



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO DE CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

**“MONITORIZACIÓN DE CONCENTRACIONES
PLASMÁTICAS DE ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN
NIÑOS Y ADULTOS CON TUBERCULOSIS.
ESTUDIO PILOTO.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS**

PRESENTA:

QFB. LUZ ALEJANDRA ESPIRICUETA ZAVALA

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. ROSA DEL CARMEN MILAN SEGOVIA

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DRA. SUSANNA EDITH MEDELLÍN GARIBAY

ASESORES:

DRA. SILVIA ROMANO MORENO

DR. ARTURO ORTIZ ÁLVAREZ



SAN LUIS POTOSÍ, SLP.

AGOSTO DE 2019



- El programa de Maestría en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro **003382**, en el Nivel desarrollo.
- Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: **628350**.

DEDICATORIAS

A mis padres, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mi el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque ustedes están conmigo siempre.

Los amo con el alma.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi mamá, por siempre estar a mi lado cuando me sentía feliz, por siempre esperarme con una sonrisa cada tarde o noche después de llegar de la universidad, esperando que le contaré como fue mi día. Por escucharme, aconsejarme y siempre creer en mí cuando sentía que no podía más, por ser una amiga y por siempre cuidar de mí.

A mi papá, por mostrarme lo que es ser una persona perseverante, honesta y trabajadora a pesar de las adversidades que nos pone la vida. Por que siempre me muestra lo orgulloso que está de mí, de la persona en la que me he convertido.

A mi hermano pequeño Pablo, por siempre entusiasmarse en escuchar lo que tengo que decir, porque siempre se que podemos reír juntos, por que siempre fue y será mi compañero de vida. Porque a pesar de que no es común, nosotros tenemos una relación genial y de complicidad.

A mi novio, mi mejor amigo y mi compañero de vida, Arturo, gracias por cada uno de los momentos en donde te has desvelado conmigo, en donde me has ayudado a continuar, en donde siempre me impulsas y me dices lo buena que soy en lo que hago. Gracias por amarme cuando estaba de mal humor o estresada por que es cuando comprendo todo lo que sientes por mí, por sacarme una sonrisa con tus ocurrencias cuando lo necesite, sabes que te amo por siempre y eres el amor de mi vida.

A mis mamá Chayo y mi papá Hueso, porque siempre han sido los mejores abuelos, porque agradezco que continúen a mi lado para ver y vivir conmigo las

etapas de mi vida por las que he pasado, por ser personas tan buenas y porque ellos son el motivo por el que comprendo que el esfuerzo da grandes frutos.

A mis mejores amigos Monse y Josué por que siempre me han apoyado, porque son mis confidentes y porque jamás se han alejado de mi vida. Son los mejores.

A mis tías, Juana y Estela porque son mujeres ejemplares a las que admiro. Gracias por creer en mi y siempre decirme lo orgullosas que están de mi.

Gracias a todo el equipo de Biofarmacia, principalmente a la Dra Rosy Milán y a la Dra Susanna, por todas las enseñanzas, la paciencia que siempre me mostraron; por permitirme conocer lo que implica la investigación y enseñarme que es un camino maravilloso lleno de satisfacción. A la Dra Silvia Romano por su accesibilidad y amabilidad cuando tenía dudas. A la maestra Cris, por que tuvo la paciencia y amabilidad de enseñarme todo lo que necesitaba. A Coco, porque sin su amistad creo que la maestría hubiera sido difícil de sobrellevar, por las incontables risas y pláticas, las tardes y hasta noches en el laboratorio. A mis compañeras Paty Mitre y Paty Huerta, porque siempre que tenía dudas me ayudaron a pesar de que estaban ocupadas, son personas geniales.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	15
2. ANTECEDENTES	17
2.1 Etiología.	17
2.2 Tratamiento de la TB.	18
2.3 Farmacocinética poblacional	24
2.4 Monitorización de fármacos y metodología Bayesiana para el ajuste de dosis.	31
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. HIPÓTESIS	34
5. OBJETIVOS	34
5.1 Objetivo General	34
5.2 Objetivos Específicos	34
6. METODOLOGÍA	35
6.1 Diseño del estudio.	35
6.2 Recolección de datos para la construcción de la base de datos.	36
6.3 Administración de medicamentos.	36
6.4 Obtención de muestras biológicas.	36
6.5 Análisis de las muestras de sangre completa.	36
6.6 Validación del método analítico por UPLC-MS/MS para la medición de las Cp de INH y RMP.	37
6.7 Análisis de las muestras de plasma de pacientes con TB.	40
6.8 Estimación Bayesiana de parámetros farmacocinéticos individuales.	41
6.9 Ajuste de dosis.	41
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	43
7.1 Estudio en pacientes con TB bajo esquema TAES	43
7.2 Monitorización plasmática de RMP e INH en pacientes	46
7.3 Estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales de RMP e INH.	56
7.4 Ajustes de dosificación.	60
8. CONCLUSIONES	68
9. BIBLIOGRAFÍA	69
10. ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Dosis del TAES establecidas para adultos y niños con TB.....	18
Tabla 2.2 Fenotipos de acetilación basados en los diplotipos de los alelos de NAT2 [49, 52].	21
Tabla 2.3 Modelos farmacocinéticos poblacionales de INH en adultos con TB.	26
Tabla 2.4 Modelos farmacocinéticos poblacionales de RMP en adultos con TB.	28
Tabla 2.5 Modelo poblacional de INH en niños con TB [8].	29
Tabla 2.6 Modelo poblacional de RMP en niños con TB [8].	30
Tabla 6.1 Condiciones del espectrómetro de masas para la identificación de RMP e INH.	39
Tabla 7.1 Características antropométricas, clínicas y de medicación de los pacientes con TB incluidos en el protocolo.	43
Tabla 7.2 Fenotipos de acetilación de la enzima NAT2 en el grupo de pacientes con TB.	45
Tabla 7.3 Resultados de genotipificación del gen MDR1 en los pacientes con TB	45
Tabla 7.4 Valores medios del FMN para evaluar el efecto de matriz en los controles bajos y altos para RMP e INH.	47
Tabla 7.5 Valores de porcentaje de la respuesta analítica de los blancos en relación con la respuesta analítica del LIC para ambos analitos.	47
Tabla 7.6 Evaluación de repetibilidad, reproducibilidad y exactitud de RMP e INH en plasma.	48
Tabla 7.7 Estabilidad de RMP e INH en plasma a diferentes tiempos.	49
Tabla 7.8 Parámetros farmacocinéticos de RMP e INH estimados por método Bayesiano con el software NONMEM® en 77 pacientes adultos con TB.	58
Tabla 7.9 Parámetros farmacocinéticos de RMP e INH obtenidos por estimación Bayesiana con el software NONMEM® en 7 pacientes pediátricos con TB.	60
Tabla 7.10 Cp de RMP e INH obtenidas por monitorización y predichas mediante estimación Bayesiana (NONMEM®) en pacientes adultos con TB	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Esquema del metabolismo de la INH y las enzimas involucradas en las vías metabólicas [45]	20
Figura 2.2 Estructura molecular de la RMP	22
Figura 2.3 Participación de la PGP, codificada por el gen MDR1, en la absorción y excreción de la RMP	23
Figura 2.4 Proceso para la monitorización y posterior individualización de dosis a partir de la estimación Bayesiana de parámetros farmacocinéticos	32
Figura 6.1 Procesamiento de muestras de plasma previo a cuantificación de INH y RMP por UPLC-MS/MS	38
Figura 7.1 Cromatogramas obtenidos de a) INH y b) RMP	46
Figura 7.2 Linealidad del método para a) RMP y b) INH	48
Figura 7.3 Esquema de los pacientes con TB incluidos en el protocolo	51
Figura 7.4 Cp vs tiempo en 77 pacientes adultos con TAES. a) RMP en fase intensiva y de sostén; b) INH en fase intensiva; c) INH en fase de sostén	53
Figura 7.5 Cp vs tiempo en 7 pacientes pediátricos con TAES. a) RMP en fase intensiva y de sostén; b) INH en fase intensiva; c) INH en fase de sostén	55
Figura 7.6 a) Error de predicción absoluto (EPA) de las Cp de RMP, b) Error medio de predicción (EMP) de las Cp de RMP	57
Figura 7.7 a) Error de predicción absoluto (EPA) de las Cp de INH, b) Error medio de predicción (EMP) de predicción de las Cp de INH	57
Figura 7.8 Cp en monitorización inicial y en seguimiento. a) RMP en pacientes en fase intensiva y de sostén; b) INH en pacientes en fase intensiva; c) INH en pacientes en fase de sostén	65
Figura 7.9 Gráfica de Cp observadas vs Cp predichas de a) RMP y b) INH	67
Figura 9.1 Esquema de monitorización de un paciente con ajuste de dosis (Paciente femenino con dos ajustes de dosis de RMP y tres ajustes de dosis de INH)	87

LISTA DE ABREVIATURAS

TB: Tuberculosis

INH: Isoniacida

RMP: Rifampicina

TAES: Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado

HCIMP: Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

NAT2: N-Acetil Transferasa 2

MDR1: MultriDrug Resistance

CEID: Comité de Etica en Investigación y Docencia

UPLC-MS/MS: Cromatografía de Líquidos de Ultra Alta Resolución acoplado a un Detector de Masas en Tandém.

Ka: Constante de absorción

V: Volumen de distribución total

C_{máx}: Concentración máxima alcanzada

T_{máx}: Tiempo en el que se alcanza la C_{máx}

CL: Aclaramiento total del fármaco

F: Biodisponibilidad

TDM: Therapeutic drug monitoring

DOTS: Directly observed treatment, short-course

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

OMS: Organización Mundial de la Salud

antiTB: Antituberculosos

ETM: Etambutol

PZA: Pirazinamida

C_p: Concentraciones plasmáticas

SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

ES: Estreptomicina

AcHz: acetil-hidracina

AcINH: acetil-isoniacida

DiAcHz: diacetil-hidracina

GST: glutatión S-transferasas

H_z: hidracina

CYP2E1: citocromo P2E1

PCR: Polymerase Chain Reaction

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ACN: Acetonitrilo

PGP: Glicoproteína-P

LCR: Líquido cefalorraquídeo

ARN: Ácido ribonucleico

ABC_{0-INF}: Área bajo la curva de 0 a infinito

t_{1/2}: Tiempo de vida media

RESUMEN

La tuberculosis (TB) es una infección causada por *Mycobacterium tuberculosis* y representa un problema de salud pública que afecta a millones de personas en el mundo. La amplia variabilidad interindividual en los parámetros farmacocinéticos de isoniacida (INH) y rifampicina (RMP), fármacos bactericidas que forman parte esencial del tratamiento acortado estrictamente supervisado (TAES), conduce a la necesidad de implementar estrategias de genotipificación y de monitorización de las concentraciones plasmáticas (Cp) de estos antifímicos. El objetivo de este trabajo fue monitorizar las Cp de RMP e INH en niños y adultos con TB con el fin de optimizar el tratamiento a través de la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos para proponer ajustes de dosificación individualizados de ambos fármacos.

Se desarrolló un estudio cuasi experimental, analítico, longitudinal y prospectivo, aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" (registro 66-18) y de la Facultad de Ciencias Químicas (registro CEID-2018012-S). Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de TB y bajo esquema TAES durante agosto 2018 y junio 2019. Se tomó al menos una muestra sanguínea a las 2 y/o 4 h post-dosis para la cuantificación de RMP e INH mediante una técnica analítica validada de UPLC-MS/MS según la NOM-177-SSA1-2013. Mediante la técnica de PCR en tiempo real y sondas Taqman® se realizó la genotipificación de los SNP C3435T del gen *MDR1*, así como los SNP C282T, T341C, C481T, G590A y G857A del gen *NAT2*. Se evaluó la predicción *a priori* y Bayesiana de las Cp de cada fármaco a través modelos poblacionales en pacientes mexicanos para RMP e INH con el uso del programa farmacostatístico NONMEM® v.7.3. Mediante la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales (C_{máx}, T_{máx}, CL y V_d), se interpretaron los niveles plasmáticos de cada fármaco y, en caso necesario, se propusieron esquemas de dosificación para obtener Cp terapéuticas de RMP e INH.

Se incluyó un total de 84 pacientes, 77 adultos (18 a 80 años) y 7 niños (2 a 17 años) con diagnóstico de TB. En el grupo de adultos, la TB de tipo pulmonar fue la más frecuente, mientras que la DM y la hipertensión fueron las comorbilidades más comunes. En el grupo de niños, la forma ganglionar fue el tipo de TB más común. El 58% de los pacientes presentó genotipo CT para el gen *MDR1* y 57% fueron acetiladores lentos con base al genotipo de *NAT2*. De acuerdo con las Cp cuantificadas, 75% de los pacientes presentaron niveles subterapéuticos de uno o ambos fármacos; se realizó el ajuste de dosis en 18 pacientes adultos y el resto continuó con el mismo esquema TAES inicialmente pautado. En aquellos

pacientes con ajuste de dosis, se realizaron monitorizaciones posteriores para corroborar la Cp de RMP e INH. Finalmente, fue posible alcanzar el intervalo terapéutico de RMP en 81.25% de estos pacientes y para INH en 61% de estos, aunque la estimación Bayesiana logró una predicción adecuada de Cp de RMP de 50% de los casos y de 55.55% para INH.

El presente estudio consiste en una estrategia para optimizar el tratamiento de los pacientes con TB usando modelos poblacionales con un limitado número de muestras sanguíneas. La cuantificación de los niveles de RMP e INH a través de una técnica validada de UPLC-MS/MS, la genotipificación de polimorfismos de NAT2 mediante PCR en tiempo real, así como la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos proporcionan información confiable y precisa para la predicción de las concentraciones *a posteriori*, lo que se traduce en mejorar la respuesta al tratamiento de la TB.

PALABRAS CLAVE: Tuberculosis, TAES, Isoniacida, Rifampicina, Monitorización, Bayesiano, Dosis, NAT2, *MDR1*, Farmacocinética.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infection caused by *Mycobacterium tuberculosis* and represents a public health problem that affects millions of people in the world. The wide interindividual variability in the pharmacokinetic parameters of isoniazid (INH) and rifampicin (RMP), bactericidal drugs that are an essential part of Directly observed treatment, short-course (DOTS), leads to the need to implement genotyping and plasma concentration monitoring strategies of these antibiotics.

The adequate detection of plasma levels of INH and RMP outside the therapeutic range together with the Bayesian estimation of their pharmacokinetic parameters will allow us to propose dose adjustment of both drugs to optimize the anti-tuberculosis treatment in pediatric and adult patients with TB.

The aim of this study was to develop a therapeutic drug monitoring strategy in children and adults with TB in order to optimize RMP and INH treatment through the Bayesian estimation of pharmacokinetic parameters to propose individualized dosage adjustments of both drugs.

This quasi experimental, analytical, longitudinal and prospective study was approved by the Research Ethics Committee from the Central Hospital "Dr. Ignacio Morones Prieto" (record 66-18) and Chemistry Faculty from UASLP (record CEID-2018012-S). All patients with TB diagnosis and under the DOTS scheme were included during August 2018 and June 2019. At least one blood sample (4 mL) was taken at 2 and/or 4 hours post-dose for the quantification of RMP and INH by a validated analytical technique of UPLC-MS/MS according to the NOM-177-SSA1-2013. Using the real-time PCR technique and Taqman® reagents, genotyping of the C3435T SNPs of the *MDR1* gene as well as the C282T, T341C, C481T, G590A and G857A SNPs of the *NAT2* gene was performed. *A priori* and Bayesian prediction of the plasma concentrations of each drug was evaluated using population models made in Mexican patients for RMP and INH with pharmaco-statistical program NONMEM® v.7.3. By means of the Bayesian estimation of the individual pharmacokinetic parameters (C_{max} , T_{max} , CL and Vd), the plasma levels of each drug were interpreted and, if necessary, dosage schemes were proposed to obtain therapeutic concentrations of RMP and INH.

A total of 84 patients, 77 adults (18 to 80 years old) and 7 children (2 to 17 years old) with a diagnosis of TB were included. In the adult group, pulmonary TB was the most frequent, while diabetes mellitus and hypertension were the most common comorbidities. In the group of children, the ganglionic form was the most common type of TB diagnosed. Overall, 58% of the patients presented CT genotype for the *MDR1* gene and 57% were slow acetylators based on

the *NAT2* genotype. According to the quantified plasma concentrations, 75% of the patients presented subtherapeutic levels of one or both drugs. Dose adjustment was performed in 18 adult patients and the rest continued with the same DOTS scheme initially prescribed. In those patients with dose adjustment, subsequent monitoring was performed to corroborate the plasma levels of RMP and INH. Finally, it was possible to reach the therapeutic range of RMP in 81.25% of these patients and for INH in 61% of them, although the Bayesian estimation got an adequate prediction of RMP plasma concentrations in 50% of the cases and 55.55% of INH. The present study consists of a strategy to optimize the treatment of patients with TB using population models with a limited number of blood samples. The quantification of RMP and INH levels through a validated UPLC-MS / MS technique, genotyping of *NAT2* polymorphisms by real-time PCR, as well as Bayesian estimation of pharmacokinetic parameters provide reliable and accurate information for *a posteriori* concentration prediction, which translates into improving the response to TB treatment.

KEYWORDS: Tuberculosis, DOTS, Isoniazid, Rifampicin, Monitorization, Bayesian, Dose, *NAT2*, *MDR1*, Pharmacokinetics.

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB), es una enfermedad infecto-contagiosa causada principalmente por el microorganismo *Mycobacterium tuberculosis*. Esta enfermedad continúa siendo un problema de salud pública que afecta a millones de personas de todas las edades. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2017, aproximadamente 10 millones de personas contrajeron la infección y 1.6 millones murieron por esta causa, entre ellos, 0.3 millones coinfectadas con VIH; así mismo, se registraron 558 000 nuevos casos de resistencia a la rifampicina (RMP), de los cuales el 82% padecía TB-multirresistente (TB-MDR). En ese mismo año, enfermaron de TB un millón de niños y de éstos, 230 000 murieron debido a esta causa, incluidos los niños con TB asociada al VIH [1-3].

En México se reportó un total de 17 081 casos nuevos de TB pulmonar en el período de enero a mayo de 2019, de los cuales 403 pertenecieron al estado de San Luis Potosí. Cada año, más de la mitad de todos los estados del país notifican nuevos casos de TB, pues prácticamente la TB se ha extendido en todo el territorio mexicano [4]. En el año 2018 se reportaron 130 casos nuevos de TB en diferentes formas, principalmente del tipo pulmonar en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” (HCIMP) de San Luis Potosí.

El tratamiento acortado estrictamente supervisado (TAES), incluye a los fármacos isoniacida (INH), rifampicina (RMP), pirazinamida (PZA) y etambutol (ETM) [1]. De acuerdo con la OMS, el TAES produce una tasa de curación de 80% en la práctica real, lo que sugiere que este tratamiento necesita mejorarse [3]. Los esquemas de dosificación actuales únicamente incluyen al peso corporal para prescribir la terapia farmacológica; sin embargo, el argumento de que una misma dosis ajusta para todos es muy inflexible, dado que existe amplia variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas (Cp) de estos fármacos cuando se administran las dosis del TAES. Las dosis recomendadas por la OMS para niños fueron establecidas por extrapolación de datos de población adulta [2]; no obstante, en recientes estudios se ha demostrado que esas dosis producen baja exposición a los fármacos antifímicos en los pacientes pediátricos con TB [6-9].

A pesar de que las estrategias de la OMS han contribuido a la disminución de la incidencia de la TB, existen distintos reportes que indican que los pacientes están desarrollando resistencia

a los antituberculosos (antiTB) con los regímenes establecidos actualmente, y que por lo tanto, podría resultar benéfica la individualización de las dosis de estos fármacos [3, 10].

RMP e INH son los principales bactericidas del TAES y ambos presentan un estrecho intervalo terapéutico (INH de 3 a 6 mg/L y RMP de 8 a 24 mg/L en fase intensiva a las 2 h postdosis), sin embargo, hasta en 90% de pacientes que reciben las dosis estándares de estos compuestos bactericidas se han registrado niveles subterapéuticos en plasma [7, 9, 11-17]. Estudios previos realizados en población mexicana, reportaron Cp subterapéuticas de RMP al inicio del TAES en 35% de los pacientes; sin embargo, el riesgo de presentar dichos bajos niveles aumentó en aquellos pacientes con dosis de RMP menores a 9 mg/kg, así como en portadores del genotipo *MDR1* 3535 TT. En cuanto a INH, Huerta y cols. (2019), encontraron Cp subterapéuticas en la mayoría de los pacientes con fenotipo acetilador rápido, además de haber demostrado la influencia del índice de masa corporal (IMC) y la edad en los niveles reportados [18, 19].

