceso a sus datos de carácter personal serán respetadas en este estudio y en los que de él se deriven.

Si su muestra es estudiada, su médico y colaboradores podrán tener acceso a sus resultados. De acuerdo con la legislación vigente, usted tiene derecho a solicitar los resultados de este estudio. Para ello deberá comunicarlo a su médico. El laboratorio no entregará sus resultados individuales a nadie más a no ser que se le obligue por ley.

Sus resultados son únicamente para investigación y no deben ser utilizados para realizar diagnósticos clínicos o establecer un tratamiento.

Si decide participar en esta investigación, usted autoriza a que su información médica y sus resultados puedan ser revisados por determinadas personas para comprobar que la investigación se realizó correctamente. Estas personas incluyen el personal del laboratorio de inmunofarmacología, a los miembros del equipo investigador, y eventualmente al Comité Ético de Investigación Clínica y a representantes de las autoridades sanitarias.

Aspectos comerciales

Usted no recibirá ninguna ni tampoco se le pedirá una compensación económica por su participación en este estudio o derivada de sus resultados, registros o desarrollos de la investigación.

Participación voluntaria

La participación en este estudio es voluntaria. Usted tiene las siguientes opciones: participar en este estudio, no participar en él desde el principio, y participar pero luego cambiar de opinión y retirarse en cualquier momento. Tanto si opta por no participar desde el principio como retirarse más adelante, no tiene que dar ninguna explicación al respecto.

Su negativa a participar desde el principio o su abandono una vez iniciado no será motivo de ningún cambio en el tratamiento médico que usted recibe ni en la relación con los investigadores del proyecto.

Si inicialmente decide participar en este estudio pero luego opta por retirarse del mismo, su muestra codificada será destruida y solo se guardará la información ya obtenida hasta ese momento. Sin embargo, una vez anonimizada no será posible identificar su muestra y por tanto destruirla.

Persona de contacto para el estudio

Si tiene preguntas acerca de esta investigación, sobre cualquier daño relacionado con la extracción de sangre o sobre su retirada del estudio, debe contactar en cualquier momento con el Investigador Principal del Proyecto Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros al número de teléfono 04455 45 32 42 05.

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Yo, (nombre y apellidos).....

He leído las hojas de información (3 páginas) que se me han entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio, y las realizadas han sido contestadas satisfactoriamente.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con el Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros

He tenido tiempo suficiente para considerar de manera adecuada mi participación en el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto no repercuta en mis cuidados médicos.

Al firmar este documento doy libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha: .../...../.....

Fecha: .../...../.....

Testigo:

Testigo:

.....

.....

Firma del participante:

Firma del Investigador:

(Manuscrita del participante)

.....

.....

Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo: **ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DEL CYP2C9 EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 QUE RECIBEN TRATAMIENTO CON GLIBENCLAMIDA, METFORMINA O AMBAS Y SU RELACIÓN CON LA EFICACIA TERAPÉUTICA.**

Investigador principal: Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros

Sede donde se realizará el estudio: Centro de Salud T-III Portales, Secretaría de Salud del D.F.

Nombre del participante: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes

Razones (este apartado es opcional y puede dejarse en blanco si así lo desea):

Firma del participante o del padre o tutor Fecha

Testigo Fecha

Testigo Fecha

ANEXO II

APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMISIONES DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA
OFICIO NO. FMED/CI/JMO/014/2013

ASUNTO: Dictamen del Proyecto 105/2012

DR. JUAN A. MOLINA GUARNEROS
Profesor Titular "A" T.C.
Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
P r e s e n t e.

Estimado Dr. Molina Guarneros:

Me complace informarle que su proyecto número 105-2012 "Estudio de polimorfismos del CYP2C9 en pacientes diabéticos tipo 2 que reciben tratamiento con glibenclamida, metformina o ambas y su asociación con la eficacia terapéutica" ha sido **APROBADO** por las Comisiones de Investigación y Ética de esta Facultad de Medicina, en su sesión ordinaria de fecha 05 de marzo de 2013, con vigencia de 3 años a partir de la fecha de aprobación.

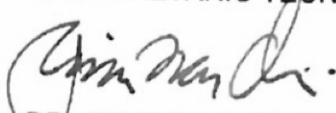
Para conocer el seguimiento de esta investigación, es necesario que entregue un informe anual, en la División de Investigación, tomando en cuenta esta fecha de elaboración del dictamen.

Asimismo, le solicitamos atentamente nos envíe una copia del o los artículos y/o copia de la carátula y resumen de las tesis que pudieran generarse relacionadas con el proyecto.

Sin otro particular de momento, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 05 de marzo de 2013.