La exposición inadecuada a los antifímicos es multifactorial, varía de paciente a paciente e implica el riesgo de baja respuesta al tratamiento. Aunque las dosis del TAES se basan en el peso corporal, el comportamiento farmacocinético y los niveles plasmáticos de RMP e INH dependen también de otros factores tales como edad, sexo, formulación farmacéutica, interacciones fármaco-fármaco, adherencia al tratamiento, alteraciones fisiopatológicas en la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación de los antifímicos, así como de aspectos genéticos que involucran a los polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs por sus siglas en inglés), los cuales codifican a enzimas y transportadores proteicos que participan en el metabolismo y absorción de estos fármacos y determinan su cinética en el organismo [2, 3, 12].

Una estrategia para mejorar la respuesta al tratamiento en niños y adultos es la individualización de dosis de INH y RMP en los pacientes que así lo requieran. Lo anterior implica realizar la genotipificación de los SNPs que codifican a los transportadores y enzimas y la monitorización terapéutica (Therapeutic Drug Monitoring, TDM por sus siglas en inglés) de los niveles plasmáticos de ambos fármacos. Con dicha información es posible determinar los parámetros farmacocinéticos en cada paciente por métodos tales como la estimación Bayesiana (para la cual se requiere de modelos poblacionales previamente construidos) con la finalidad de definir las dosis necesarias de INH y RMP que generen Cp efectivas. Este

proceso permitirá llevar un mejor control terapéutico al reducir las situaciones de fracaso terapéutico [21] y prevenir el riesgo de desarrollar farmacorresistencia [10, 22].

2. ANTECEDENTES

La TB está considerada uno de los principales problemas infecciosos de salud pública mundial, con altos registros de morbilidad y mortalidad en algunos países, a pesar de los programas sanitarios a través de los cuales se han invertido múltiples esfuerzos para disminuir su incidencia [1, 23]. La alta morbimortalidad asociada a esta enfermedad se debe en parte, a la creciente emergencia de TB-MDR a los fármacos de primera línea, problema que se puede disminuir si se adopta una estrecha vigilancia en su atención farmacoterapéutica.

2.1 Etiología.

Mycobacterium tuberculosis es el microorganismo responsable de la mayor parte de los casos de TB. La principal característica de esta micobacteria es la presencia de ácido micólico en su pared celular, lo cual le confiere defensa ante la respuesta inmunológica del huésped [24].

La infección por TB se adquiere principalmente de una persona infectada a una persona susceptible por transmisión de los microorganismos transportados en el aire. En la mayoría de las personas la TB primaria es asintomática, aunque puede causar fiebre y derrame pleural. Los microorganismos viables pueden permanecer inactivos durante décadas, sin embargo, si las defensas inmunitarias del hospedero disminuyen, la infección puede reactivarse, ser muy contagiosa y volverse potencialmente grave [23]. Los estados patológicos tales como diabetes mellitus (DM), linfoma de Hodgkin, enfermedad pulmonar crónica (particularmente silicosis), insuficiencia renal crónica, malnutrición, alcoholismo e inmunosupresión, son factores de riesgo para la TB [24].

La TB afecta principalmente a los pulmones debido a la inhalación de las gotículas expectoradas por los pacientes con TB activa; sin embargo, la infección puede diseminarse a otros órganos causando otras formas clínicas tales como la meníngea, ganglionar (que afecta principalmente a mujeres o pacientes con inmunosupresión), peritoneal, ósea, etc. [23].

2.2 Tratamiento de la TB.

Para combatir la TB se requiere de una multiplicidad de acciones, sin embargo, en cuanto al tratamiento farmacológico se persiguen dos objetivos básicos: la curación del paciente individual y la disminución de la transmisión de la infección con el consiguiente beneficio para la salud de la población. El logro de estos objetivos implica que el tratamiento sea prolongado, combinado, continuado y supervisado [5]. El TAES tiene como metas interrumpir la cadena de transmisibilidad del *M. tuberculosis*, lograr la curación, prevenir las complicaciones y evitar la muerte, a través de la combinación de varios fármacos bactericidas y esterilizantes que reducen el desarrollo de los microorganismos resistentes [25]. En general, la efectividad del TAES en la TB pulmonar depende de los resultados de las baciloscopías y de la evolución clínica del paciente [26]. El tratamiento comienza con una fase intensiva de 60 dosis con la administración diaria de INH, RMP, PZA, ETM (este último puede ser sustituido por estreptomicina de ser necesario) (Tabla 2.1). La fase de sostén consta de 45 dosis con INH y RMP, tres dosis por semana [1, 5]. En general, el TAES se administra con el empleo de presentaciones farmacéuticas combinadas que contienen INH, RMP, PZA y en ocasiones ETM.

Tabla 2.1 Dosis del TAES establecidas para adultos y niños con TB.

Fase intensiva (2 meses) lunes a sábado	Dosis en adultos (mg/kg peso)	Dosis en niños (mg/kg peso)	Dosis máxima (mg)
RMP	10	15	600
INH	5	10-15	300
PZA	20-30	25-30	1500-2000
ETM	15-25	20-30	1200
Fase de sostén (4 meses) Intermitente, 3 veces por semana: L, M y V	Dosis en adultos (mg/kg peso)	Dosis en niños (mg/kg peso)	Dosis máxima (mg)
RMP	10	15	600
INH	10	10-15	800

Los pilares de la terapia farmacológica son la RMP y la INH por ser los potentes bactericidas del tratamiento, mientras que la PZA y el ETM actúan como bacteriostáticos [27, 28].

La farmacocinética de INH y RMP muestra alta variabilidad interindividual la cual no está totalmente caracterizada, pero se reconoce que, entre los factores involucrados destacan las

propiedades fisicoquímicas de cada fármaco, la calidad de la forma farmacéutica, las interacciones fármaco-fármaco y fármaco-alimento, entre otros [29, 30]. En cuanto a factores inherentes al paciente, se ha reportado que influyen la edad, el sexo, las enfermedades concomitantes (alcoholismo, DM, VIH, desnutrición, etc.). En general, se espera que los pacientes con TB sin alteraciones en la absorción intestinal alcancen Cp adecuadas de ambos antifímicos y presenten buena respuesta al tratamiento con dosis estándar. Otros factores involucrados son los SNPs de genes que codifican a las proteínas transportadoras o enzimas que pueden causar diferencias en la absorción y el metabolismo de INH y RMP, alterando su eficacia o aumentando su toxicidad [31, 32].

A través de diversos estudios de monitorización de INH y RMP, las dosis convencionales han generado Cp que varían ampliamente y que en ocasiones provocan niveles subterapéuticos, en el orden de 30 a 89% para INH y de 69 a 90% para RMP [33, 34]. Los pacientes con TB pulmonar que presentan niveles plasmáticos subterapéuticos tardan más de 2 meses en negativizar la baciloscopía y tienen mayor riesgo de presentar recaídas [32, 35-37]. En el caso de niños, Thee y cols. (2011) encontraron que las dosis recomendadas por la OMS, producían Cp subterapéuticas de INH (2.39 a 3.99 mg/L) y de RMP (4.45 a 8.27 mg/L) en comparación con los niveles terapéuticos observados al incrementar la dosis de INH a 10 mg/kg (6.68 a 9.53 mg/L) y de RMP a 15 mg/kg (8.71 a 14.67 mg/L) [13].

Isoniacida.

INH tiene un enérgico efecto bactericida contra los bacilos tuberculosos en estado de replicación al inhibir las enzimas requeridas para sintetizar el ácido micólico, lo que bloquea la formación de su pared bacteriana. Se desconoce su mecanismo de acción exacto, pero se ha descrito que la INH inhibe la monoaminoxidasa del plasma, pero no la mitocondrial. También actúa sobre la monoaminoxidasa y diamino oxidasa bacteriana, interfiriendo con el metabolismo de la tiramina y de la histamina [38].

Una concentración de 3 mg/L de INH limita la acción de los bacilos, y de 5 mg/L inhibe significativamente su crecimiento [39].

Farmacocinética. Después de la administración oral, la INH se absorbe rápidamente, alcanzando máximos niveles en plasma de 3 a 6 mg/L entre 1 a 2 h post-dosis [3, 10, 40]. Los alimentos reducen tanto la rapidez como la cuantía de la absorción. Este fármaco se distribuye

muy bien en todos los órganos y tejidos, y penetra a través de las meninges inflamadas alcanzando niveles terapéuticos en el líquido cefalorraquídeo.

En el hígado, la INH es metabolizada a acetilisoniacida (AcINH) mediante la enzima N-acetiltransferasa 2 (NAT2). A su vez, AcINH se hidroliza y acetila a acetilhidracina para ser oxidada por CYP2E1 a especies reactivas de oxígeno y nitrógeno [41]. NAT2 cataliza otras dos acetilaciones, la de hidracina, proveniente de la hidrólisis de INH a acetilhidracina, y la de ésta en diacetilhidracina no tóxica [42]. Por su parte la glutatión transferasa GSTM1 desempeña un papel protector al conjugar y remover los metabolitos tóxicos para su eliminación [38, 43, 44] (Figura 2.1).

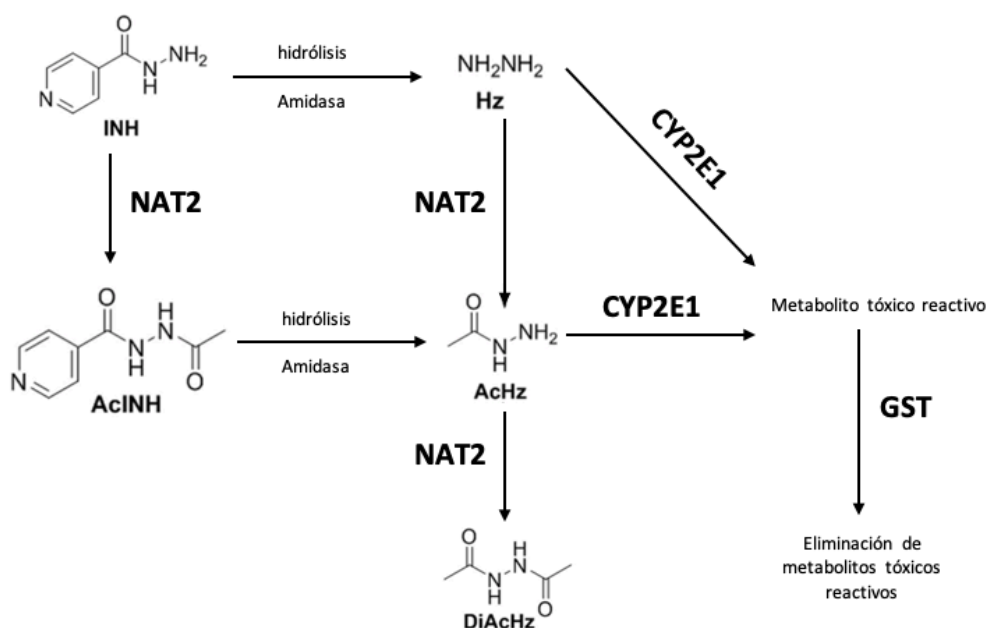


Figura 2.1 Esquema del metabolismo de la INH y las enzimas involucradas en las vías metabólicas [45].

AcHz: acetil-hidracina; AcINH, acetil-isoniacida; DiAcHz: diacetil-hidracina; GST: glutatión S-transferasas; Hz: hidracina; NAT2: N-acetiltransferasa 2; CYP2E1: citocromo P2E1.

Aproximadamente el 75% del fármaco se excreta en la orina tanto en forma inalterada como metabolito Ac-INH, mientras que el resto se elimina en la heces, saliva y esputo [38]. La semivida de eliminación de INH está reportada de 1 a 4 h, sin embargo, este valor está en función del fenotipo acetilador de la enzima NAT2 en el paciente [12, 44, 46, 47].

Farmacogenética y su influencia en la farmacocinética de INH. Numerosos estudios farmacogenéticos [13, 47, 48] se han centrado en investigar los polimorfismos genéticos implicados en la biotransformación de la INH, dirigiéndose a los genes que codifican a las enzimas NAT2, CYP2E1 y GST, no obstante que hay preponderancia de estudios acerca de NAT2.

Para el gen de *NAT2* han sido descritas 64 variantes alélicas [50]. Siete SNPs de codificación común (rs1801279, rs1041983, rs1801280, rs1799929, rs1799930, rs1208 y rs1799931) definen hasta 34 haplotipos del gen, algunos de los cuales se muestran en la Tabla 2.2. La mayoría de estudios reportados se enfocan a describir un subconjunto de genotipos para inferir el fenotipo de acetilación [46, 47, 49, 51].

Tabla 2.2 Fenotipos de acetilación basados en los diplotipos de los alelos de *NAT2* [49, 52].

Fenotipo	Genotipo	Ejemplos de diplotipos
Acetilador rápido	2 alelos rápidos de <i>NAT2</i> (*4, *11, *12, *13, *18)	*4/*4, *4/*12, *4/*13, etc.
Acetilador intermedio	1 alelo rápido de <i>NAT2</i> y 1 alelo lento de <i>NAT2</i>	*4/*5, *4/*6, *5/*11, *7/*11, *13/*14, etc.
Acetilador lento	2 alelos lentos de <i>NAT2</i> (*5, *6, *7, *14)	*6/*6, *7/*7, *6/*7, *5/*6, *5/*7, etc.

Dado que la velocidad de acetilación es una consecuencia del polimorfismo genético de *NAT2* [53], los individuos con dos alelos *NAT2**4/*NAT2**4 se identifican como acetiladores rápidos; los sujetos con un alelo rápido y un alelo lento (por ejemplo *NAT2**4/*NAT2**5) se consideran intermedios, mientras que los portadores de dos alelos *NAT2**5, *NAT2**6 y/o *NAT2**7 se clasifican como lentos [54].

Está reportado que 88% de variabilidad en el aclaramiento (CL) de INH depende del número de alelos del gen *NAT2*. En general los portadores de genotipo *NAT2**4/*4 presentan bajas Cp de INH a las 2 h post-dosis en comparación con otros genotipos. Los acetiladores lentos pueden presentar niveles de INH en plasma 4 veces mayores en el intervalo de 2 a 6 h post-dosis que los acetiladores rápidos [55]. A medida que los alelos polimórficos de los genes de

Las Cp adecuadas para la actividad bactericida de RMP deben estar entre 8 y 24 mg/L a las 2 h post-dosis; niveles menores a 4 mg/L se consideran muy bajos con alto riesgo de conducir a falla terapéutica [39].

Farmacocinética. Durante el proceso de absorción intestinal, la RMP, sustrato de la glicoproteína P (PGP) apical, es recirculada desde los enterocitos hacia el lumen intestinal, lo que podría generar una cantidad absorbida disminuida [56]. Para RMP se distinguen tres perfiles en la absorción: los sujetos que absorben rápido y alcanzan $C_{máx}$ deseadas dentro de 2 a 4 h; otros que alcanzan $C_{máx}$ deseadas después de las 4 h postdosis; y los sujetos que no alcanzan $C_{máx}$ por encima de 8 mg/L aun cuando reciben más de 10 mg/kg de RMP [12, 48, 49]. Los problemas de déficit en la absorción de RMP pueden originar Cp subterapéuticas que promueven la aparición de resistencia secundaria sobre todo en pacientes coinfectados con VIH [10, 57, 58].

Cerca de 80% de RMP se une a proteínas plasmáticas. Este fármaco se distribuye ampliamente en tejidos y fluidos corporales, encontrándose en concentraciones adecuadas en LCR, hueso, pleura, humor acuoso, secreciones respiratorias, próstata, hueso, etc. [3, 10, 38]. Por otro lado, en los hepatocitos, la cantidad de RMP expuesta a enzimas metabolizadoras y a la excreción biliar depende específicamente de un transportador basolateral de entrada (OATP1B1) y de la acción de eflujo de la PGP (Figura 2.3).

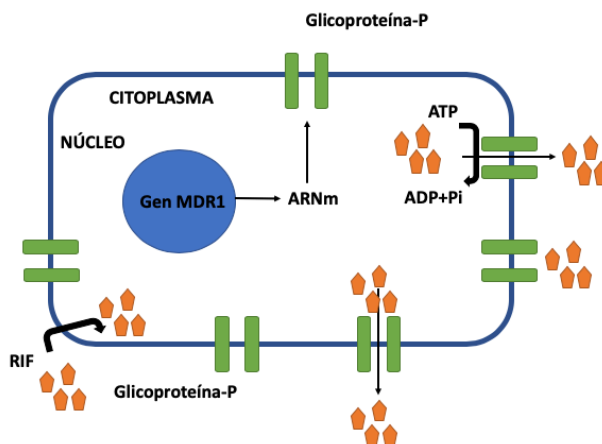


Figura 2.3 Participación de la PGP, codificada por el gen *MDR1*, en la absorción y excreción de la RMP.

Además de ser sustrato, RMP es un potente inductor de la PGP y del CYP3A4 logrando repercusión en la disposición del fármaco con sus consecuencias clínicas. La administración repetida de RMP induce a la PGP e incrementa su CL intestinal/biliar [59].

Farmacogenética y su influencia en la farmacocinética de RMP. El transportador PGP es codificado por el gen *MDR1*, de tal manera que sus SNPs causan cambios de expresión en la formación de esta proteína de eflujo. El SNP *MDR1C3435T* TT provoca baja expresión de la PGP con respecto al genotipo CC. Esto conduce a la expresión de PGP que codifica para el gen *MDR1C3435T* TT aproximadamente de 25%, CT de 48% y 62% de CC. Al tener menor expresión de la PGP, el genotipo TT producirá mayores Cp de RMP, al contrario de lo que sucede con el genotipo CC en el cual está aumentada la expresión de la proteína de eflujo y por lo tanto, las Cp de este fármaco disminuirán [13, 47, 48].

A través de un estudio en 75 pacientes potosinos con TB se evaluó el SNP del gen *MDR1* que codifica la expresión de la PGP y se encontró que para la variante C3435T, 20.6% pacientes fueron silvestres (CC), 43.8% heterocigotos (CT) y 35.6% (TT) homocigotos polimórficos. Estos últimos registraron incrementados valores de Ka (constante de absorción), C_{máx} y ABC_{0-INF} (TT>CT>CC), y menores t_{1/2} y T_{máx} para RMP (Tiempo en el que se presenta la concentración máxima) frente a los otros genotipos (TT<CT<CC). Entre los sujetos silvestres CC y los heterocigotos CT, se registraron diferencias significativas en Ka, t_{1/2}, C_{máx}, T_{máx} y ABC_{0-INF}, respectivamente [47].

2.3 Farmacocinética poblacional

A través de un modelo poblacional es posible explicar la alta variabilidad farmacocinética de un fármaco. Durante su construcción se analizan las características antropométricas, genéticas, clínicas, de concomitancia con otras enfermedades y los medicamentos que se administran, entre otros factores, y se estiman los valores medios de los parámetros farmacocinéticos en un grupo de individuos, así como la variabilidad interindividual asociada a datos obtenidos de la práctica clínica rutinaria. La relevancia de los modelos poblacionales trasciende a la práctica clínica ya que proporcionan un apoyo para diseñar regímenes de dosificación que permitan obtener Cp terapéuticas en un paciente determinado [2, 60].

Beal y Sheiner introdujeron en 1984 el término de modelo poblacional bajo el enfoque de modelado de efectos mixtos no lineales (NONMEM por sus siglas en inglés Nonlinear Mixed

Effects Modelling), el cual se comenzó a usar por primera vez en el software que lleva su mismo nombre (NONMEM®).

Se han reportado varios modelos farmacocinéticos poblacionales para RMP e INH para pacientes adultos y niños con TB a partir de datos de distintas poblaciones alrededor del mundo (Tabla 2.3, Tabla 2.4, Tabla 2.5 y Tabla 2.6).

Para la población mexicana se cuenta con los modelos poblacionales para RMP e INH en adultos con TB, los cuales han sido previamente obtenidos por este equipo de trabajo (Tabla 2.3 y Tabla 2.4). A partir de la construcción de estos modelos, se han identificado los factores que desde el punto de vista farmacoestadístico son determinantes para los parámetros farmacocinéticos poblacionales. En el caso de RMP influyen el peso corporal y sexo del paciente en el V; la formulación genérica y la duración del tratamiento en la F; mientras que para la INH, el peso corporal y el fenotipo acetilador de NAT2 son covariables que influyen en el volumen de distribución (Vd) y CL [47].

En cuanto a los modelos farmacocinéticos en niños, Zvada y cols. [8] encontraron que para INH el CL y la biodisponibilidad (F) están determinados por el fenotipo de acetilación de los pacientes. El tiempo medio de maduración fisiológica, entre otros, fueron datos significativos para desarrollar los modelos poblacionales para ambos antifímicos en la población pediátrica (Tabla 2.5 y Tabla 2.6).

Tabla 2.3 Modelos farmacocinéticos poblacionales de INH en adultos con TB.

Referencia	Población	Modelo	IIV	RV
Wilkins y cols. (2011)	Africanos con TB pulmonar 102 mujeres, 133 hombres Edad 20 a 60 años	Bicompartimental, absorción y eliminación de primer orden	Exponencial	Aditivo
		$CL_{\text{acet. rápidos}}/F = 21.6 *(\text{peso corporal total}/70)^{0.75}$	18.40%	0.205 mg/L
		$CL_{\text{acet. lentos}}/F = 9.7 *(\text{peso corporal total}/70)^{0.75}$		
		$Vd_c/F = 57.7 *(\text{peso corporal total}/70) * (1 - 0.103 \text{ sexo femenino})$	16.50%	
		$Vd_p/F = 1730 \text{ L}$		
		$Q/F \text{ (L/h)} = 3.34 *(\text{peso corporal total}/70)^{0.75}$	93.10%	
		$Ka = 1.85 \text{ h}^{-1}$		
$t_{\text{lag}} = 0.180 \text{ h}$	88.40%			
Seng y cols. (2015)	Asiáticos sanos 23 hombres, 10 mujeres Edad 22 a 56 años	Bicompartimental, absorción y eliminación de primer orden	Exponencial	Aditivo
		$Ka = 0.6 \text{ h}^{-1}$	12.90%	0.326 mg/L
		$CL/F = 62.5 \text{ L/h}$	14.40%	
		$Vd_c/F = 18 \text{ L}$		
		$Q/F = 2.8 \text{ L/h}$		
		$Vd_p/F = 15.9 \text{ L}$	34.40%	
Denti y cols. (2015)	Población de Tanzania con TB pulmonar 58 hombres, 42 mujeres Edad 29 a 40 años	Bicompartimental, absorción de tránsito en compartimentos	Exponencial	
		$CL_{\text{acet. rápidos-intermedios}} = 26.1 \text{ L/h}$	30.70%	0.0224 mg/L
		$CL_{\text{acet. lentos}} = 15.5 \text{ L/h}$		
		$Vd_c = 48.2 \text{ L}$		
		$Q = 16.1 \text{ L/h}$		
		$Vd_p = 16.5 \text{ L}$		
$MTT = 0.924 \text{ h}$	37.40%			

Huerta y cols. (2019)	Población Mexicana 28 hombres, 22 mujeres Edad 18 a 72 años	Monocompartimental, absorción y eliminación de primer orden	Proporcional	Proporcional
		$K_a = 3.14 \text{ h}^{-1}$	192.60%	39%
		CL acet. lentos = 11.6 L/h	44.40%	
		CL acet. intermedios = 15.6 L/h		
		CL acet. rápidos = 28.2 L/h		
$V_d = 1.03 \text{ L/kg}$	78.30%			
<p>CL, Aclaramiento total; CL acet., Aclaramiento total por fenotipo de acetilación de NAT2 en los pacientes; CL/F, Aclaramiento total en relación con la biodisponibilidad; F, Biodisponibilidad relativa; Vd, Volumen de distribución; Vd_c, Volumen de distribución central; Vd_p, Volumen de distribución periférico; Vd_c/F, Volumen de distribución central en relación con la biodisponibilidad; Vd_p/F, Volumen de distribución periférico en relación con la biodisponibilidad; K_a, constante de absorción; MTT, tiempo de tránsito medio de absorción; Q, flujo sanguíneo; Q/F, flujo sanguíneo en relación con la biodisponibilidad; tlag, Tiempo de latencia en la absorción; IIV, Variabilidad interindividual; RV, Variabilidad residual.</p>				

Tabla 2.4 Modelos farmacocinéticos poblacionales de RMP en adultos con TB.

Referencia	Población	Modelo	IIV	RV
Jing y cols. (2015)	Chinos con TB pulmonar 65% hombres 19-82 años	Modelo monocompartimental con absorción de primer orden	Exponencial	Aditivo
		Ka = 1.61 h ⁻¹ (Fixed)		6.55 mg/L
		CL/F = 4.02 L/h	64.50%	
		Vd/F = 57.8 L	20.90%	
Schipani y cols. (2016)	Malawis con TB pulmonar 58% hombres 14-65 años	Modelo monocompartimental con absorción de primer orden	Exponencial	Proporcional
		Ka = 0.236 h ⁻¹		48%
		CL/F = 23.9 * (Peso corporal total/70) ^{0.75} *(edad/33) ^{0.517}	46.60%	
		Vd/F = 44.6 L	87.40%	
Milán y cols. (2014)	Mexicanos con TB 61% hombres 18-91 años	Modelo monocompartimental con absorción de primer orden + tlag	Exponencial	Proporcional
		Tlag = 0.26 h		27.27%
		Ka = 2.70 h ⁻¹	330.20%	
		CL/F = 8.17 * 1.4 (sexo masculino) L/h	31.90%	
		Vd/F = 50.10 * 1.29 (sexo masculino) L	16.70%	
Huerta y cols. (2019)	Mexicanos con TB	Modelo monocompartimental con absorción de primer orden + tlag +Tk0	Exponencial	Aditivo
		Tk0 = 0.624 h	131.10%	1.14 mg/L
		Tlag = 0.242 h		
		Ka = 1.24 h ⁻¹	110.50%	
		CL/F = 5.96 L/h	38.50%	
		Vd/F = 0.705 * Peso corporal total (sexo masculino) L	26.80%	
		F = 0.8 (si es formulación genérica y el tratamiento es >15 días)		
CL, Aclaramiento total; CL/F, Aclaramiento total en relación con la biodisponibilidad; F, Biodisponibilidad relativa; Vd, Volumen de distribución; Vd_c, Volumen de distribución central; Vd_p, Volumen de distribución periférico; Vd_c/F, Volumen de distribución central en relación con la biodisponibilidad; Vd_p/F, Volumen de distribución periférico en relación con la biodisponibilidad; Ka, constante de absorción; tlag, Tiempo de latencia en la absorción; Tk0, duración de la absorción; Variabilidad interindividual; RV, Variabilidad residual.				

Tabla 2.5 Modelo poblacional de INH en niños con TB [8].

Parámetro farmacocinético	Valor típico (RSE (%))^a	IIV^b (RSE (%))^a	IOV^c (RSE (%))^a
CL acet. lentos (L/h)	4.44 (11.6)	25.1 (12.3)	
CL acet. intermedios (L/h)	8.94 (13.1)		
CL acet. rápidos (L/h)	11.3 (14.8)		
Vd _c (L)	11.0 (10.2)		
Ka (h ⁻¹)	2.47 (12.8)		61.6 (12.4)
MTT (h)	0.179 (10.9)		93.9 (17.9)
NN	4		
Q (L/h)	2.0 (26.3)		
Vd _p (L)	5.03 (33.4)		
F acet. lentos	1		39.7 (5.8)
F acet. intermedios/acet. rápidos	0.772 (30.3)		
TM ₅₀ (semanas)	49.0 (13.5)		
Hill	2.19 (46.1)		
Error proporcional, Cohorte 1 (%)	20.6 (2.8)		
Error proporcional, Cohorte 2 (%)	7.0 (18.7)		
<p>CL acet., Aclaramiento total por fenotipo de acetilación de los pacientes; Vd_c, volumen de distribución central (los valores informados se refieren a un niño de 12.5 kg y CL en total maduración); Vd_p, volumen de distribución periférico; Ka, constante de absorción; MTT, tiempo de tránsito medio de absorción; NN, compartimientos de tránsito; F acet., biodisponibilidad de acuerdo al fenotipo de acetilación de NAT2 en los pacientes; TM₅₀, edad postmenstrual en la que se alcanza el 50% del CL y la maduración media del tiempo de tránsito; Hill, variable de la función de maduración; Q, flujo sanguíneo.</p> <p>^aRSE, error estándar relativo informado en la escala de desviación estándar aproximada. ^bIIV, variabilidad interindividual expresada como coeficiente de variación porcentual (% CV). ^cIOV, variabilidad inter-ocasional expresada como porcentaje de coeficiente de variación (% CV).</p>			

Tabla 2.6 Modelo poblacional de RMP en niños con TB [8].

Parámetro farmacocinético	Valor típico (RSE (%))^a	IIV^b (RSE (%))^a	IOV^c (RSE (%))^a
CL (L/h)	8.15 (9.0)	32.6 (27.7)	25.1 (20.0)
Vd _c (L)	16.2 (10.2)	43.4 (19.8)	
MTT (h)	1.04 (6.10)		40.6 (8.60)
NN	8.04 (11.9)		
F (%)	1		48.1 (12.7)
TM ₅₀ (semanas)	58.2 (9.0)		
Hill	2.21 (11.7)		
Error aditivo, Cohorte 1 (mg/L)	0.122 (24.6)		
Error aditivo, Cohorte 2 (mg/L)	0.630 (30.3)		
Error proporcional (%)	23.4 (4.50)		

CL, Aclaramiento total; Vd_c, volumen de distribución central (los valores informados se refieren a un niño de 12.5 kg y CL en total maduración); MTT, tiempo de tránsito medio de absorción; NN, compartimientos de tránsito; F, biodisponibilidad; TM₅₀, edad postmenstrual en la que se alcanza el 50% del CL y la maduración media del tiempo de tránsito; Hill, variable de la función de maduración.

^aRSE, error estándar relativo informado en la escala de desviación estándar aproximada. ^bIIV, variabilidad interindividual expresada como coeficiente de variación porcentual (% CV). ^cIOV, variabilidad inter-ocasional expresada como porcentaje de coeficiente de variación (% CV).

2.4 Monitorización de fármacos y metodología Bayesiana para el ajuste de dosis.

Dado que INH y RMP son los principales bactericidas del esquema TAES, es preciso realizar un proceso de monitorización de fármacos para ajustar las dosis en pacientes niños y adultos con TB con fines de evitar Cp subterapéuticas. Entre las estrategias para la individualización de dosis de INH y RMP se encuentran la genotipificación y la monitorización terapéutica de estos antifímicos.

La monitorización de fármacos o TDM es una herramienta que permite realizar el seguimiento de aquellos pacientes cuyas Cp se encuentran fuera del intervalo terapéutico y que colocan al paciente en mayor riesgo de fracaso al tratamiento, así como de recaídas y aparición de cepas farmacorresistentes para el caso de antibióticos [2, 9, 10]. El TDM se aplica principalmente para fármacos con estrecho margen terapéutico, con amplia variabilidad farmacocinética y para aquellos que causan efectos adversos serios.

El proceso del TDM comienza con la determinación analítica de las Cp y la estimación de los parámetros farmacocinéticos del fármaco en cada paciente. Dicha información es empleada posteriormente para realizar el ajuste del régimen de dosificación a través de métodos estadísticos y matemáticos entre los cuales se encuentran la regresión lineal, regresión no lineal y el ajuste Bayesiano [2, 3, 10].

Metodología Bayesiana para el ajuste de dosis. El ajuste Bayesiano tiene como ventaja emplear una sola Cp de fármaco en el paciente para estimar sus parámetros farmacocinéticos individuales; a medida que se disponga de más datos de Cp o de un perfil farmacocinético completo será posible obtener una mejor estimación de dichos parámetros. No es necesario que los niveles plasmáticos estén en el equilibrio dinámico para realizar el ajuste de dosificación; por el contrario, con esta metodología es posible determinar el perfil farmacocinético completo en el paciente al estimar parámetros tales como $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, CL, Vd, constante de eliminación (K_e) y $t_{1/2}$ [2, 3, 10].

El modelo estadístico Bayesiano requiere de información previa, procedente de modelos farmacocinéticos poblacionales que hayan sido construidos, de preferencia, con datos de la población a la que pertenece el paciente, o en su defecto, de una población con la que comparta características demográficas y clínicas, entre otras. Los parámetros

farmacocinéticos poblacionales ya conocidos, aunados con la nueva información de las Cp obtenidas en la monitorización del fármaco de interés, alimentarán el software NONMEM® con la finalidad de estimar los parámetros farmacocinéticos correspondientes a cada paciente. Finalmente, los parámetros estimados se emplean para realizar el ajuste de las dosis que deriven en Cp dentro de intervalo terapéutico (Figura 2.4) [2].

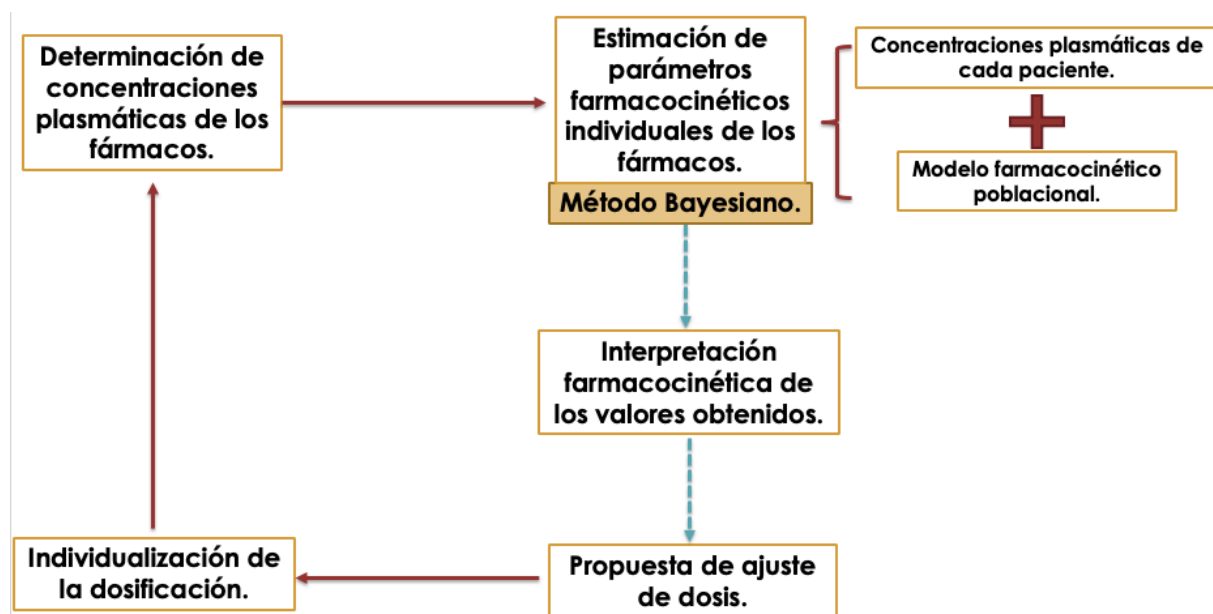


Figura 2.4 Proceso para la monitorización y posterior individualización de dosis a partir de la estimación Bayesiana de parámetros farmacocinéticos.

De manera general, el método Bayesiano consiste en realizar una adecuada combinación de información farmacocinética, individual y poblacional, con fines de estimar la posología requerida para obtener niveles terapéuticos de un fármaco en particular. La aplicación de esta metodología dirigida al ajuste de dosis de INH y RMP puede ser de suma utilidad en la terapia antifímica de pacientes con TB.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la TB es una de las enfermedades de prioridad en salud pública que demanda mayor vigilancia y control epidemiológico por parte de las autoridades sanitarias. A pesar de que la estrategia TAES reporta tasas de curación de 80%, esta cifra es considerada como subóptima debido a la incrementada morbilidad y farmacorresistencia de esta enfermedad infecciosa. El enfoque actual de la OMS para el tratamiento de la TB únicamente considera el ajuste de dosis con base al peso corporal del paciente. A través de varios estudios [8, 9, 13] se ha demostrado que las dosis del TAES producen una amplia variabilidad farmacocinética intersujeto para RMP e INH, lo cual se refleja en la obtención de niveles plasmáticos dentro de intervalo terapéutico y fuera de él. Particularmente, se ha identificado que los pacientes con baja respuesta bacteriológica registran niveles subterapéuticos de RMP o INH, o de ambos fármacos y en consecuencia, hay mayor riesgo de fracaso terapéutico en estos pacientes [14-16].

En el caso particular de la TB, los factores demográficos, clínicos, farmacocinéticos y farmacogenéticos, así como de coexistencia con otras enfermedades y medicación, condicionan la respuesta al tratamiento; por lo que es necesario establecer una estrategia que integre este tipo de factores y la aplique en el diseño de regímenes de dosis individualizados para pacientes niños o adultos que reciben la prescripción en un régimen multiterapéutico como el TAES [2, 10, 22].

Uno de los objetivos de la monitorización de fármacos es conseguir que la terapia medicamentosa produzca el máximo beneficio con el menor riesgo de toxicidad [63]. Por ello, se considera que la individualización de los regímenes de dosificación para INH y RMP es una alternativa adecuada para contribuir a mejorar la respuesta al tratamiento de niños y adultos con TB, previniendo situaciones de toxicidad, fracaso terapéutico y farmacorresistencia. Lo anterior es posible al implementar un proceso de monitorización de las Cp de ambos antifímicos, aunado al empleo de modelos poblacionales ya descritos en la población mexicana para realizar la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales por paciente, y su posterior aplicación para proponer esquemas de individualización posológica de INH y RMP.

4. HIPÓTESIS

La detección oportuna de niveles plasmáticos de INH y RMP fuera de intervalo terapéutico en conjunto con la estimación Bayesiana de sus parámetros farmacocinéticos permitirá proponer ajuste de dosis para optimizar el tratamiento antituberculoso en pacientes pediátricos y adultos con diagnóstico de TB.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Monitorizar las Cp de RMP e INH en niños y adultos con TB para detectar concentraciones fuera de intervalo terapéutico con el fin de optimizar el tratamiento a través de la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos.

5.2 Objetivos Específicos

- Validar la técnica analítica para la cuantificación de INH y RMP por UPLC-MS/MS.
- Cuantificar los niveles de INH y RMP en plasma de niños y adultos con TB del HCIMP bajo el esquema TAES.
- Determinar los polimorfismos de los genes *MDR1* y *NAT2* implicados en la farmacocinética de RMP e INH, respectivamente, a partir del ADN genómico de los pacientes participantes.
- Determinar mediante estimación Bayesiana los parámetros farmacocinéticos individuales de INH y RMP en pacientes pediátricos y adultos con TB.
- Sugerir un ajuste de régimen de dosificación de INH y RMP en niños y adultos con concentraciones fuera del intervalo terapéutico.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño del estudio.

Se realizó un estudio cuasi experimental, analítico, longitudinal y prospectivo con la participación de pacientes con TB atendidos en el HCIMP. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del HCIMP con el registro 66-18 y por el Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Fac. de C. Químicas de la UASLP con el número CEID-2018012-S.

El muestreo aplicado fue de tipo no probabilístico consecutivo por conveniencia. En conjunto con el médico adscrito al Servicio de Infectología e Infectología Pediátrica del HCIMP se invitó a participar a todo paciente con TB atendido en la institución, con especial énfasis a aquéllos que presentaron una evolución clínica no favorable o alguna condición que pudiera derivar en riesgo de fracaso terapéutico. A cada paciente participante en el protocolo se le explicó el procedimiento y su beneficio.

Fueron incluidos todos los pacientes atendidos durante el periodo de agosto 2018 a junio 2019 que reunieran los siguientes criterios.

Criterios de inclusión. Pacientes con diagnóstico confirmado de TB pulmonar o extrapulmonar, en fase intensiva o de sostén del TAES, con más de dos semanas en tratamiento; adultos mayores de 18 años; niños de edad de 2 a 18 años; con la firma del consentimiento informado en caso del paciente adulto, y del padre o tutor en caso del paciente pediátrico, así como del asentimiento informado del paciente pediátrico mayor a 12 años (Anexo 10.3, Anexo 10.4 y Anexo 10.5).

Criterios de exclusión. Mujeres embarazadas o en etapa de lactancia.

Criterios de eliminación. Retiro voluntario del estudio antes de concluir el seguimiento y limitaciones técnicas para obtener y/o procesar la muestra sanguínea.

6.2 Recolección de datos para la construcción de la base de datos.

Se registraron los datos antropométricos de cada paciente obtenidos del expediente clínico o a través de entrevista directa con el paciente o familiares de éste cuando así se requería (Anexo 10.1 y Anexo 10.2). Los datos de laboratorio, genotipificación y Cp se recolectaron directamente del resultado de la técnica analítica aplicada. Todos los datos se introdujeron en una base de datos en el programa Excel.

6.3 Administración de medicamentos.

Los pacientes se presentaron el día indicado en ayuno al menos de 8 h. De acuerdo con el peso corporal total y edad del paciente, se le administró la dosis estándar de RMP (600 mg en fase intensiva o en fase de sostén) e INH (300 mg en fase intensiva o 800 mg en fase de sostén) (Tabla 2.1). En casos específicos, cuando el paciente presentó un peso corporal menor a 50 kg se le administraron dosis ajustadas, o en caso de enfermedad renal crónica (ERC) se estableció un régimen de fase intensiva los lunes, miércoles y viernes.

6.4 Obtención de muestras biológicas.

A cada paciente adulto o pediátrico se le tomaron 3 muestras sanguíneas de 4 mL cada una a través de venopunción periférica. Se recolectaron en tubos vacutainer™ con anticoagulante EDTA para realizar la genotipificación y con heparina de sodio para la monitorización de Cp de RMP e INH a las 2 y/o 4 h post-dosis. El número de muestras para la monitorización se limitó a una o dos por paciente registrando el horario exacto de extracción respecto a la última dosis del fármaco.