EL SECRETARIO TÉCNICO


DR. JAIME MAS OLIVA



SALUD

México, D.F. a 25 de marzo de 2013

SAM/ 1345/2013

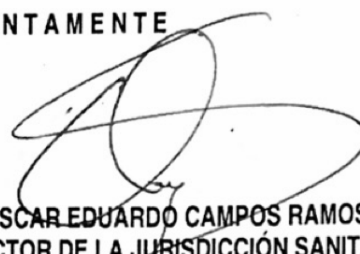
Asunto: Protocolo de investigación.

DR. FERNANDO CASTILLO NAJERA
DIRECTOR DEL C.S. T-III PORTALES
P R E S E N T E

En relación al Oficio CSP/DIREC/216/2013, le informo que hemos revisado el protocolo de investigación, Estudio de Polimorfismos del CYP2C9 en pacientes diabéticos tipo 2; derivado de lo anterior, se autoriza su realización en el centro de salud que usted dirige, lo cual estamos seguros que contribuirá a incrementar la calidad técnica e interpersonal de los involucrados.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DR. OSCAR EDUARDO CAMPOS RAMOS
DIRECTOR DE LA JURISDICCIÓN SANITARIA BENITO JUÁREZ

Ccp.- Dra. Sharen Soto García.- Jefe de Enseñanza JSBJ
MMA/SSG



df. mx
salud.df. mx

CITAS

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

	Document title	Authors	Year	Source	Cited by
□ 1	Identification of genetic variants in pharmacogenetic genes associated with type 2 diabetes in a mexican-mestizo population Open Access	Rodríguez-Rivera, N.S., Cuautle-Rodríguez, P., Castillo-Nájera, F., Molina-Guarneros, J.A.	2017	Biomedical Reports 7(1), pp. 21-28	1
	View abstract View at Publisher Related documents				

[Placenta](#). 2018 Jun;66:8-16. doi: 10.1016/j.placenta.2018.04.008. Epub 2018 Apr 16.

Genetic variations and risk of placental abruption: A genome-wide association study and meta-analysis of genome-wide association studies.

[Workalemahu T¹](#), [Enquobahrie DA²](#), [Gelaye B³](#), [Sanchez SE⁴](#), [Garcia PJ⁵](#), [Tekola-Ayele F⁶](#), [Hajat A⁷](#), [Thornton TA⁸](#), [Ananth CV⁹](#), [Williams MA¹⁰](#).

⊕ Author information

Abstract

INTRODUCTION: Accumulating epidemiological evidence points to strong genetic susceptibility to placental abruption (PA). However, characterization of genes associated with PA remains incomplete. We conducted a genome-wide association study (GWAS) of PA and a meta-analysis of GWAS.

METHODS: Participants of the Placental Abruption Genetic Epidemiology (PAGE) study, a population based case-control study of PA conducted in Lima, Peru, were genotyped using the Illumina HumanCore-24 BeadChip platform. Genotypes were imputed using the 1000 genomes reference panel, and >4.9 million SNPs that passed quality control were analyzed. We performed a GWAS in PAGE participants (507 PA cases and 1090 controls) and a GWAS meta-analysis in 2512 participants (959 PA cases and 1553 controls) that included PAGE and the previously reported Peruvian Abruptio Placentae Epidemiology (PAPE) study. We fitted population stratification-adjusted logistic regression models and fixed-effects meta-analyses using inverse-variance weighting.

RESULTS: Independent loci (linkage-disequilibrium<0.80) suggestively associated with PA (P-value<5e-5) included rs4148646 and rs2074311 in ABCC8, rs7249210, rs7250184, rs7249100 and rs10401828 in ZNF28, rs11133659 in CTNND2, and rs2074314 and rs35271178 near KCNJ11 in the PAGE GWAS. Similarly, independent loci suggestively associated with PA in the GWAS meta-analysis included rs76258369 near IRX1, and rs7094759 and rs12264492 in ADAM12. Functional analyses of these genes showed trophoblast-like cell interaction, as well as networks involved in endocrine system disorders, cardiovascular diseases, and cellular function.

CONCLUSIONS: We identified several genetic loci and related functions that may play a role in PA risk. Understanding genetic factors underlying pathophysiological mechanisms of PA may facilitate prevention and early diagnostic efforts.

Published by Elsevier Ltd.

KEYWORDS: Genome-wide association study; Placental abruption; meta-analysis

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico

Cuautle-Rodriguez P., Llerena A., Molina-Guarneros J.

(2014) Drug Metabolism and Drug Interactions, 29 (1) , pp. 37-45.

 Set feed

Search within results...