6.5 Análisis de las muestras de sangre completa.

Extracción de ADN. El ADN genómico se obtuvo a partir de la muestra de sangre completa de cada paciente mediante un kit de extracción Wizard® Genomic DNA marca Promega. Se determinó la concentración del material genético extraído en un espectrofotómetro NanoDrop™ 2000/2000c (Thermo Fisher Scientific) a una longitud de onda de 260 nm; además se evaluó la pureza del ADN obtenido empleando la proporción de absorbancias 260/280 nm. Finalmente, se almacenó a 4°C para su posterior análisis de genotipificación.

Estudio de genotipificación. El estudio se realizó mediante la técnica de PCR en tiempo real previamente estandarizado. Para cada reacción de PCR se utilizó ADN genómico, Master mix, agua y sondas Taqman® (Applied Biosystems, USA). La amplificación se llevó a cabo en el equipo de PCR StepOne (AB Applied Biosystems, USA) y software StepOne v2.22. Se analizaron los SNPs correspondientes a los genes: *MDR1 C3435T*, *NAT2 C282T*, *NAT2 T341C*, *NAT2 C481T*, *NAT2 G590A*, *NAT2 A803G* y *NAT2 G857A*. Una vez confirmada la presencia de los SNPs, se determinaron los haplotipos de acuerdo con la nomenclatura utilizada por consenso (<http://nat.mbg.duth.gr/>). Los resultados de cada paciente se reportaron en un formato que fue anexado al expediente clínico.

6.6 Validación del método analítico por UPLC-MS/MS para la medición de las Cp de INH y RMP.

Preparación de la curva de calibración y controles de calidad de INH y RMP en plasma.

A partir de estándares de INH con 5 mg/mL y de RMP con 5 mg/mL en agua, se prepararon las curvas de calibración en plasma libre de fármacos en un intervalo de concentración de 0.7 a 25 mg/L y 0.42 a 15 mg/L, para RMP e INH, respectivamente.

Los estándares de control de calidad también se prepararon en plasma en concentraciones alta (MCA), media (MCM) y baja (MCB), siendo para RMP de 2, 6 y 20 mg/L, y para INH de 1, 4 y 12 mg/L.

Tratamiento previo de los estándares de la curva de calibración y controles de calidad en plasma.

Se mezclaron 100 µL de cada estándar de la curva de calibración o de los estándares de control de calidad con 100 µL de ACN grado HPLC para su desproteización. Después se centrifugó y se repitió el proceso hasta observar un sobrenadante transparente el cual se transfirió a un vial para su posterior análisis por UPLC-MS/MS (Figura 6.1).

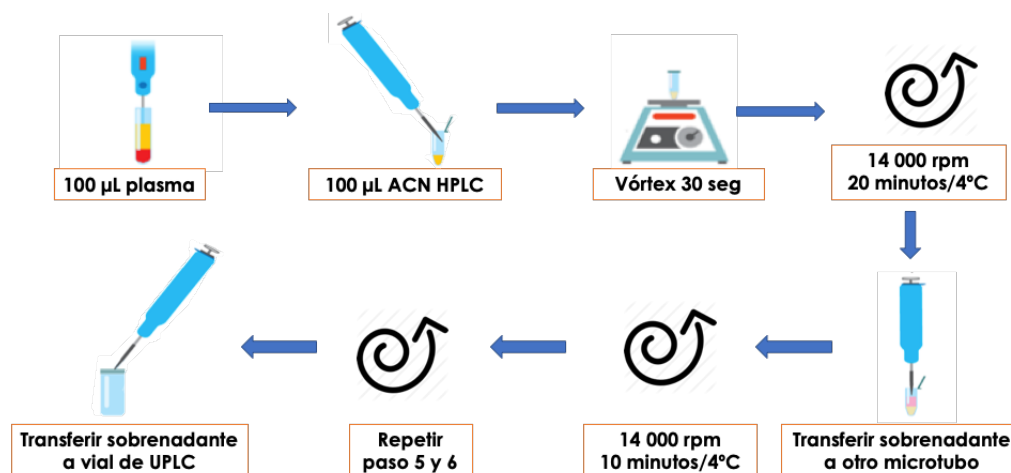


Figura 6.1 Procesamiento de muestras de plasma previo a cuantificación de INH y RMP por UPLC-MS/MS.

Condiciones de trabajo cromatográficas y de espectrometría de masas. Cada extracto se analizó en un Cromatógrafo de Líquidos de Ultra Alta Resolución acoplado a un detector de Espectrometría de Masas en tándem (UPLC-MS/MS). El sistema cromatográfico consistió en un equipo Acquity UPLC clase H que incluyó un automuestreador FTN con control de temperatura y una bomba cuaternaria acoplado a un detector de espectrometría de masas triple cuadrupolo Xevo TQD (Waters Corp.). La separación cromatográfica se realizó en una columna ACQUITY UPLC BEH C18 de 1.7 µm de tamaño de partícula, 2.1 mm de diámetro por 100 mm de longitud a una temperatura de 40°C. Se empleó una fase móvil constituida por ácido fórmico al 0.1% (A) y acetonitrilo grado masas (B). El sistema de bombeo fue en gradiente con una proporción inicial de 99% A:1% B a un flujo de 0.3 mL/min durante 2.5 minutos, seguido de una disminución a 30% A:70% B durante 2.5 minutos con flujo de 0.4 mL/min para finalmente regresar a las condiciones iniciales durante 1 minuto para el reacondicionamiento de la columna. El volumen inyección fue de 5 µL y la temperatura del automuestreador se ajustó a 10°C, con una duración total de 6 minutos por inyección. La información obtenida fue procesada con el software MassLynx V4.1. Las condiciones de detección en el espectrómetro de masas Xevo TQD se indican en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1 Condiciones del espectrómetro de masas para la identificación de RMP e INH.

Molécula	Ion padre (m/z)	Transición (m/z)	Voltaje de cono (V)	Energía de colisión (eV)
INH	137.97	120.95	30	12
		78.9		22
RMP	823.54	791.52	30	16
		151.00		34

Validación del método analítico. Se procedió a validar estadísticamente el método por UPLC-MS/MS para cuantificar RMP e INH en plasma de acuerdo con los lineamientos estipulados en la *Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013* [64]. A continuación, se describen los principales parámetros evaluados.

- a) **Selectividad.** Se demostró que no hay interferencia de compuestos endógenos de la matriz biológica mediante la evaluación individual de 6 unidades de plasma libres de fármacos.
- b) **Efecto de matriz para métodos de espectrometría de masas.** Se analizaron individualmente 6 unidades de matriz blanco con el MCB y MCA. Se compararon las respuestas analíticas obtenidas con las respuestas de los analitos en solución. El coeficiente de variación (CV%) del factor de matriz normalizado (FMN) no debe ser mayor a 15%.

$$FMN = \frac{\text{Respuesta del analito en la matriz}}{\text{Respuesta del analito en solución}}$$

- c) **Efecto de acarreo para métodos por espectrometría de masas.** Se realizaron 3 inyecciones de una misma muestra blanco (una antes y dos después de la inyección del límite superior de cuantificación). La respuesta analítica de las interferencias próximas al tiempo de retención de cada analito debe ser menor a 20% para el límite inferior de cuantificación de los analitos.
- d) **Límite inferior de cuantificación (LIC).** Se determinó con base al 5% del $C_{\text{máx}}$ reportado para cada analito de interés.
- e) **Linealidad.** Se evaluaron 3 curvas de calibración. La concentración recuperada de cada punto de la curva debe estar dentro de $\pm 15\%$ de la concentración nominal,

excepto para el LIC que puede ser $\pm 20\%$. Al menos 75% de las concentraciones de la curva debe cumplir con este criterio.

f) **Precisión.** Se evaluaron las muestras LIC, MCB, MCM y MCA.

1. **Repetibilidad:** se analizó en un mismo día por quintuplicado las muestras MCB, MCM y MCA. Se calculó la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración. El CV% del valor promedio no debe ser mayor que 15%.
2. **Reproducibilidad:** se analizó por quintuplicado las muestras MCB, MCM y MCA. en tres corridas analíticas diferentes. Se obtuvo la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración. El CV% del valor promedio no debe exceder de 15%.
3. **Exactitud:** con los datos de repetibilidad y reproducibilidad se calculó la desviación de la concentración obtenida respecto al valor nominal (% de desviación, que debe ser $< 15\%$ excepto para el LIC el cual debe ser $\leq a 20\%$.) empleando la siguiente ecuación,

$$\% \text{ de desviación} = \left(\frac{\text{Concentración obtenida}}{\text{Concentración esperada}} \right) \times 100\%$$

g) **Estabilidad.** Se evaluó por triplicado la respuesta del analito en los estándares MCB y MCA para determinar si las muestras son estables en 5 h en el automuestreador, a 5 y 15 días a -80°C y en ciclos de congelación/descongelación. Las soluciones son consideradas estables si la desviación de la respuesta analítica promedio con respecto a la obtenida con muestras recién preparadas, no es mayor que 10%.

6.7 Análisis de las muestras de plasma de pacientes con TB.

Las muestras obtenidas con heparina procedentes de los pacientes se centrifugaron a 1300 rpm durante 20 minutos a temperatura de 4°C para la separación del plasma; éste fue transferido a microtubos para almacenarse a -80°C hasta su análisis. En las muestras de pacientes previamente descongeladas y desproteinizadas, se realizó la medición de las Cp de RMP e INH, bajo la metodología UPLC-MS/M ya implementada.

El día de las corridas analíticas de las muestras de los pacientes, se analizó una curva de calibración y los controles de calidad para confirmar la validez de los resultados. Los resultados por paciente fueron reportados en un formato que fue anexado al expediente respectivo (Anexo 10.6).

6.8 Estimación Bayesiana de parámetros farmacocinéticos individuales.

Se construyó una base de datos con formato numérico en Excel para cada uno de los antifímicos RMP e INH, incluyendo la siguiente información por paciente:

- datos antropométricos, patologías y medicación en concomitancia,
- resultados de la monitorización de Cp de RMP e INH,
- resultados de la genotipificación de los SNPs de los genes *MDR1* y *NAT2*.

Para la obtención de los parámetros farmacocinéticos por paciente a través de la estimación Bayesiana fue preciso registrar previamente en el programa NONMEM® v.7.3:

- Los modelos poblacionales de Huerta y cols. (2019) en pacientes adultos (Tabla 2.3 y Tabla 2.4) [47];
- Los modelos de Zvada y cols. (2014) (Tabla 2.5 y Tabla 2.6) y Schipani y cols. (2016) (Tabla 2.3) en pacientes niños. Nota: Los resultados de los parámetros farmacocinéticos bajo los modelos de estos autores presentaron grandes desviaciones con respecto a las referencias bibliográficas, por lo que se optó por tomar los valores medios de V y CL reportados por Schipani y cols. (2016) para acoplarlos a los modelos de Huerta y cols. (2016) [8] [9] [47].

6.9 Ajuste de dosis.

Con los parámetros farmacocinéticos estimados para RMP e INH en cada paciente, se procedió a determinar las nuevas Cp con dosis modificadas sustituyendo la dosis inicial prescrita por el nuevo régimen de dosificación sugerido. Con las nuevas Cp a diferentes tiempos se definió si éstas se situaban dentro de la ventana terapéutica de cada fármaco para el paciente en evaluación.

La modificación de dosis se realizó considerando la disponibilidad de las formas farmacéuticas combinadas de fármacos antiTB que dispone el sector salud. El ajuste de dosis de RMP e INH, se efectuó en función del contenido (mg) de cada tableta, de tal manera que, cuando era

necesario un aumento de dosis, se incrementó el número de tabletas. En caso de requerir el aumento o disminución de dosis únicamente para un fármaco, se consultó con el personal del sector salud para verificar la disponibilidad del producto monofármaco y considerar la posibilidad de proporcionarlo al paciente. Como ya se mencionó, este procedimiento se realizó con el programa NONMEM® v.7.3. Mediante un nuevo proceso de monitorización que consistió en una nueva toma de muestra sanguínea a las 2 h postdosis para realizar el seguimiento de las Cp de RMP e INH por paciente, se confirmó si la dosis ajustada logró que las nuevas Cp se ubicaran dentro del intervalo deseado para cada antifímico.

Se presentaron algunos casos específicos para los cuales, a pesar de haber realizado la simulación de ajuste de dosis para obtener Cp terapéuticas, la propuesta de dosis fue modificada por el médico.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Estudio en pacientes con TB bajo esquema TAES

Características de los pacientes. Se incluyó un total de 84 pacientes (77 adultos y 7 niños) (Tabla 7.1) con diagnóstico confirmado de TB en cualquiera de sus formas clínicas.

Tabla 7.1 Características antropométricas, clínicas y de medicación de los pacientes con TB incluidos en el protocolo.

Número de pacientes (n)	84	
Grupo etario (n)	Adultos (77)	Niños (7)
Sexo (masculino/femenino) (n)	38/39	2/5
Edad (años)	45.51 ± 17.04	10.86 ± 6.86
Peso (Kg)	60.13 ± 14.28	41.51 ± 26.45
Talla (m)	1.62 (1.55 – 1.7)	1.33 ± 0.36
IMC (Kg/m ²)	22.41 (19.39 – 25.81)	20.56 ± 5.24
Tuberculosis pulmonar (%)	36.30	0
Tuberculosis ganglionar (%)	20.77	28.57
Tuberculosis meníngea (%)	16.88	14.28
Tuberculosis peritoneal (%)	15.58	14.28
Otros tipos de Tuberculosis (%)	10.47*	42.88**
Coinfección con VIH (n)	6	1
Diabetes mellitus (n)	21	0
Insuficiencia renal (n)	6	0
Hipertensión arterial (n)	15	0
Fase intensiva (%)	67.53	57.14
Administración concomitante de Efavirenz/Tenofovir/Emtricitabina (%)	7.79	14.28
Administración concomitante de Complejo vitamínico B (%)	19.48	28.57
Administración concomitante de metformina (%)	18.18	0
<i>Los resultados se presentan como media (±DE) o mediana (rango intercuartílico) de acuerdo con la distribución de los datos.</i>		
<i>*Tuberculosis miliar, genitourinaria, vertebral, renal, cutánea, pleural y mastitis granulomatosa.</i>		
<i>**Tuberculosis cutánea, miliar, vertebral y genitourinaria.</i>		

En el caso de pacientes adultos, participaron igual número de mujeres y de hombres con una edad promedio de 45 años. González-Baltazar y cols. (2013) señalaron que la infección activa se presenta en personas de 40 años o más, para las cuales se tiene registro de 58% de

desempleo [65] a causa de esta enfermedad. En el caso de los niños, la mayoría de ellos derivaron de contacto directo con un adulto enfermo de TB. Sánchez y cols. (1998) estimaron que en el 89% de niños el contagio deriva de un familiar y en 11% se adquiere por convivencia con personas sin parentesco, pero que radican en la misma comunidad [66].

En el presente estudio, la TB pulmonar fue la más frecuente en adultos. De acuerdo a reportes epidemiológicos de la OMS, la TB pulmonar es la forma clínica más común en este grupo etario [1]. En los niños la TB ganglionar, fue la más frecuente (28.5%); en estos casos, la infección comienza como TB pulmonar asintomática, sin embargo, las micobacterias tienen la capacidad de crear lesiones localizadas y diseminarse en varias partes del organismo, entre ellos, los ganglios linfáticos [67, 68]. En un niño se presentó TB miliar y ganglionar simultáneamente.

La principal concomitancia en pacientes adultos se presentó con la DM, cuyas cifras de morbilidad se han incrementado en todo el mundo. El binomio TB-DM es una preocupación sanitaria por su potencial riesgo para desarrollar resistencia bacteriana o por causar recaídas secundarias a Cp subterapéuticas de los antifímicos; esto último debido principalmente, a la absorción gastrointestinal alterada atribuida a gastroparesis, así como a IMC > 25 kg/m² y a la presencia de dislipidemias, ya que en este tipo de pacientes se altera el Vd [49, 57, 69, 70].

Por otro lado, aunque se presentó en un número de casos menor, la asociación de la TB y la coinfección con VIH merecen especial atención por el tratamiento simultáneo de ambas patologías, ya que existe riesgo de producirse importantes interacciones medicamentosas tales como efavirenz con RMP. Las rifamicinas, entre las que figura la RMP, son potentes inductores de las enzimas CYP450; muchos fármacos contra el VIH tales como el efavirenz, son inhibidores e inductores mixtos de dichas enzimas, lo que puede alterar tanto las Cp de los retrovirales como de los antifímicos [71, 72]. En tales casos, el TDM permite verificar la idoneidad de las dosis de fármacos para la TB y el VIH desde el inicio o durante el tratamiento, con fines de evitar el desarrollo de TB o VIH resistentes [73]. Por otro lado, por efecto de la malnutrición crónica u otras comorbilidades, estos pacientes podrían presentar alteraciones en la absorción gastrointestinal de los fármacos y desarrollar complicaciones clínicas graves [58, 74].

De acuerdo con la *NOM-006-SSA2-2013 Para la prevención y control de la tuberculosis*, a todos los pacientes participantes se les administraron las dosis estándar de RMP e INH [5]. En fase intensiva, los pacientes con peso igual o mayor a 50 kg recibieron dosis de RMP de 600 mg e INH de 300 mg; los pacientes en fase de sostén recibieron dosis de 600 mg de RMP y 900 mg de INH. A los pacientes con peso menor a 50 kg se les ajustó la dosis por kg de peso, ya que de otra manera, los pacientes con desnutrición y bajo peso pueden presentar mayor riesgo de toxicidad y más efectos adversos [49]. Los pacientes con falla renal recibieron las dosis de la fase intensiva de manera intermitente, o sea, tres veces a la semana, debido al riesgo de acumulación y toxicidad de los fármacos [75]. En cuanto a los pacientes pediátricos las dosis aplicadas por decisión del médico adscrito fueron las establecidas por la OMS de 10 a 15 mg/kg de INH y de 10 a 20 mg/kg de RMP [1].

Debido a que las dosis del TAES fueron basadas en los ensayos clínicos que demostraron tasas de efectividad de 95%, este esquema fue adoptado por la OMS; sin embargo, en la práctica clínica se han reportado tasas de curación de 80%, por lo que es necesario individualizar los regímenes de dosificación a las características de los pacientes [5, 10, 76].

Genotipificación de las muestras de los pacientes. Las distribuciones fenotípicas de *NAT2* y alélicas del gen *MDR1* obtenidas en los pacientes participantes se muestran en la Tabla 7.2 y Tabla 7.3, de manera respectiva.

Tabla 7.2 Fenotipos de acetilación de la enzima *NAT2* en el grupo de pacientes con TB.

Fenotipo de acetilación de <i>NAT2</i>	Frecuencia fenotípica, n (%)	
	Adultos	Niños
Acetilador rápido	5 (6.4%)	1 (16.6%)
Acetilador intermedio	28 (36.3%)	-
Acetilador lento	44 (57.1%)	5 (83.3%)

Tabla 7.3 Resultados de genotipificación del gen *MDR1* en los pacientes con TB

Polimorfismo del gen <i>MDR1</i>	Genotipo	Frecuencia alélica, n (%)	
		Adultos	Niños
<i>MDR1 C3435T</i>	CC	25 (32.4%)	3 (50.0%)
	CT	45 (58.4%)	1 (16.6%)
	TT	7 (9.0%)	2 (33.3%)

La distribución porcentual del fenotipo de acetilación de NAT2 obtenida con los pacientes participantes se mostró acorde con los resultados reportados en 2017 por Cruz-García y cols. (2017) quienes observaron una distribución fenotípica de acetiladores de NAT2 con 51.1% lentos, 34.8% intermedios y 13.9% rápidos en población potosina [46]. En lo que respecta al gen *MDR1*, en otro grupo de pacientes potosinos con TB la mayor prevalencia se observó para el genotipo CT, para el cual se reportó una frecuencia alélica de 25% del genotipo CC, 43.1% del genotipo CT y 31.9% del genotipo TT [47]. Las diferencias encontradas en la distribución genética de *MDR1* podrían tener relación con el tamaño de muestra y el tipo de muestreo, ya que en el presente protocolo se incluyeron pacientes de diferentes estados de la República Mexicana de los cuales no se registró información acerca de su ancestría personal.

7.2 Monitorización plasmática de RMP e INH en pacientes

Validación del método analítico para cuantificar RMP e INH en plasma por UPLC-MS/MS. A continuación se muestran los resultados aceptados por la *NOM-177-SSA1-2013* para selectividad, linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud y estabilidad [64].

Selectividad. Se obtuvo una adecuada resolución de los picos correspondientes a RMP e INH y no se encontraron interferencias próximas a los tiempos de retención de cada uno de ellos, como se observa en los cromatogramas de la Figura 7.1.

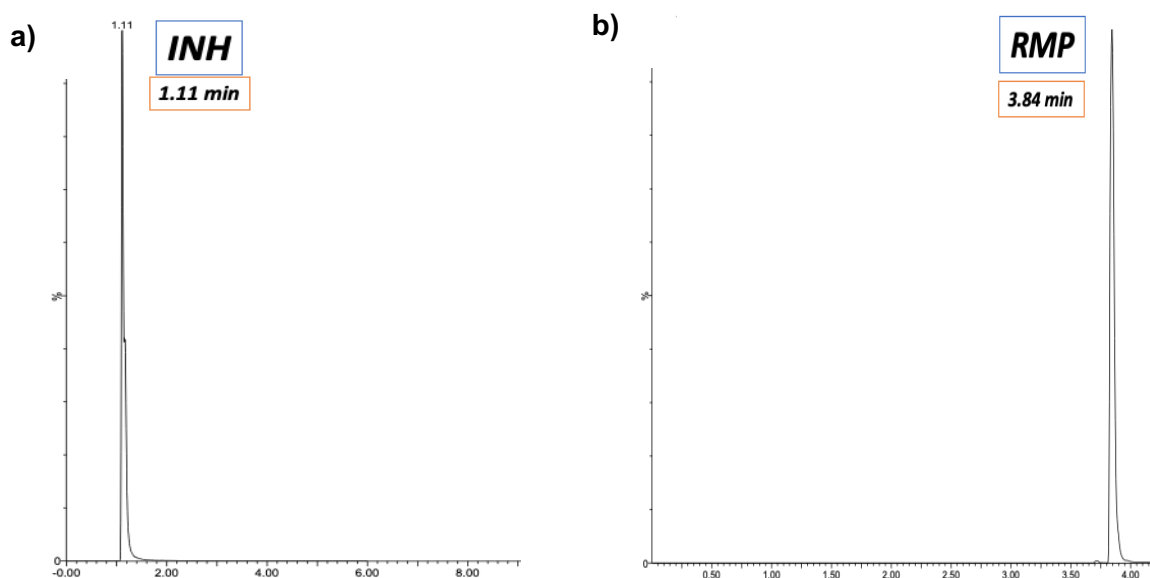


Figura 7.1 Cromatogramas obtenidos de a) INH y b) RMP.

Efecto de matriz. Los CV para el FMN, tanto para INH y RMP (Tabla 7.4) fueron menores a 15% como lo estipula la norma oficial.

Tabla 7.4 Valores medios del FMN para evaluar el efecto de matriz en los controles bajos y altos para RMP e INH.

	Muestra	Media del FMN	Desviación estándar (DE)	CV%
RMP	MCB	1.90	0.06	3.30
	MCA	1.72	0.06	3.60
INH	MCB	0.27	0.02	10.50
	MCA	0.25	0.02	8.30

Efecto de acarreo para métodos por espectrometría de masas. No se presentó efecto de acarreo de interferencias próximas a los tiempos de retención obtenidos. Los porcentajes de las respuestas de la Tabla 7.5 fueron menores a 20% para el LIC de RMP e INH.

Tabla 7.5 Valores de porcentaje de la respuesta analítica de los blancos en relación con la respuesta analítica del LIC para ambos analitos.

	% de Respuesta analítica
RMP	2.58
INH	3.53

Linealidad. El método fue lineal para RMP e INH en el intervalo de 0.7 a 25 mg/L y 0.42 a 15 mg/L, respectivamente (Figura 7.2). Las concentraciones recuperadas de RMP e INH entraron en el intervalo de 85% a 115% como está establecido en la NOM-177-SSA1-2013, siendo de 99.7% y 99.1%, respectivamente [64].

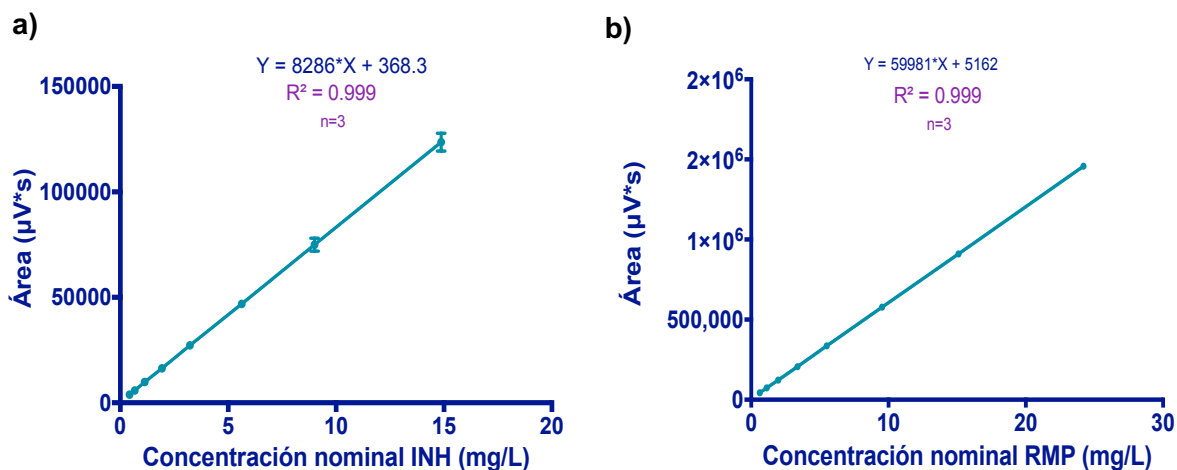


Figura 7.2 Linealidad del método para a) RMP y b) INH.

Precisión y exactitud. El método analítico fue preciso con CV menores a 15% en los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad (Tabla 7.6). Se corroboró la exactitud para ambos analitos al mostrar porcentajes de desviación inferiores a 15%.

Tabla 7.6 Evaluación de repetibilidad, reproducibilidad y exactitud de RMP e INH en plasma.

Muestra control	Concentración nominal (mg/L)	Repetibilidad (n=5)			Reproducibilidad (n=15)			Exactitud
		Media (mg/L)	DE (mg/L)	CV (%)	Media (mg/L)	DE (mg/L)	CV (%)	% de Desviación
RMP								
LIC	0.7	0.62	0.04	7.21	0.64	0.07	11.11	11.43
MCB	2	2.24	0.05	2.45	2.29	0.07	3.12	-14.00
MCM	6	6.74	0.09	1.33	6.58	0.20	3.12	-10.33
MCA	20	20.72	0.34	1.65	20.43	0.59	2.85	-2.53
INH								
LIC	0.42	0.42	0.04	10.65	0.43	0.03	7.52	-1.19
MCB	1	0.88	0.08	9.51	0.90	0.06	6.81	10.50
MCM	4	3.54	0.36	10.11	3.84	0.18	4.88	5.88
MCA	12	10.16	0.51	5.05	11.06	0.44	4.08	9.71

Estabilidad. RMP e INH mostraron ser estables en plasma hasta 15 días a -80°C al obtener CV menores a 15%, y porcentajes de concentración recuperada entre 85 a 115% (Tabla 7.7).

Tabla 7.7 Estabilidad de RMP e INH en plasma a diferentes tiempos.

Concentración nominal (mg/L)	Media de concentración observada (mg/L)	DE (mg/L)	CV (%)	Concentración recuperada (%)
RMP				
Automuestreador (5h)				
2	2.30	0.10	4.35	115.00
20	20.43	0.45	2.21	102.17
A corto plazo a -80°C (5 días)				
2	2.23	0.06	2.59	111.67
20	20.77	0.40	1.95	103.83
A largo plazo a -80°C (15 días)				
2	2.30	0.10	4.35	115.00
20	21.27	0.76	3.59	106.33
Ciclos de congelación-descongelación				
2	2.30	0.10	4.35	115.00
20	21.27	0.76	3.59	106.33
INH				
Automuestreador (5h)				
1	0.90	0.10	11.11	90.00
12	10.73	1.10	10.22	89.44
Corto plazo a -80°C (5 días)				
1	0.90	0.10	11.11	90.00
12	10.20	0.72	7.07	85.00
Largo plazo a -80°C (15 días)				
1	0.90	0.00	0.00	90.00
12	11.13	0.76	6.86	92.78
Ciclos de congelación-descongelación				
1	0.90	0.00	0.00	90.00
12	11.13	0.76	6.86	92.78

El método analítico por UPLC-MS/MS mostró validez estadística al cumplirse los requerimientos establecidos por la normativa vigente para la cuantificación de RMP e INH en muestras de plasma procedentes de pacientes niños y adultos con TB [5].

Resultados del análisis de las muestras plasmáticas de los pacientes. Los resultados de la monitorización de Cp de INH y RMP por paciente fueron reportados al médico y anexados al expediente clínico (Anexo 10.6). En los casos de pacientes con Cp subterapéuticas o tóxicas se comunicó al médico la necesidad de realizar el ajuste de dosis.

En la Figura 7.3 se describe la totalidad de pacientes incluidos (adultos y niños) así como el número y porcentaje que mostraron niveles plasmáticos dentro y fuera de intervalo terapéutico de cada uno de los antifímicos. El esquema de muestreo del protocolo (2 y 4 h) fue planeado para aproximarse a identificar el $C_{máx}$ en la etapa de absorción de ambos fármacos, sin embargo, la muestra de las 4 h no fue posible conseguirla para todos los pacientes.

Del total de 84 pacientes, 25% (21 pacientes: 18 adultos y 3 niños) presentaron Cp dentro del intervalo de referencia para RMP e INH y no se incluyeron en el proceso de ajuste de dosis por indicaciones médicas, no obstante, se determinaron los parámetros farmacocinéticos por método Bayesiano para dichos pacientes (datos mostrados en el apartado 7.3).

El 75% de los pacientes registraron niveles plasmáticos fuera del intervalo requerido; 90.5% de estos pacientes mostraron Cp subterapéuticas y en el resto se observaron Cp supraterapéuticas de uno o ambos antifímicos. De los pacientes con Cp subterapéuticas, 33.3% (28 pacientes) correspondieron a ambos antiTB, 40.5% (34 pacientes) para INH y sólo 1.2% (1 paciente) para RMP. Únicamente se identificaron a 18 pacientes adultos (21.4%) con Cp abajo del intervalo terapéutico de uno o ambos antifímicos, los cuales continuaron el protocolo para el ajuste de dosis, ya que éstos tenían una evolución clínica no adecuada.

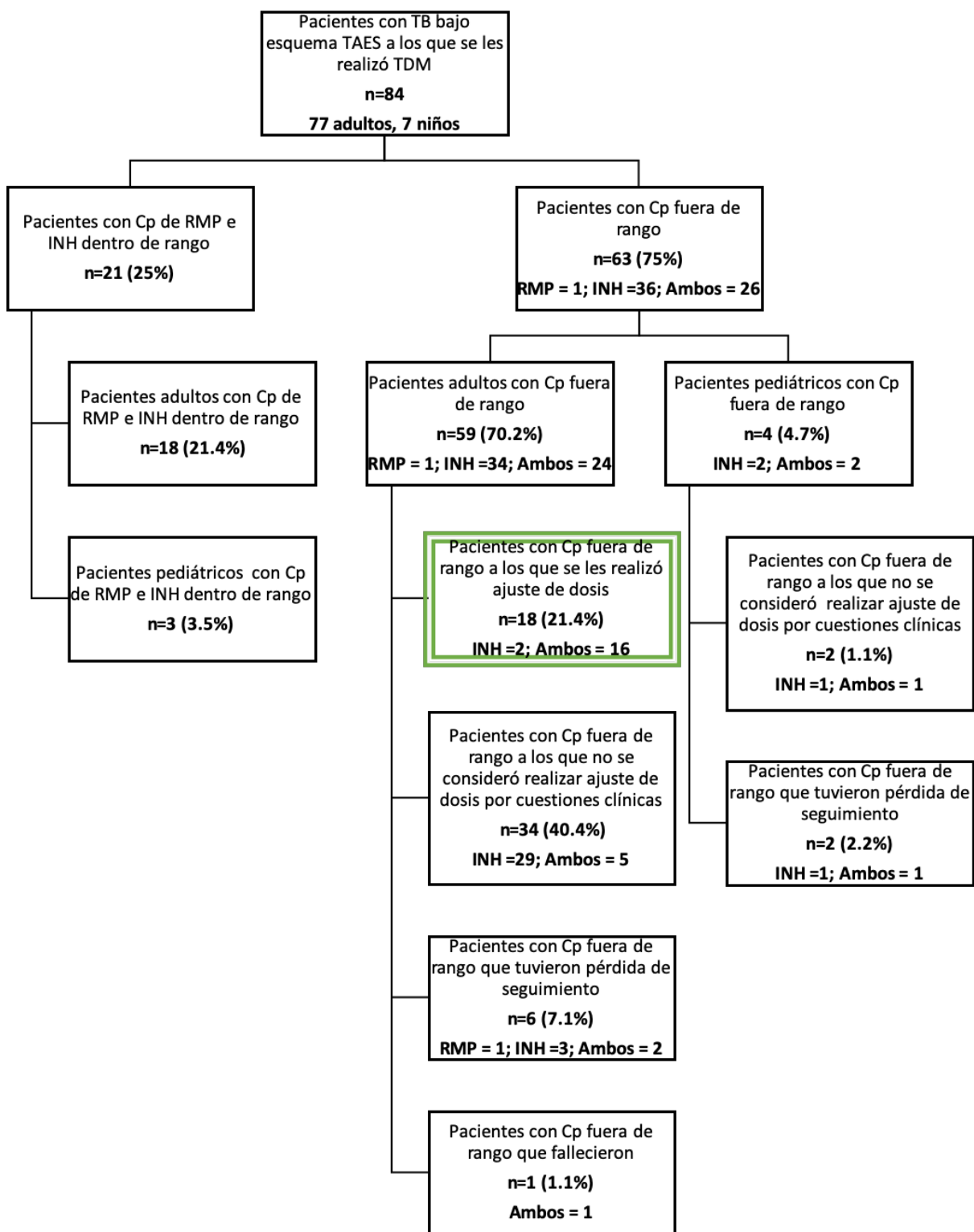


Figura 7.3 Esquema de los pacientes con TB incluidos en el protocolo.

Por indicaciones del médico adscrito, se prescindió del proceso de ajuste de dosificación en el 48.6% de pacientes adultos que presentó respuesta clínica adecuada a pesar de registrar Cp subterapéuticas; entre éstos se incluyeron a los pacientes en los que se identificó falta de adherencia al tratamiento, cambio de domicilio o fallecimiento.

Adicionalmente, se encontró que, de los 4 niños con TB extrapulmonar, 2 registraron niveles subterapéuticos para ambos antifímicos y 2 tuvieron valores inferiores al intervalo de referencia únicamente de INH. Por decisión médica a ninguno de estos pacientes pediátricos se les continuó la monitorización farmacocinética ya que únicamente para ellos se optó por continuar la administración habitual del TAES y mantenerlos en supervisión clínica.

La decisión médica de no continuar con la monitorización farmacocinética en los pacientes que mostraron una evolución clínica favorable, a pesar de presentar Cp subterapéuticas para RMP e INH, es controversial. Está documentado que los pacientes en tales circunstancias pueden ser candidatos a desarrollar TB-MDR, así como recaídas por reinfección en el corto o mediano plazo, por lo que, ante estos riesgos, es ampliamente recomendado continuar con la evaluación clínica al terminar el tratamiento [7, 10, 15].

Durante el proceso de monitorización de ambos antiTB en adultos, se obtuvo un total de 144 Cp de RMP en ambas fases del TAES, 89 Cp de INH en fase intensiva y 46 Cp de INH en fase de sostén (Figura 7.4). En cuanto a los pacientes pediátricos, se contó con un total de 9 Cp de RMP, 5 Cp de INH en fase intensiva y 4 Cp en fase de sostén (Figura 7.5).

En la Figura 7.4 puede observarse que a las 2 y 4 h en el 60% de los adultos se registraron Cp por fuera del rango terapéutico para RMP e INH, y en casos particulares, solamente en uno de los dos antibióticos. Como ya se comentó, varios autores han registrado elevado porcentaje de Cp subterapéuticas tanto de RMP como de INH, aspecto que los coloca en riesgo de desarrollar multirresistencia y conducir al fracaso del tratamiento o de recaer con TB en el corto o mediano plazo [10, 15, 16, 47]. En un estudio previo en pacientes potosinos adultos con TB, el 33.3% presentó Cp subterapéuticas de RMP y el 48% Cp de INH por debajo del rango terapéutico [47]. Otros estudios en población americana determinaron que 52% de los pacientes no mostraron evolución clínica favorable y tenían Cp inferiores al intervalo terapéutico de RMP y 59% para INH a las 2 h post-dosis [14]. Debido a la vulnerabilidad de comprometer el efecto bactericida de RMP e INH con cifras menores a las terapéuticas, en

diversos estudios clínicos se ha puntualizado la necesidad de someter a TDM a este tipo de pacientes [47, 73].

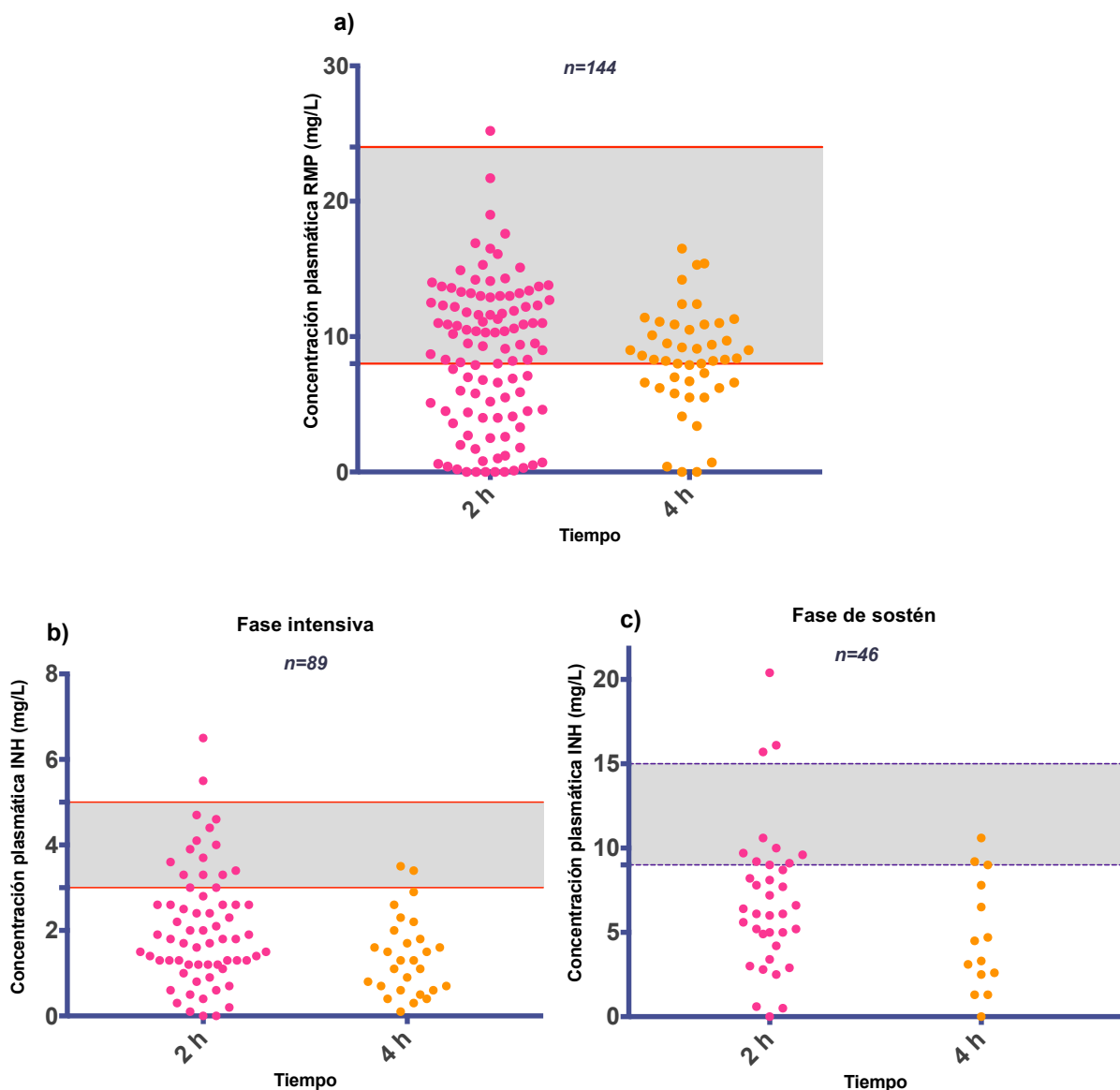


Figura 7.4 Cp vs tiempo en 77 pacientes adultos con TAES. a) RMP en fase intensiva y de sostén; b) INH en fase intensiva; c) INH en fase de sostén.

Como se mencionó con anterioridad, los SNPs del gen *MDR1*, así como del gen que codifica la enzima NAT2 permiten explicar parte de la variabilidad encontrada en los niveles plasmáticos de RMP e INH, respectivamente. En el caso del gen *MDR1*, hay reportes previos que indican que los pacientes con el genotipo CC, al tener una expresión aumentada del

transportador de eflujo PGP, tienen mayor probabilidad de presentar niveles plasmáticos subterapéuticos para RMP desde el inicio del tratamiento, al contrario de lo que sucede con los pacientes de genotipo TT [48]. En el presente estudio, los pacientes con genotipo CC, CT y TT registraron cifras subterapéuticas de RMP en 40, 32 y 57%, respectivamente. Tal como se describió, el genotipo CC predispone a mayor riesgo de fracaso terapéutico secundario a Cp subterapéuticas; sin embargo, en el grupo de pacientes incluido en este estudio, no se observó esta tendencia.