Refine results

Limit to

Access type

- ☐ Open Access (2) >
- ☐ Other (5) >

Year

- ☐ 2019 (1) >
- ☐ 2017 (1) >
- ☐ 2016 (2) >
- ☐ 2015 (3) >

Author name

- ☐ Gonzalez-Covarrubias, V. (2) >
- ☐ Llerena, A. (2) >
- ☐ Soberón, X. (2) >
- ☐ Villegas-Torres, B. (2) >
- ☐ Bailón-Soto, C.E. (1) >

View more

Subject area

- ☐ Medicine (5) >
- ☐ Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (5) >
- ☐ Biochemistry, Genetics and Molecular Biology (4) >

Analyze search results

Show all abstracts Sort on: **Date (newest)**

☐ All ...   

	Document title	Authors	Year	Source	Cited by
☐ 1	Tamoxifen side effects: Pharmacogenetic and clinical approach in Mexican mestizos	Rangel-Méndez, J.-A., Rubi-Castellanos, R., Sánchez-Cruz, J.-F., Moo-Puc, R.E.	2019	Translational Cancer Research 8(1), pp. 23-34	0
	View abstract  View at Publisher Related documents				
☐ 2	Pharmacogenomic studies in Mexico, central America and Cuba in amerindians groups: Clinical applications and toxicology  Book Chapter	Lares-Asseff, I., Torres, F.Z., Bailón-Soto, C.E.	2017	Pharmacogenomics in Latin America: Challenges and Opportunities pp. 25-73	0
	View abstract  Related documents				
☐ 3	Exploring Variation in Known Pharmacogenetic Variants and its Association with Drug Response in Different Mexican Populations	Gonzalez-Covarrubias, V., Martínez-Magaña, J.J., Coronado-Sosa, R., (...), Nicolini, H., Soberón, X.	2016	Pharmaceutical Research 33(11), pp. 2644-2652	5
	View abstract  View at Publisher Related documents				
☐ 4	Interethnic variability of pharmacogenetic biomarkers in Mexican healthy volunteers: A report from the RIBEF (Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics) Open Access	Fricke-Galindo, I., Jung-Cook, H., Llerena, A., López-López, M.	2016	Drug Metabolism and Personalized Therapy 31(2), pp. 61-81	9
	View abstract  View at Publisher Related documents				
☐ 5	Population pharmacogenetics and global health Open Access	Llerena, A.	2015	Drug Metabolism and Personalized Therapy 30(2), pp. 73-74	7
	View at Publisher Related documents				

☐ Chemistry (1) >

Document type ▾

Publication stage ▾

Source title ▾

Keyword ▾

Affiliation ▾

Funding sponsor ▾

Country/territory ▾

Source type ▾

Language ▾

Limit to Exclude

☐ 6 Pharmacogenomic assessment of Mexican and Peruvian populations Marsh, S., King, C.R., Van Booven, D.J., (...), Gilman, R.H., McLeod, H.L. 2015 Pharmacogenomics 16(5), pp. 441-448 10

View abstract ▾ View at Publisher Related documents

☐ 7 Genotype frequencies of VKORC1 and CYP2C9 in Native and Mestizo populations from Mexico, potential impact for coumarin dosing Villegas-Torres, B., Sánchez-Girón, F., Jaramillo-Villafuerte, K., Soberón, X., Gonzalez-Covarrubias, V. 2015 Gene 558(2), pp. 235-240 10

View abstract ▾ View at Publisher Related documents

Display: 20 ▾ results per page

1

[^ Top of page](#)

ANEXO IV. COMPARACIONES MEDIANTE χ^2 CON CORRECCIÓN DE YATES Y P-VALOR

Comparaciones mediante χ^2 o Exacta de Fisher con Corrección de Yates (P-valor)									
Biomarcadores de respuesta: glucosa en ayuno (mg/dL) y control glucémico (< 110 mg/dL)									
Hipoglucemiante oral (n)	Genotipos de CYP2C9								
	*1/*1 (n)			*1/*2 (n)			*1/*3 (n)		
	*A/A	*A/T	*T/T	*A/A	*A/T		*A/A	*A/T	*2/*3 (n) *A/A
Glibenclamida (n= 11)	33.33 % (6/2)	0.32 (0.57)	66.66% (3/2)						
Glibenclamida/ Metformina (n= 64)	3.8 % (26/1)	25% (20/5)	0% (3/0)	0.018 (0.89)	0% (2/0)	3.88 (0.049)	50% (4/2)*	0% (1/0)	0% (1/0)
				14.29% (7/1)					
Biomarcadores de respuesta: HbA1c (%) y control glucémico (HbA1c< 6.5%)									
Hipoglucemiante oral (n)	Genotipos de CYP2C9								
	*1/*1 (n)			*1/*2			*1/*3 (n)		
	*A/A	*A/T	*T/T	*A/A	*A/T		*A/A	*A/T	*2/*3 (n) *A/A
Glibenclamida (n= 11)	33.33% (6/2)	33.33% (3/1)	100% (1/1)				100% (1/1)		
Glibenclamida/ Metformina (n= 64)	^b 2.12 (0.14)	1.59 (0.21)	0.03 (0.86)	0% (7/0)	0% (2/0)	0.03 (0.86)	25% (4/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
	7.7% (26/2)	25% (20/5)	33.33% (3/1)						