En el caso de INH, los pacientes que presentaron Cp subterapéuticas fueron el 100% de los pacientes acetiladores rápidos, 96% de los pacientes con acetilación intermedia y 59% de los acetiladores lentos. Solamente 10% de los pacientes con este último fenotipo de acetilación mostró Cp por encima del margen establecido, lo que supondría mayor riesgo de toxicidad. Los pacientes con fenotipo acetilador rápido NAT2 pueden incrementar el riesgo de fracaso terapéutico debido a las bajas Cp originadas como producto del rápido metabolismo del fármaco [44, 46]. Por otro lado, se considera que los acetiladores lentos son más susceptibles de presentar elevada hepatotoxicidad inducida por este fármaco debido a las altas Cp que presenta este fenotipo en comparación con los acetiladores rápidos [44].

En cuanto a la monitorización plasmática realizada en los pacientes pediátricos (Figura 7.5), 3 de ellos presentaron Cp de RMP por debajo de margen terapéutico; para INH en fase intensiva únicamente 1 paciente registró Cp adecuadas, pero ninguno de los pacientes en fase de sostén presentó Cp terapéuticas del fármaco. Los resultados anteriores reiteran el hecho que las dosis estándares establecidas por la OMS para los niños pueden derivar en Cp subóptimas y conducir a una exposición inadecuada para el efecto bactericida deseado, lo que ocasionaría situaciones de evolución clínica tardía o no exitosa [13].

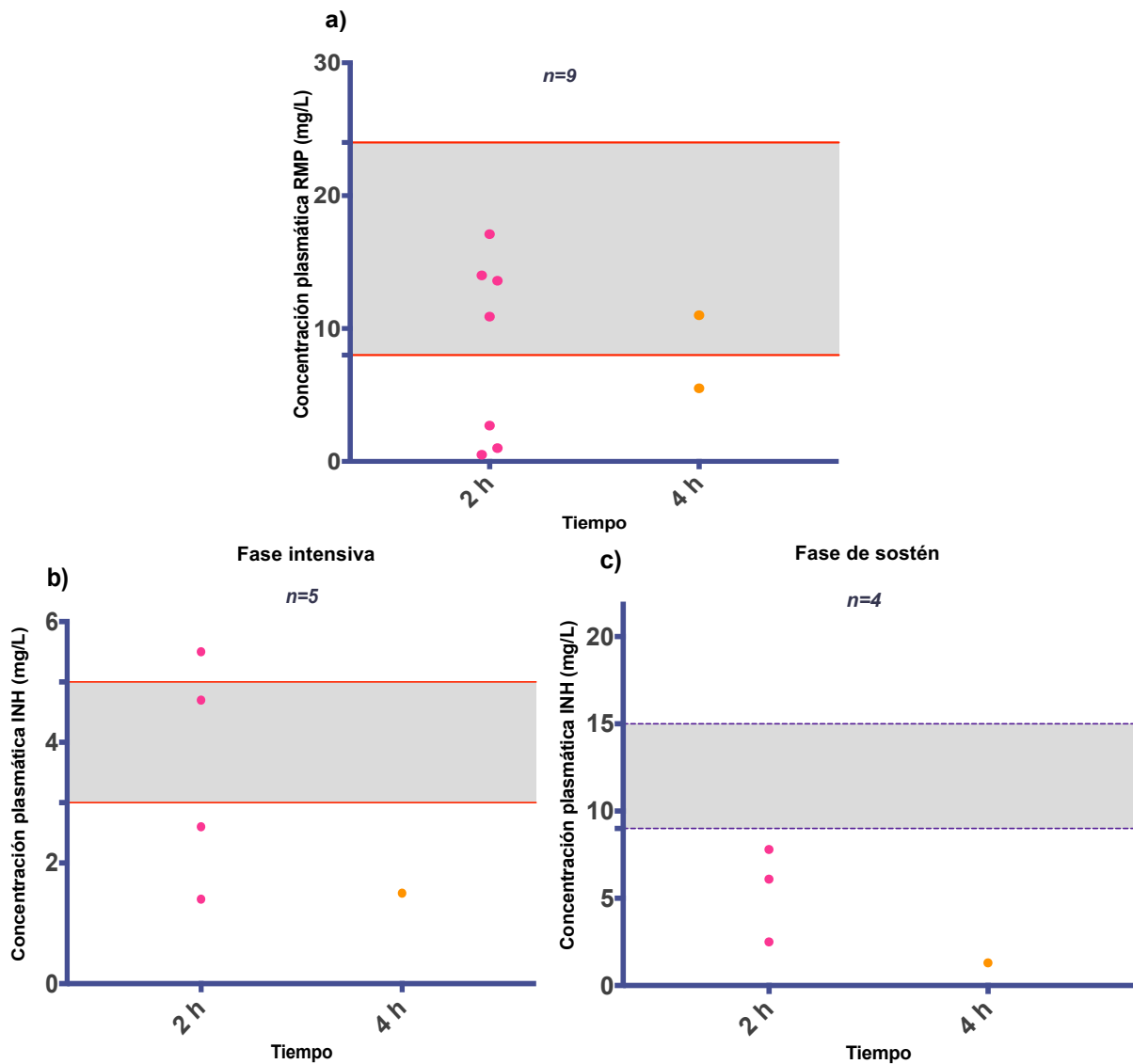


Figura 7.5 Cp vs tiempo en 7 pacientes pediátricos con TAES. a) RMP en fase intensiva y de sostén; b) INH en fase intensiva; c) INH en fase de sostén.

Al igual que en los adultos, en los niños se ha considerado la importancia de determinar el fenotipo de acetilación de NAT2 para la individualización de dosis con fines de ofrecer resultados más exitosos de la terapia con INH. Zvada y cols. (2014) encontraron que la exposición a este fármaco fue inadecuada en 61% de los niños (acetiladores rápidos e intermedios) que recibían las dosis establecidas por la OMS ya que presentaron Cp por debajo de rango en INH [8]. De igual manera, Aruldhass y cols. (2019) refirieron que 59% de sus pacientes pediátricos presentaron Cp subterapéuticas de INH con la pauta de 10 mg/kg

recomendada por la OMS; en cuanto a RMP solo 29% de los pacientes alcanzaron Cp óptimas con dosis de 15 mg/kg [7].

En el presente estudio, no se encontró correspondencia entre los niveles plasmáticos para RMP e INH a las 2 h en cada paciente y su respectivo genotipo *MDR1* y fenotipo acetilador *NAT2*, situación que se atribuye a la limitada cantidad de muestras sanguíneas. Una correspondencia entre Cp y genotipo o fenotipo, sería más evidente a través de un extenso muestreo en el que se disponga de los perfiles farmacocinéticos completos para caracterizar adecuadamente la fase de absorción y de eliminación, $C_{m\acute{a}x}$ y T_{max} para cada antifímico [47, 48]. A pesar de esta limitación, es importante disponer de los resultados de genotipificación para tener descrito el perfil farmacocinético-farmacogenético de cada paciente.

7.3 Estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales de RMP e INH.

Con base a las Cp resultantes de la monitorización de INH y RMP y tomando como referencia los modelos farmacocinéticos poblacionales previamente descritos para el grupo etario al que correspondía cada participante, se realizó la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales (V , CL y K_a) en los 84 pacientes participantes. Adicionalmente, se realizó una estimación *a priori* la cual no considera las Cp cuantificadas, y en su lugar, solamente requiere la dosis y las covariables incluidas en cada modelo [9, 77].

Para pacientes adultos, la estimación Bayesiana consideró los modelos mexicanos de Huerta y cols. (2016) [47], así como de otros autores (Tabla 2.3 y Tabla 2.4). Una vez realizadas las estimaciones *a priori* y Bayesiana, se comparó la capacidad predictiva de cada modelo con base a las Cp observadas y predichas para RMP e INH, mediante la determinación el error medio de predicción (EMP) y el error de predicción absoluto (EPA) [78] (Figura 7.6 y Figura 7.7).

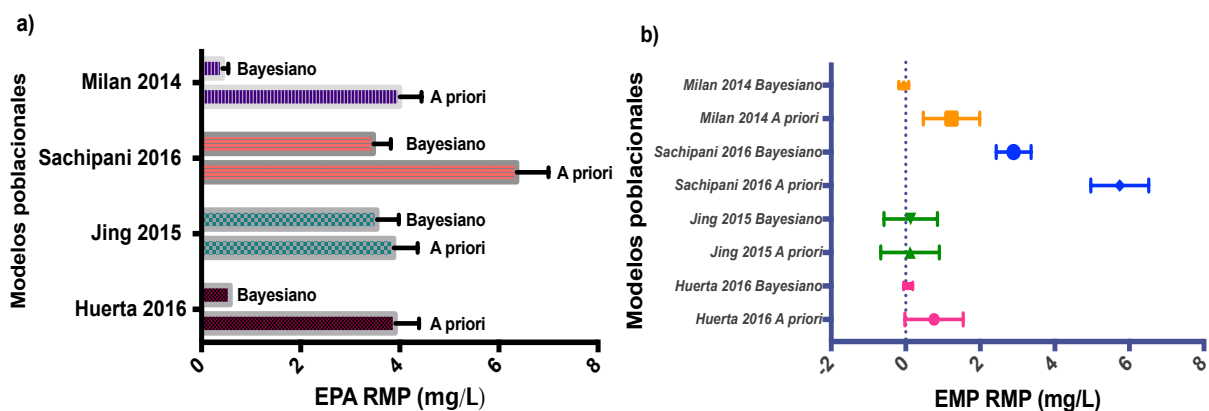


Figura 7.6 a) Error de predicción absoluto (EPA) de las Cp de RMP, b) Error medio de predicción (EMP) de las Cp de RMP.

En general, se observó que la capacidad predictiva de los modelos poblacionales en pacientes potosinos mejoró considerablemente las Cp de ambos antifímicos a través de la estimación Bayesiana. Además, los residuales EMP de RMP se mostraron igualmente distribuidos alrededor de la línea cero cuando se utilizaron los modelos desarrollados en población mexicana. Sin embargo, en el caso de INH, el modelo farmacocinético de Wilkins y cols. (2011), superó al de Huerta y cols. (2016) al reducir ambos errores bajo el método Bayesiano.

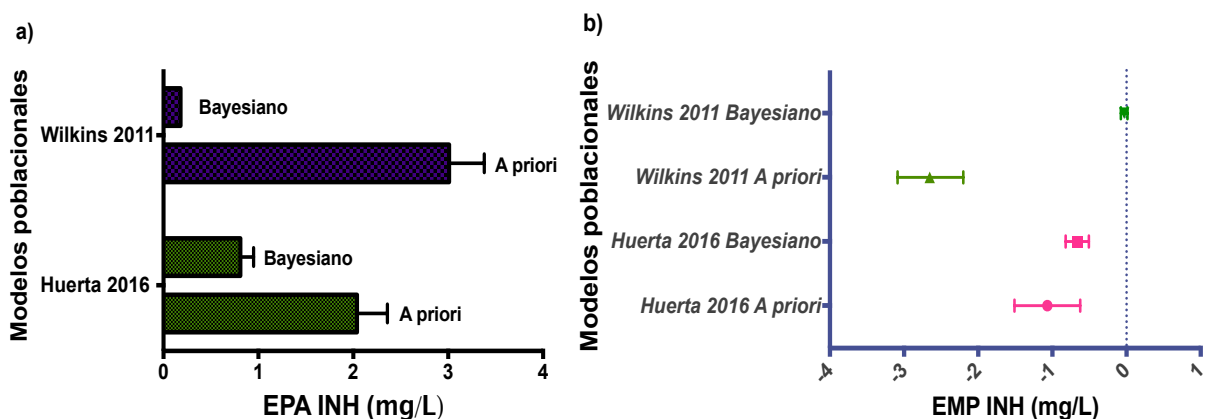


Figura 7.7 a) Error de predicción absoluto (EPA) de las Cp de INH, b) Error medio de predicción (EMP) de predicción de las Cp de INH.

Como resultado de las comparaciones anteriores, se decidió que los modelos poblacionales de INH y RMP construidos por Huerta y cols. (2016) al proceder de datos en pacientes

mexicanos con TB fueron los seleccionados para la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos individuales y sus correspondientes valores de $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$ (Tabla 7.8).

Para los valores estimados de $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$ en adultos se obtuvieron resultados similares a los reportados en la bibliografía, ya que se esperaban $C_{m\acute{a}x}$ de 3 a 6 mg/L para INH en fase intensiva y de 8 a 24 mg/L para RMP, además de $T_{m\acute{a}x}$ de 0.75 a 2 h y de 2 h, respectivamente [10].

Se observó notable similitud en los valores estimados para $C_{m\acute{a}x}$ de RMP con los diferentes genotipos del gen *MDR1* evaluados en el presente estudio. Sin embargo, lejos de considerar que no hay influencia de este factor genético sobre el $C_{m\acute{a}x}$, es posible que, como se mencionó, esos resultados se deban al limitado número de tiempos de muestreo para su adecuada estimación (1 o 2 muestras por paciente), ya que de otra manera, al aumentar el muestreo se podrían distinguir diferentes perfiles y velocidades de absorción de este antifímico [18]. Por otro lado, los valores de V , CL y K_a de RMP fueron muy cercanos a los parámetros poblacionales del modelo ya señalado (Tabla 2.4). En general, puede considerarse que la estimación de estos parámetros fue adecuada para los fines del ajuste de dosis.

Tabla 7.8 Parámetros farmacocinéticos de RMP e INH estimados por método Bayesiano con el software NONMEM® en 77 pacientes adultos con TB.

Parámetros farmacocinéticos de RMP			Parámetros farmacocinéticos de INH	
$C_{m\acute{a}x}$ (mg/L)	<i>MDR1</i> CC	9.0 (7.5 – 11.6)	$C_{m\acute{a}x}$ (mg/L)	4.2 (2.9-8.2)
	<i>MDR1</i> CT	10.83 (7.79 – 12.9)		
	<i>MDR1</i> TT	10.68 (6.74 – 10.94)		
$T_{m\acute{a}x}$ (h)		2.5 (2 – 4)	$T_{m\acute{a}x}$ (h)	1 (0.66 – 1)
CL (L/h)	5.69 (4.85 – 6.02)		$CL_{acet. lentos}$ (L/h)	11.5 ± 1.19
			$CL_{acet. intermedios}$ (L/h)	18.28 ± 3.34
			$CL_{acet. rápidos}$ (L/h)	31.86 ± 1.30
V (L)	34.25 (29.2 – 42.71)		V (L)	64.58 (49.8 – 95.49)
V/kg (L)	0.62 (0.49 – 0.73)		V/kg (L)	1.18 (0.93 – 1.36)
K_a (h ⁻¹)	1.61 (0.81 – 2.29)		K_a (h ⁻¹)	3.53 (3.11 – 3.86)
<p>$C_{m\acute{a}x}$ = Concentración máxima; $T_{m\acute{a}x}$ = Tiempo de $C_{m\acute{a}x}$; $CL_{acet. lentos}$ = Aclaramiento en acetiladores lentos; $CL_{acet. intermedios}$ = Aclaramiento en acetiladores intermedios; $CL_{acet. rápidos}$ = Aclaramiento en acetiladores rápidos; V = Volumen de distribución total; V/kg = Volumen de distribución total en relación al peso corporal;</p> <p>K_a = constante de absorción. *Los resultados se presentan como media ($\pm DE$) o mediana (rango intercuartílico) de acuerdo con la distribución de los datos.</p>				

En el caso de INH los valores de V , CL y K_a también se mostraron acordes con el modelo farmacocinético poblacional elaborado por Huerta y cols. (2016) (Tabla 2.3) [47]. Es evidente que el CL mostró diferentes valores en función del fenotipo de NAT2, de manera que, para pacientes de acetilación lenta el valor representó la tercera parte de los acetiladores rápidos. Este es un aspecto de suma relevancia para la modificación de dosis pues el fenotipo de acetilación mantiene clara influencia sobre este parámetro de eliminación.

Para la estimación de los parámetros farmacocinéticos en niños, se ensayó con los modelos poblacionales de Zvada y cols. (2014) y de Schipani y cols. (2016) (Tabla 2.4, Tabla 2.5 y Tabla 2.6). Sin embargo, la aplicación del modelo de Zvada y cols. (2014), estuvo supeditada a contar con datos relacionados con la madurez fisiológica del paciente y otros que se alejan del interés clínico, información de la cual no se disponían para los pacientes participantes. Por otro lado, aunque el modelo de Schipani y cols. (2016) (Tabla 2.4) fue construido con datos de niños y adultos, éste presentó la limitante de estimar el V_d en los infantes como una función alométrica extrapolada del peso medio de un adulto estándar (70 kg) [8] [9]. A pesar de las limitaciones señaladas, ambos modelos fueron evaluados en el presente estudio para la estimación Bayesiana; no obstante, los resultados generados (datos no mostrados) estuvieron discordantes con la farmacocinética ya reportada para ambos fármacos. Lo anterior pone de manifiesto la necesidad de contar con modelos farmacocinéticos que describan el comportamiento de RMP e INH en niños mexicanos para su aplicación en la monitorización clínica y el ajuste de dosis en éstos. En su defecto, se optó por integrar los modelos poblacionales desarrollados en adultos por Huerta y cols. (2016) con los parámetros farmacocinéticos estimados en población pediátrica por Schipani y cols. (2016). Los resultados de la estimación Bayesiana de los parámetros individuales en pacientes pediátricos se muestran en la Tabla 7.9.

Para RMP el valor de $C_{m\acute{a}x}$ promedio, se ubicó por debajo del intervalo terapéutico, lo cual podría implicar la subestimación de las C_p mediante el modelo, con el riesgo de sugerir dosis mayores a las requeridas para cada paciente. El $T_{m\acute{a}x}$ mostró un valor acorde al modelaje en población mexicana adulta [47]. En cuanto a INH, su CL fue muy similar para los adultos acetiladores lentos. Desafortunadamente, en ausencia de niños con fenotipo de acetilación intermedia y sólo uno de acetilación rápida, no fue posible estratificar el CL en función de este factor genético. El valor de $C_{m\acute{a}x}$ de INH se encontró por encima de rango terapéutico lo cual sobre-estimaría las C_p para las que se requieren dosis más altas que las necesarias para cada

paciente. En consecuencia, se decidió por no aplicar ningún modelo poblacional debido a la falta de información para la estimación de parámetros farmacocinéticos de RMP e INH en niños con TB. Por su parte el médico continuó con el procedimiento habitual de dar seguimiento clínico a estos pacientes pediátricos.

Tabla 7.9 Parámetros farmacocinéticos de RMP e INH obtenidos por estimación Bayesiana con el software NONMEM® en 7 pacientes pediátricos con TB.

Parametros Farmacocinéticos de RMP		Parametros Farmacocinéticos de INH	
C_{máx} (mg/L)	7.69 ± 5.81	C_{máx} (mg/L)	7.91 (6.11 - 9.82)
T_{máx} (h)	2.71 ± 1.72	T_{máx} (h)	0.66 (0.66 - 1)
CL (L/h)	9.65 (8.87 - 30.93)	CL (L/h)	11.87 (11.34 - 13.09)
V (L)	23.2 (9.96 - 95.9)	V (L)	43.81 ± 28.04
V/kg (L)	0.91 ± 0.38	V/kg (L)	0.805 (0.59 - 1.25)
K_a (h⁻¹)	2.05 (0.16 - 8.69)	K_a (h⁻¹)	3.58 ± 0.75
<p>C_{máx} = Concentración máxima; T_{máx} = Tiempo de C_{máx}; CL_{acet. lentos} = Aclaramiento en acetiladores lentos; CL_{acet. intermedios} = Aclaramiento en acetiladores intermedios; CL_{acet. rápidos} = Aclaramiento en acetiladores rápidos; V = Volumen de distribución total; V/kg = Volumen de distribución total en relación al peso corporal;</p> <p>K_a = constante de absorción. *Los resultados se presentan como media (±DE) o mediana (rango intercuartílico) de acuerdo con la distribución de los datos.</p>			

7.4 Ajustes de dosificación.

Se incluyeron a 18 pacientes adultos con C_p subterapéuticas en fase intensiva; 16 de ellos requirieron modificación para RMP e INH y 2 únicamente de INH.

Para cada paciente que requirió cambio en la dosificación de RMP o INH, se estimaron las C_p predichas con nuevas dosis empleando los parámetros farmacocinéticos ajustados por el método Bayesiano. Las dosis evaluadas estuvieron en función de las cantidades de fármacos antiTB en las presentaciones farmacéuticas disponibles para el sector salud (DoTBal, que contiene 75 mg de INH, 150 mg de RMP, 400 mg de PZA y 300 mg ETM por tableta o DoTBal-S, que tiene 400 mg de INH y 300 mg de RMP en cada tableta); además, se consideró el posible acceso a presentaciones monofármaco de INH, sin embargo, esto último fue muy difícil de lograr ya que su disponibilidad fue escasa. Al respecto, diversos autores han puntualizado la necesidad de elaborar formas farmacéuticas individuales de los antiTB, además de contar con presentaciones especiales para pacientes pediátricos o geriátricos, o para pacientes que presentan dificultad de deglución o cursan con cuadros clínicos complicados [8, 79].

En la Tabla 7.10, se muestra cada paciente con su dosis inicial y los resultados obtenidos en la primera monitorización; además se indica la dosis ajustada y administrada, así como las Cp predichas con la modificación de dosis. Es importante aclarar que estos resultados se obtuvieron atendiendo fundamentalmente a los criterios farmacocinéticos y a la información genética y clínica que cada modelo poblacional requería. Algunos casos fueron comentados con el médico ya que son candidatos para un seguimiento más estrecho por la dificultad que representó ajustar sus Cp en el intervalo terapéutico para uno u otro antifímico; para ellos se destaca información clínica relevante a considerar para subsecuentes mediciones de Cp y ajustes de dosis.

Precisamente, en vista de que cada paciente constituye un caso clínico específico que amerita análisis y discusión particulares, sólo se presentan algunas generalidades y puntualizaciones acerca de los resultados obtenidos. El ejemplo de un caso clínico se presente en el Anexo 10.7.

Debido a que todo proceso de ajuste de dosis está supeditado a la aceptación o modificación del médico de acuerdo a su criterio clínico, se presentaron casos particulares entre los que destacaron los siguientes:

- La dosis propuesta no se administró en su totalidad y en su lugar, sólo se aplicó un incremento parcial de RMP para los pacientes A y B; y de INH para el paciente I.
- La transición de fase intensiva a fase de sostén se realizó *de facto* a los pacientes C, H y J al haber cumplido con el número de dosis que marca el esquema TAES.
- El aumento de dosis en el paciente Ñ se restringió a 900 mg por ser ésta la dosis máxima empleada en la clínica.
- Para disminuir la aparición repentina de eventos adversos, los incrementos de dosis se realizaron de manera paulatina: 1 tableta primero y después la(s) otra(s) tabletas.

En cada caso clínico, se estimaron con el NONMEM v7.3 las Cp predichas empleando las dosis autorizadas por el médico. Después de iniciado el nuevo régimen de dosificación fue necesario corroborar si, a través de la estrategia, las Cp alcanzaron cifras terapéuticas. Para ello se realizó una segunda monitorización a las 2 semanas del nuevo tratamiento.

Para el caso de RMP, 25% de los pacientes (4 personas) mantuvieron su dosis inicial, mientras que 56.25% (9 pacientes) recibió el incremento de una dosis (1 tableta de 150 mg de DoTBal) y el 18.75% restante (3 pacientes) ameritó 300 mg adicionales (2 tabletas de 150 mg de DoTBal cada uno).

Con este esquema de modificación de dosis, el 87.5% (13 pacientes) de las Cp predichas de RMP fueron estimadas para ubicarse en el intervalo de 8 a 24 mg/L. El resto correspondió a casos particulares ya señalados cuya dosis fue decidida por el médico. En cuando a las Cp medidas en la segunda monitorización, en el 81.25% se logró el objetivo al conseguir cifras en el intervalo de referencia. En los pacientes B, C, G, H e I se obtuvieron Cp terapéuticas con los criterios que el médico aplicó para su dosificación. Sólo 3 casos (18.75%) no mostraron Cp terapéuticas: los pacientes A y N mantuvieron Cp debajo de intervalo y el paciente F se excedió a 25.2 mg/L; en estos casos específicos se comunicó al médico la necesidad de aplicar subsecuentes ajustes y monitorizaciones.

En lo que corresponde a INH, el 100% (18 pacientes) requirió modificación de dosis: 27.7% (5 pacientes) necesitaron 75 mg adicionales (1 tableta de DoTBal); 27.7% (5 pacientes) fueron prescritos con incremento de 100 mg (1 tableta de INH), 16.7% (3 pacientes) incrementaron a 400 mg (1 tableta de DoTBal-S) y 27.7% (5 pacientes) fueron transferidos a fase de sostén sustituyendo la dosis de fase intensiva por 800 mg (2 tabletas de DoTBal-S de 400 mg c/u), o 900 mg (2 tabletas de DoTBal-S de 400 mg c/u y 1 tableta de 100 mg de INH).

Las modificaciones de INH fueron adecuadas para que 66.7% (12 pacientes) consiguieran Cp en intervalo terapéutico, sin embargo, en la segunda monitorización, sólo en 61% (11 pacientes) se logró la predicción deseada. Por el contrario, 7 pacientes (A, B, C, H, I, J, K), no lograron registrar Cp terapéuticas. El paciente A registró Cp alrededor de 7 veces mayores a las previstas, en tanto que el paciente K obtuvo sólo la mitad de la Cp prevista. Los pacientes B, C, H, I, y K presentaron niveles debajo del intervalo necesario para la fase de sostén (9 a 15 mg/L), mientras que el participante J superó dichos valores de referencia. Con excepción de los pacientes A y K, los demás pacientes B, C, H, I y J mostraron niveles acordes a lo previsto (sub o subterapéuticas) con la dosis indicada por el médico.

Tabla 7.10 Cp de RMP e INH obtenidas por monitorización y predichas mediante estimación Bayesiana (NONMEM®) en pacientes adultos con TB

<i>RMP</i>								
<i>Paciente</i>	Peso corporal total	Genotipo de MDR1	Dosis inicial (mg)	Cp observada monitorización inicial (mg/L)	Dosis ajustada (mg)	Cp predicha ± 20% (mg/L)	Cp observada 2ª. monitorización (mg/L)	Observaciones
A	58	CT	300	1.2	450	5.6 ± 1.12	7	IR
B	55	CT	300	0	450	5.2 ± 1.04	13	Comedicación: levofloxacino, escitalopram, prednisona, ondasetrón y omeprazol.
C	48	TT	600	14	600*	14.7 ± 2.94	14	VIH
D	52	CC	600	4.5	600*	8.3 ± 1.66	13.8	Evolución clínica favorable.
E	55	TT	600	0.4	900	9.8 ± 1.96	11.6	Evolución clínica favorable.
F	55	CC	450	11.3	600	14.8 ± 2.96	25.2	Aumento de Cr sérica durante el tratamiento.
G	47	TT	450	4.1	600	12.3 ± 2.46	12.2	Evolución clínica favorable.
H	51	CT	600	14.3	600*	13.7 ± 2.74	12.5	Evolución clínica favorable.
I	53	CT	450	8.7	600	11.2 ± 2.24	13.2	IR y medicación: prednisona, tacrolimus y calcitriol.
J	50	CT	450	15.1	600*	18.5 ± 3.7	16.9	IR en remisión y medicación: ciclosporina, ácido micofenólico, prednisona y omeprazol.
K	67	CT	600	3.6	600*	12.7 ± 2.54	16.1	Evolución clínica favorable.
L	49	CT	450	9.4	600	11.9 ± 2.38	9.1	Evolución clínica favorable.
N	76.5	CT	600	1.7	900	9.0 ± 1.8	6	Diabetes mellitus.
Ñ	64	CC	600	0	900	7.2 ± 1.44	8.3	Evolución clínica favorable.
O	80	CC	600	7.6	750	9.4 ± 1.88	9	Evolución clínica favorable.
Q	74	CT	600	13	750	16.9 ± 3.38	10.9	Evolución clínica favorable.

**Cambio de fase intensiva a fase de sostén. IR: Insuficiencia renal.*

INH								
Paciente	Peso corporal total	Fenotipo de acetilación de NAT2	Dosis inicial (mg)	Cp observada monitorización inicial (mg/L)	Dosis ajustada (mg)	Cp predicha ± 20% (mg/L)	Cp observada 2ª. monitorización (mg/L)	Observaciones
A	58	Intermedio	150	0.6	225	2.3 ± 0.46	17.5	IR
B	55	Intermedio	150	0.5	225	1.2 ± 0.24	1.5	Comedicación con levofloxacin, escitalopram, prednisona, ondasetrón y omeprazol.
C	48	Lento	400	4.7	800*	21.8 ± 4.36	19.8	VIH.
D	52	Lento	300	1.9	800*	10.3 ± 2.06	10	Evolución clínica favorable.
E	55	Intermedio	300	1.2	700	4.3 ± 0.86	4.3	Evolución clínica favorable.
F	55	Lento	225	3.9	300	4.5 ± 0.9	4.6	Aumento de Cr sérica durante el tratamiento.
G	47	Rápido	300	1.5	400	4.0 ± 0.8	3.2	Evolución clínica favorable.
H	51	Intermedio	300	2.6	800*	8.2 ± 1.64	7.2	Evolución clínica favorable.
I	53	Lento	225	1.3	300	1.4 ± 0.28	1.2	IR y medicación: prednisona, tacrolimus y calcitriol.
J	50	Lento	225	4.1	800*	17.5 ± 3.5	15.7	IR en remisión y medicación con ciclosporina, ácido micofenólico, prednisona y omeprazol.
K	67	Intermedio	800	6.4	900*	9.8 ± 1.96	5.0	Evolución clínica favorable.
L	49	Intermedio	225	0.9	300	3.9 ± 0.78	3	Evolución clínica favorable.
M	47	Intermedio	300	2.6	400	6.0 ± 1.2	4.3	Evolución clínica favorable.
N	76.5	Lento	300	1.1	700	4.5 ± 0.9	3.3	Diabetes mellitus.
Ñ	64	Lento	300	0.4	700	5.6 ± 1.12	4.1	Evolución clínica favorable.
O	80	Lento	300	2.6	375	3.4 ± 0.68	3.5	Evolución clínica favorable.
P	67	Intermedio	300	0.4	400	4.0 ± 0.8	3	Evolución clínica favorable.
Q	74	Lento	300	2.5	400	3.5 ± 0.7	5.7	Evolución clínica favorable.

**Cambio de fase intensiva a fase de sostén.*

En la Figura 7.8 se puede observar el comportamiento de las Cp antes y después de la modificación de dosis. El intervalo terapéutico de RMP se obtuvo en 81.25% de los pacientes y 61% para INH (70% de los pacientes de la fase intensiva y 50% de la fase de sostén).

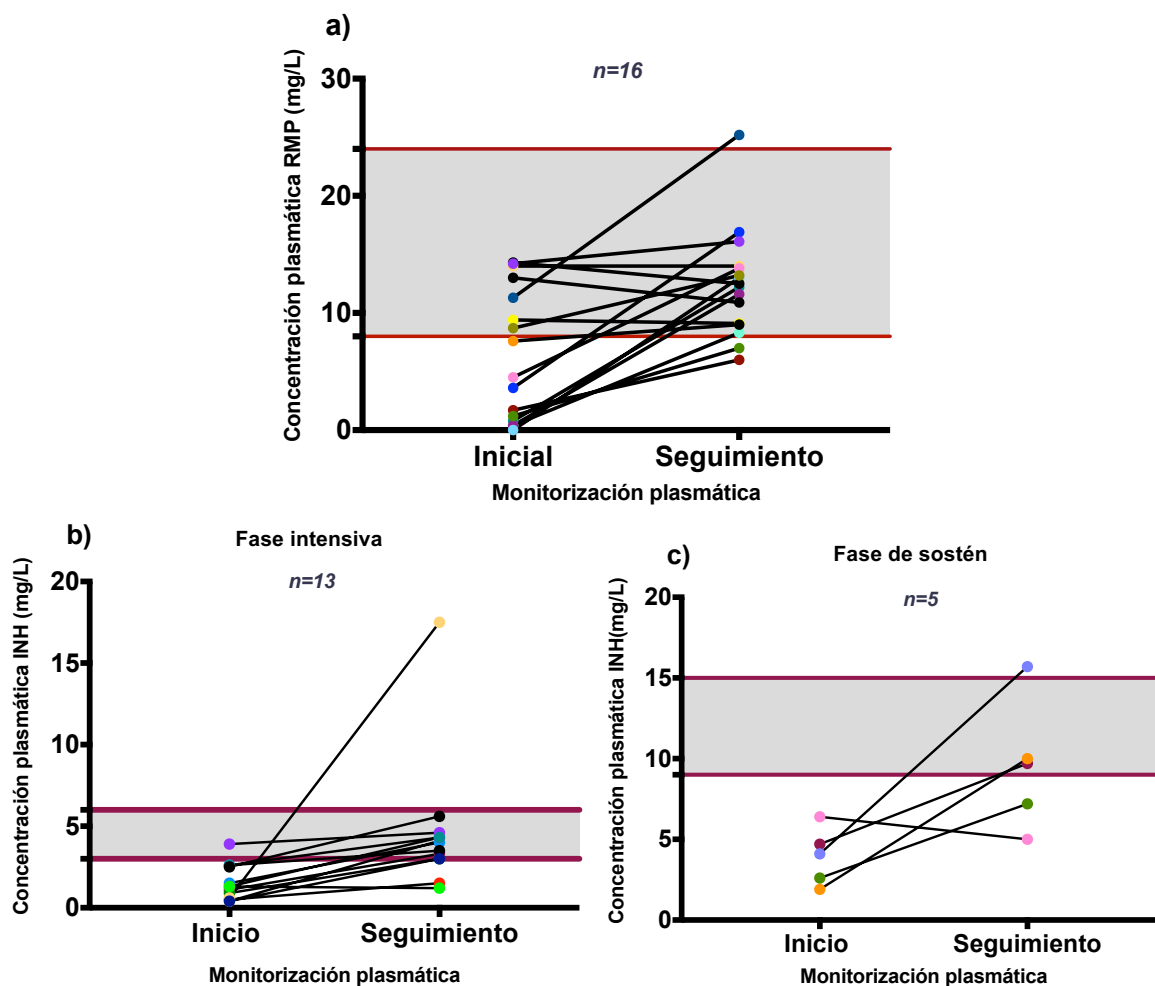


Figura 7.8 Cp en monitorización inicial y en seguimiento. a) RMP en pacientes en fase intensiva y de sostén; b) INH en pacientes en fase intensiva; c) INH en pacientes en fase de sostén.

Del total de pacientes incluidos en esta etapa quedaron pendiente de lograr Cp terapéutica el 9.75% para RMP y 39% para INH. Si bien con el procedimiento aplicado se pretende ofrecer la individualización de dosis para el tratamiento antifímico, aún es preciso identificar otras posibles fuentes de variabilidad y error asociados a las predicciones y resultados de Cp

medidas. Como ya se mencionó, existen diversos factores que determinan la variabilidad farmacocinética de ambos fármacos, algunos de ellos asociados al estado y evolución clínica del paciente y a otros no controlados en el estudio que incluyen los errores aleatorios o residuales relacionados como la variabilidad inter-ocasión, la hora exacta de la toma del medicamento, ayuno o consumo de alimento por parte del paciente durante la administración del medicamento, problemas en la absorción, calidad del producto farmacéutico administrado, etc. [47].

En la literatura, se ha señalado que, al menos 80% de los pacientes con ajuste de dosis logran alcanzar C_p dentro de rango para ambos antifímicos, sin embargo, el 20% restante puede requerir múltiples intervenciones, mediante ajustes de dosis adicionales hasta obtener las C_p deseadas [14]. Ante todo, deberán valorarse datos del paciente tales como peso, sexo, estados de escasa absorción gastrointestinal, mejoría clínica, etc.; del medicamento (biodisponibilidad, formas farmacéuticas disponibles, calidad biofarmacéutica, interacciones fármaco-fármaco, etc.), e inclusive, factores asociados al modelo farmacocinético seleccionado (población estudiada, selección del modelo estructural o de las covariables empleadas, variabilidad interindividual y error residual), entre otros [49].

Validación.

Se determinó la capacidad predictiva de la estimación Bayesiana para ambos antifímicos a través de las C_p predichas y C_p observadas de la segunda monitorización. La validación se realizó mediante un análisis de regresión lineal (Figura 7.9) y con el porcentaje de C_p observadas que se encontraron dentro del $\pm 20\%$ de valores de C_p predichas. Por ejemplo, para el paciente D la C_p predicha fue 10.3 mg/L para INH y su intervalo $\pm 20\%$ fue de 8.24 a 12.36 mg/L. La C_p observada de 10 mg/L, fue adecuada para el ajuste de dosis propuesto al encontrarse comprendido en el intervalo señalado (penúltima columna de tabla 7.10).

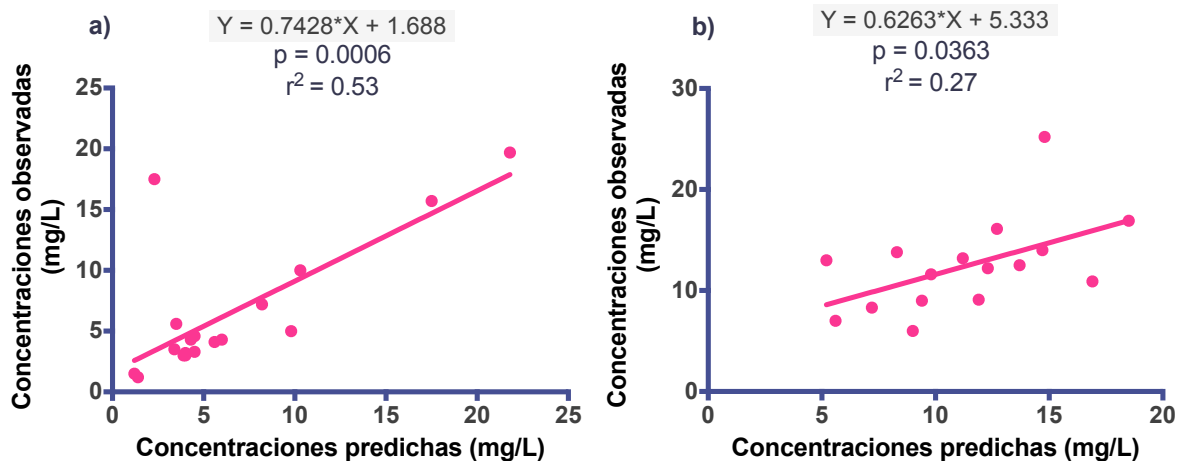


Figura 7.9 Gráfica de Cp observadas vs Cp predichas de a) RMP y b) INH.

Bajo las condiciones aplicadas en este estudio, la estimación Bayesiana logró una predicción adecuada de Cp de RMP de 50% de los casos, y de 55.55% para INH, no obstante, dentro de intervalo se obtuvieron 81.25% de Cp para RMP y 61% para INH.

Limitaciones. Algunas limitaciones del estudio fueron:

- la falta de seguimiento de algunos pacientes originarios de comunidades rurales que en ocasiones no podían acudir a sus citas médicas;
- la inexistencia de modelos farmacocinéticos en población pediátrica mexicana para ser aplicados en la estimación de los parámetros farmacocinéticos y en el ajuste de dosis de RMP e INH;
- la poca disponibilidad de formulaciones individuales de cada uno de los antifímicos para realizar el ajuste de dosificación de manera más adecuada, entre otros.

8. CONCLUSIONES

Se obtuvieron resultados confiables mediante la técnica por UPLC-MS/MS y la técnica de PCR implementadas para la monitorización de RMP e INH y la genotipificación de los SNPs de los genes *MDR1* y *NAT2*, respectivamente. No se demostró influencia de los polimorfismos del gen *MDR1* sobre los niveles plasmáticos de RMP; los fenotipos de acetilación de la enzima *NAT2*, asociados a la eliminación de INH fueron requeridos para la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos de este fármaco.

De los 84 pacientes con TB en tratamiento antifímico incluidos en el estudio, el 75% registró Cp subterapéuticas de RMP y/o INH. Sólo a pacientes adultos se les realizó el ajuste de dosis con el programa NONMEM v7.3 con lo cual 81.25% de Cp para RMP y 61% para INH quedaron ubicados en el intervalo terapéutico, además de registrar una evolución clínica favorable.

Este estudio propone una estrategia de individualización de la terapia antiTB basada en modelos farmacocinéticos desarrollados en población mexicana para optimizar el tratamiento de la TB con el mínimo de muestras sanguíneas. Sin embargo, a través de la validación de la estimación Bayesiana se encontró una predicción adecuada de Cp de RMP en 50% de los casos, y en 55.55% para INH. Lo anterior implica que es necesario identificar las posibles fuentes de variabilidad y error que influyen en los resultados para obtener una mejor estimación de dosis requeridas para lograr Cp terapéuticas en el mayor número de casos clínicos. Por otro lado, es necesario el desarrollo de modelos farmacocinéticos en población pediátrica mexicana para realizar la estimación más acertada de parámetros farmacocinéticos y Cp *a posteriori*.