ANEXO V. SUSTRATOS E INHIBIDORES DE CYP2C9 PRESCRITOS CON FRECUENCIA A PACIENTES CON DMT2

CYP2C9				
GRUPO FARMACOLÓGICO	SUSTRATO	PRODUCTO	INHIBIDOR	INDUCTOR
Analgésicos, anti-piréticos, anti-inflamatorios (AINES)	Paracetamol (acetaminofen)	Oxidación: N-acetil		
		Hidroxilación: C3		
	Ácido acetil salicílico (Aspirina)	Hidroxilación: C-		
	Celecoxib	Hidroxilación: CH3-		
	Diclofenaco	Hidroxilación: C4, C3, C5		
			(+)	
	Ibuprofeno (R, S)	Hidroxilación: C2, C3, CH3-		
			(+)	
	Indometacina	Des-metilación: O-		
			(+)	
	Meloxicam	Hidroxilación: 5-CH3-		
			(+)	
	Naproxeno	Des-metilación: O-		
	Piroxicam	Hidroxilación: C5		
Anti-bacteriales	Rifampicina			(+), (+, Gp P)
	Sulfametoxazol	Hidroxilación: N-		
		Hidroxilación: 5-CH3-		
			(+)	
	Trimetoprim	Des-metilación: C4-O-		
			(+)	
Anti-depresivos	Amitriptilina	Des-metilación: N-		
	Fluoxetina (R, S)	Des-metilación: N- (R)		
			(+)	
	Paroxetina		(+)	
	Sertralín	Des-metilación: N-		
			(+)	

CYP2C9				
GRUPO FARMACOLÓGICO	SUSTRATO	PRODUCTO	INHIBIDOR	INDUCTOR
Anti-fúngicos	Fluconazol		(+++), (+, Gp P)	
	Ketoconazol		(+), (+, Gp P)	
	Miconazol		(++), (+, Gp P)	
	Itraconazol		(+++), (+, Gp P)	
Anti-neoplásicos	Tamoxifen	Hidroxilación: C4		
			(+, Gp P)	
Anti-protozoarios	Metronidazol		(++)	
Anti-psicóticos	Clozapina	Des-metilación: N-		
		Oxidación: N-		
			(++)	
	Olanzapina		(+)	
Ansiolíticos	Diazepam	Des-metilación: N-		
	Flunitrazepam	Des-metilación: N-		
Cardiovasculares	Acenocumarol (R, S)	Hidroxilación: C6, C7, C8		
			(++)	
	Amiodarona		(+)	
	Amlodipino		(++)	
	Candesartan	Oxidación		
			(+)	
	Felodipino		(++)	
	Irbesartan	Hidroxilación		
		Oxidación		
			(++)	
	Losartan	Hidroxilación		
			(++)	
	Nifedipino		(++)	
	Valsartan		(+)	
	Verapamilo (R, S)	Des-metilación: O-		
			(+)	
	Warfarina (R, S)	Hidroxilación: C4, C6, C7		
			(++)	

CYP2C9				
GRUPO FARMACOLÓGICO	SUSTRATO	PRODUCTO	INHIBIDOR	INDUCTOR
Ansiolíticos	Diazepam	Des-metilación: N-		
	Flunitrazepam	Des-metilación: N-		
Anti-tusivos	Dextrometorfán	Des-metilación: N-		
		Des-metilación: O-		
Disfunción eréctil	Sildenafil	Des-metilación: N-		
Gastro-intestinal	Cimetidina		(++)	
	Cisaprida	De-alquilación: N-		
	Lanzoprazol	Hidroxilación: C5		
			(++)	
	Omeprazol (S)	Hidroxilación: C5		
		Des-metilación		
			(++)	
Reguladores de lípidos	Fluvastatina	Hidroxilación: C5, C6		
		Des-isopropilación: N-		
			(++)	
	Pravastatina		(++)	
	Simvastatina		(++)	

CYP2C9				
GRUPO FARMACOLÓGICO	SUSTRATO	PRODUCTO	INHIBIDOR	INDUCTOR
HÁBITOS Y FACTORES AMBIENTALES				
Etanol		(++)		
Hormonas sexuales	Estradiol 3-metil éter	Des-metilación O-		
	17-beta estradiol	Hidroxilación: C4, C2		
	Estrona	Hidroxilación: C2, C4		
	Progesterona	Hidroxilación: C16, C21		
			(++)	
	Testosterona	Hidroxilación: C6		
		Oxidación: C2, C16, C17, C15		
Jugos	Toronja (Bergamotina)		(++)	
			(+, Gp P)	
Tabaco	Nicotina	Oxidación: C5		