El presente trabajo muestra la aplicación de los modelos farmacocinéticos desarrollados en población mexicana para realizar el ajuste posológico en pacientes con TB bajo esquema TAES a través de la estimación Bayesiana de los parámetros farmacocinéticos de RMP e INH. Esta etapa piloto constituye la base para instaurar en un corto o mediano plazo un servicio de farmacogenética y farmacocinética para la individualización de dosis de RMP e INH en el tratamiento de la TB lo que proveerá de una mejor atención farmacoterapéutica a los pacientes.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. *Nota descriptiva Tuberculosis*. 2019 [cited 2019 19 de julio de 2019]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>.
2. Goutelle, S.P.M., *Individualized Drug Therapy for Patients*. Individualizing tuberculosis therapy. Vol. 1. 2017, Los Angeles, California: Elsevier.
3. Zuur, M.A., et al., *Current status and opportunities for therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis*. Expert opinion on drug metabolism & toxicology, 2016. **12**(5): p. 509-521.
4. Salud, S.d. *Sistema Nacional de Vigilancia epidemiologica*. Boletín epidemiológico 2019 Junio de 2019 [cited 2019 19 de julio de 2019]; Available from: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/476788/sem27.pdf>.
5. Federación, D.O.d.l., *Para la prevención y control de la tuberculosis" Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-2013*, NOM, Editor. 2013: Cd. Juárez, México.
6. Horita, Y., et al., *Evaluation of the adequacy of WHO revised dosages of the first-line antituberculosis drugs in children with tuberculosis using population pharmacokinetic modeling and simulations*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2018. **62**(9): p. e00008-18.
7. Aruldhas, B.W., et al., *Optimization of dosing regimens of isoniazid and rifampicin in children with tuberculosis in India*. British journal of clinical pharmacology, 2019. **85**(3): p. 644-654.
8. Zvada, S.P., et al., *Population pharmacokinetics of rifampicin, pyrazinamide and isoniazid in children with tuberculosis: in silico evaluation of currently recommended doses*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. **69**(5): p. 1339-1349.
9. Schipani, A., et al., *A simultaneous population pharmacokinetic analysis of rifampicin in Malawian adults and children*. British journal of clinical pharmacology, 2016. **81**(4): p. 679-687.
10. Alsultan, A. and C.A. Peloquin, *Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis: an update*. Drugs, 2014. **74**(8): p. 839-854.
11. Denti, P., et al., *Pharmacokinetics of isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol in newly diagnosed pulmonary TB patients in Tanzania*. PloS one, 2015. **10**(10): p. e0141002.
12. Donald, P., et al., *The influence of dose and N-acetyltransferase-2 (NAT2) genotype and phenotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of isoniazid*. European journal of clinical pharmacology, 2007. **63**(7): p. 633-639.
13. Thee, S., et al., *Pharmacokinetics of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in children younger than two years of age with tuberculosis: evidence for implementation of revised World Health Organization recommendations*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2011. **55**(12): p. 5560-5567.
14. Heysell, S.K., et al., *Therapeutic drug monitoring for slow response to tuberculosis treatment in a state control program, Virginia, USA*. Emerging infectious diseases, 2010. **16**(10): p. 1546.
15. Maze, M., et al., *Therapeutic drug monitoring of isoniazid and rifampicin during anti-tuberculosis treatment in Auckland, New Zealand*. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2016. **20**(7): p. 955-960.
16. Mota, L., et al., *Therapeutic drug monitoring in anti-tuberculosis treatment: a systematic review and meta-analysis*. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2016. **20**(6): p. 819-826.

17. Pasipanodya, J.G., et al., *Serum drug concentrations predictive of pulmonary tuberculosis outcomes*. The Journal of infectious diseases, 2013. **208**(9): p. 1464-1473.
18. Ana Patricia Huerta-García, e.a., *Anthropometric and genetic factors associated with the exposure of rifampicin and isoniazid in mexican patients with tuberculosis*. . Therapeutic Drug Monitoring, 2019. **1**.
19. Medellín-Garibay, S., et al., *Clinical pharmacokinetics of rifampin in patients with tuberculosis and type 2 diabetes mellitus: association with biochemical and immunological parameters*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2015. **59**(12): p. 7707-7714.
20. Requena-Méndez, A., et al., *Intra-individual effects of food upon the pharmacokinetics of rifampicin and isoniazid*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2018. **74**(2): p. 416-424.
21. Pasipanodya, J.G. and T. Gumbo, *Individualizing Tuberculosis (TB) Treatment: Are TB Programs in High Burden Settings Ready for Prime Time Therapeutic Drug Monitoring?* 2018, Oxford University Press US.
22. D'Ambrosio, L., et al., *New anti-tuberculosis drugs and regimens: 2015 update*. ERJ Open Research, 2015. **1**(1): p. 00010-2015.
23. Porth, C., *Fisiopatología*. Fisiopatología. Vol. 9. 2014, España: Wolters Kluwer Health.
24. Robbins, C., *Patología funcional y estructural*. Vol. 8 2010, España: Elsevier.
25. Rieder, H.L., *Intervenciones para el control y la eliminación de la tuberculosis*, ed. U.I.C.I.T.y.I.E. Respiratorias. 2002, París, Francia. 1-134.
26. SSA, *Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-2013. Para la prevención y control de la tuberculosis*. 2013.
27. Donald, P.R., et al., *The influence of human N-acetyltransferase genotype on the early bactericidal activity of isoniazid*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(10): p. 1425-30.
28. Peloquin, C., *What is the 'right' dose of rifampin?* Int J Tuberc Lung Dis, 2003. **7**(1): p. 3-5.
29. Medellín-Garibay, S.E., et al., *Pharmacokinetics of rifampicin in Mexican patients with tuberculosis and healthy volunteers*. J Pharm Pharmacol, 2014.
30. Tostmann, A., et al., *Pharmacokinetics of first-line tuberculosis drugs in Tanzanian patients*. Antimicrob Agents Chemother, 2013. **57**(7): p. 3208-13.
31. J., C.-L.M.d., et al., *Polimorfismos en los genes CYP450 y NAT2 y metabolismo de fármacos para el tratamiento antituberculosis estandarizado*. Revista de Investigación Clínica, 2008. **60**(1): p. 47-57.
32. Pasipanodya, J.G., et al., *Serum drug concentrations predictive of pulmonary tuberculosis outcomes*. J Infect Dis, 2013. **208**(9): p. 1464-73.
33. McIlleron, H., et al., *Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients*. Antimicrob Agents Chemother, 2006. **50**(4): p. 1170-7.
34. Chideya, S., et al., *Isoniazid, rifampin, ethambutol, and pyrazinamide pharmacokinetics and treatment outcomes among a predominantly HIV-infected cohort of adults with tuberculosis from Botswana*. Clin Infect Dis, 2009. **48**(12): p. 1685-94.
35. Li, J., et al., *Use of therapeutic drug monitoring for multidrug-resistant tuberculosis patients*. Chest, 2004. **126**: p. 1770-6.
36. Magis-Escorra, C., et al., *Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis patients*. Pulm Pharmacol Ther, 2012. **25**(1): p. 83-6.
37. S, W.R., et al., *Whole Blood Bactericidal Activity*

- during Treatment of Pulmonary Tuberculosis. The Journal of Infectious Diseases, 2003. **187**: p. 270-8.
38. Spain, V. *Vademecum*. 2019 [cited 2019 Febrero de 2019]; Available from: <https://www.vademecum.es>.
 39. Donald, P.R., *Cerebrospinal fluid concentrations of antituberculosis agents in adults and children*. Tuberculosis (Edinb), 2010. **90**(5): p. 279-92.
 40. Wang, P., et al., *Isoniazid metabolism and hepatotoxicity*. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2016. **6**(5): p. 384-392.
 41. Lee, W.M., *Drug-induced hepatotoxicity*. N Engl J Med, 2003. **349**(5): p. 474-85.
 42. Woodward, K.N. and J.A. Timbrell, *Acetylhydrazine hepatotoxicity: the role of covalent binding*. Toxicology, 1984. **30**(1): p. 65-74.
 43. Hayes, J.D., J.U. Flanagan, and I.R. Jowsey, *Glutathione transferases*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005. **45**: p. 51-88.
 44. Chan, S.L., et al., *Association and clinical utility of NAT2 in the prediction of isoniazid-induced liver injury in Singaporean patients*. PloS one, 2017. **12**(10): p. e0186200.
 45. Seng, K.-Y., et al., *Population pharmacokinetic analysis of isoniazid, acetylisoniazid, and isonicotinic acid in healthy volunteers*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2015. **59**(11): p. 6791-6799.
 46. Cruz-García, J.Á., *Influencia de los polimorfismos de NAT2, CYP2E1 y GSTM1 en la farmacocinética de isoniácida en pacientes con tuberculosis.*, in *Laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas*. 2017, Universidad Autónoma de San Luis Potosí: San Luis Potosí, México.
 47. Huerta-García, A.P., *Análisis farmacocinético y farmacogenético de niveles plasmáticos de antifímicos en pacientes con tuberculosis*, in *Laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas*. 2016, Universidad Autónoma de San Luis Potosí: San Luis Potosí, México.
 48. Sutrisna, E., et al., *The Impacts of MDR1^Δ sup C3435T^Δ Gene Polymorphism towards Plasma Rifampicin Levels in Javanese Pulmonary Tuberculosis*. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2015. **7**(9): p. 647.
 49. Choi, R., et al., *Recommendations for optimizing tuberculosis treatment: therapeutic drug monitoring, pharmacogenetics, and nutritional status considerations*. Annals of laboratory medicine, 2017. **37**(2): p. 97-107.
 50. Hein, D.W., *N-acetyltransferase single nucleotide polymorphisms: Emerging concepts serve a paradigm for understanding complexities of personalized medicina*. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2009. **5**(4): p. 353-366.
 51. Selinski, S., et al., *The ultra-slow NAT2* 6A haplotype is associated with reduced higher cognitive functions in an elderly study group*. Archives of toxicology, 2015. **89**(12): p. 2291-2303.
 52. Salazar-Granara, A., et al., *Frecuencia del polimorfismo 282 C> T del gen N-Acetiltransferasa (NAT2) en poblaciones peruanas e implicancias en la salud*. Horizonte Médico (Lima), 2016. **16**(1): p. 20-31.
 53. Fukino, K., et al., *Effects of N-acetyltransferase 2 (NAT2), CYP2E1 and Glutathione-S-transferase (GST) genotypes on the serum concentrations of isoniazid and metabolites in tuberculosis patients*. J Toxicol Sci, 2008. **33**(2): p. 187-95.
 54. Walker, K., et al., *Genetic polymorphism in N-Acetyltransferase (NAT): Population distribution of NAT1 and NAT2 activity*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 2009. **12**(5-6): p. 440-72.
 55. Kinzing-Schippers, M., et al., *Should we use N-Acetyltransferase Type 2 genotyping to personalize isoniazid dose?* Antimicrob Agents Chemother, 2005. **49**(5): p. 1733-1738.

56. GILLIN, J.S., et al., *Malabsorption and mucosal abnormalities of the small intestine in the acquired immunodeficiency syndrome*. Annals of Internal Medicine, 1985. **102**(5): p. 619-622.
57. Alisjahbana, B., et al., *The effect of type 2 diabetes mellitus on the presentation and treatment response of pulmonary tuberculosis*. Clinical Infectious Diseases, 2007. **45**(4): p. 428-435.
58. Kotler, D.P., et al., *Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome*. Ann Intern Med, 1984. **101**(4): p. 421-428.
59. Abuznait, A.H., S.G. Patrick, and A. Kaddoumi, *Exposure of LS-180 Cells to Drugs of Diverse Physicochemical and Therapeutic Properties Up-regulates P-glycoprotein Expression and Activity*. J Pharm Pharm Sci, 2011. **14**(2).
60. Barranco Garduño, L.M., et al., *La farmacocinética poblacional y su importancia en la terapéutica*. Medicina Interna de México, 2011. **27**(4).
61. van Crevel, R., et al., *Low plasma concentrations of rifampicin in tuberculosis patients in Indonesia*. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2002. **6**(6): p. 497-502.
62. Schaaf, H., et al., *Isoniazid pharmacokinetics in children treated for respiratory tuberculosis*. Archives of disease in childhood, 2005. **90**(6): p. 614-618.
63. Peloquin, C.A., *Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis*. Drugs, 2002. **62**(15): p. 2169-83.
64. SSA, *PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable y un medicamento biotecnológico es biocomparable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas. Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.-Secretaría de Salud*. 2013.
65. González Baltazar, R., et al., *Calidad de vida relacionada con la salud y trabajo en pacientes con tuberculosis en Guadalajara,(México)*. Revista Científica Salud Uninorte, 2013. **29**(1).
66. Sánchez-Albisua, I., et al., *Tuberculosis pulmonar en el niño: características según la edad*. An Esp Pediatr, 1998. **48**(3).
67. Newton, S.M., et al., *Paediatric tuberculosis*. The Lancet infectious diseases, 2008. **8**(8): p. 498-510.
68. SANCHEZ, G., et al., *Formas clínicas de la tuberculosis infantil: Hospital Roberto del Río. 1989-2005*. Revista chilena de enfermedades respiratorias, 2008. **24**(2): p. 101-105.
69. Verbeeck, R.K., et al., *Optimizing treatment outcome of first-line anti-tuberculosis drugs: the role of therapeutic drug monitoring*. European journal of clinical pharmacology, 2016. **72**(8): p. 905-916.
70. Dostalek, M., F. Akhlaghi, and M. Puzanovova, *Effect of diabetes mellitus on pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs*. Clinical pharmacokinetics, 2012. **51**(8): p. 481-499.
71. Burman, W.J., K. Gallicano, and C. Peloquin, *Therapeutic implications of drug interactions in the treatment of human immunodeficiency virus-related tuberculosis*. Clinical infectious diseases, 1999. **28**(3): p. 419-430.
72. Boulanger, C., et al., *Pharmacokinetic evaluation of rifabutin in combination with lopinavir-ritonavir in patients with HIV infection and active tuberculosis*. Clinical infectious diseases, 2009. **49**(9): p. 1305-1311.
73. Babalik, A., et al., *Therapeutic drug monitoring in the treatment of active tuberculosis*. Canadian respiratory journal, 2011. **18**(4): p. 225-229.

74. Standards, D., C.o.T.i. Adults, and Children, *This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999.* Am J Respir Crit Care Med, 2000. **161**(4 Pt 1): p. 1376-1395.
75. Malone, R.S., et al., *The effect of hemodialysis on isoniazid, rifampin, pyrazinamide, and ethambutol.* American journal of respiratory and critical care medicine, 1999. **159**(5): p. 1580-1584.
76. Singapore, T.S.B.M.R.C., *Clinical trial of six-month and four-month regimens of chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis: the results up to 30 months.* Tubercle, 1981. **62**(2): p. 95-102.
77. Wilkins, J.J., et al., *Variability in the population pharmacokinetics of isoniazid in South African tuberculosis patients.* British journal of clinical pharmacology, 2011. **72**(1): p. 51-62.
78. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *Some suggestions for measuring predictive performance.* J Pharmacokinet Biopharm, 1981. **9**(4): p. 503-12.
79. McIlleron, H., et al., *Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients.* Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006. **50**(4): p. 1170-1177.

10. ANEXOS

Anexo 10.1

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DE PACIENTES ADULTOS

Monitorización de los Niveles Plasmáticos de Antifímicos en Pacientes con Tuberculosis

HOJA DE CONTROL DE PACIENTES ADULTOS

FECHA: _____

CLAVE: _____

EDAD: _____

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

MÉDICO: _____

DIRECCIÓN: _____

TEL: _____ TB: _____

FECHA DE NACIMIENTO:

ESCOLARIDAD: _____ OCUPACIÓN: _____

FAMILIAR: _____

DATOS ANTROPOMÉTRICOS

TALLA: _____ PESO: _____ IMC: _____

SEXO: _____

ESTADO CIVIL:

Casado Divorciado Soltero Viudo Otro: _____

ALCOHOLISMO:

>3 veces a la semana < 3 veces a la semana Social No toma

TABAQUISMO:

>3 veces a la semana < 3 veces a la semana Social No fuma

ENFERMEDADES CONCOMITANTES:

Anexo 10.2

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

Monitorización de los Niveles Plasmáticos de Antifímicos en Pacientes con Tuberculosis

HOJA DE CONTROL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

FECHA: _____

CLAVE: _____

EDAD: _____

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

NOMBRE DEL PADRE O TUTOR: _____

MÉDICO: _____

DIRECCIÓN: _____

TEL: _____ TB: _____

FECHA DE NACIMIENTO: _____

ESCOLARIDAD: _____

DATOS ANTROPOMÉTRICOS

TALLA: _____ PESO: _____ IMC: _____

SEXO: _____

ENFERMEDADES CONCOMITANTES:

MEDICACIÓN CONCOMITANTE:

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO:

BAAR

Histopatológico

Cultivo

Clínico

Radiológico

Otro: _____

Observaciones:

Inicio de tratamiento Equilibrio dinámico Otro: _____

FÁRMACO ADMINISTRADO: _____

DOSIS ADMINISTRADA: _____

TOMA DE MEDICAMENTO (h): _____

TOMA DE MUESTRAS

No. de muestra	Tiempo post-dosis	Hora del día	Hora real

Observaciones:

PROGRAMA DE CONTROL

PRÓXIMA CITA: _____

Persona que tomó la muestra: _____

Anexo 10.3

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES ADULTOS

Título del protocolo:

“MONITORIZACIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN NIÑOS Y ADULTOS CON TUBERCULOSIS. ESTUDIO PILOTO.”

Nombre del Paciente: _____

Introducción:

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por bacterias muy peligrosas. Esta enfermedad es curable pero existen pacientes con tuberculosis que no responden al tratamiento. Por ello es muy importante cumplir todas las instrucciones del médico y tomar los medicamentos en forma estricta para que lleguen a la sangre en cantidades adecuadas para destruir a las bacterias. En algunos pacientes es necesario tomar muestras de sangre para medir los niveles de medicamento y asegurar que sean los correctos para combatir esta infección. Cuando las bacterias no son destruidas debidamente pueden hacerse resistentes a los medicamentos y provocar que el tratamiento no sirva para combatir la infección. En esos casos el paciente podrá presentar complicaciones o tener recaídas en su enfermedad.

Para determinar las causas que provocan que los medicamentos no curen de manera eficiente la tuberculosis, es necesario realizar varios estudios en muestras de sangre. Dichos estudios consisten en investigar aspectos genéticos que afectan la entrada y la salida de los medicamentos que se usan en el tratamiento de la tuberculosis. De manera especial se desea investigar estos aspectos en la isoniacida y rifampicina.

A través de su médico del hospital o en el centro de salud en donde se le atiende, se le invita a Usted de la manera más atenta a participar en la presente investigación de forma totalmente voluntaria y sin ningún costo. A continuación se describe el objetivo, procedimientos, medicamentos que se administrarán, los posibles riesgos y los beneficios de este estudio con la finalidad de que Usted pueda tomar su decisión de participar o no, de manera libre e informada.

Objetivo:

El objetivo del estudio es investigar si los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre son adecuados para combatir la infección. También se requiere estudiar los aspectos genéticos que influyen en la entrada y salida del organismo para la isoniacida y rifampicina. Finalmente, se requiere reunir toda la información anterior para proponer un cambio de dosis en caso necesario.

Procedimientos a los que será sometido el paciente:

Si usted cumple con los criterios de selección y decide participar se le proporcionarán indicaciones para empezar el estudio.

Etapa uno. Se le solicitará que nos permita tomarle una muestra de sangre en ayuno antes de tomar su medicamento. La muestra será de 4 mL (aproximadamente lo que equivale a una cucharada sopera) para estudiar el material genético que está relacionado con la entrada y salida del organismo (absorción, metabolismo y eliminación) de isoniacida y rifampicina. Al terminar la toma de muestra de sangre, Usted tomará su medicamento con agua en cantidad equivalente a un vaso. Posteriormente podrá ingerir sus alimentos a la hora indicada por su médico.

Después se le tomarán otras 2 muestras de sangre de 4 mL a las 2 y 4 horas posteriores a la toma de su medicamento. En estas muestras se medirán los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre, para determinar si éstos son adecuados para destruir las bacterias. Su médico le indicará cambios de dosis en caso de ser necesario.

Etapa dos. Se repetirá el mismo procedimiento que en la etapa uno, pero en este caso se le citará a los dos meses de estar tomando el medicamento, con el fin de evaluar si los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre siguen siendo adecuados.

Nota: Se hace la aclaración de que sus muestras sanguíneas obtenidas no serán empleadas para otro estudio diferente al presente. Sus muestras de sangre sólo se emplearán para el estudio genético de las proteínas que participan en la entrada y salida de estos medicamentos (Multidrug-resistant-1 y N-acetiltransferasa-2), así como para la medición de niveles de rifampicina, isoniacida y acetil-isoniacida. Esto quiere decir, que ni las muestras sanguíneas ni su material genético serán empleados para producir células inmortales.

Riesgos esperados para el paciente:

En la toma de muestras, los riesgos físicos son los normales que pueden presentarse cuando se realiza una punción en la vena. Puede haber dolor leve, moretones, irritación o enrojecimiento en el sitio de la punción o en casos extremos, si se pone muy nervioso (a) Usted podrá sentir que se desmaya. En casos muy raros puede desarrollarse una infección. Los profesionales que lo atenderán le proporcionarán los cuidados necesarios para resolver este tipo de inconvenientes que se pudieran presentar.

Por lo general el medicamento se tolera bien a las dosis que señala el médico. Sin embargo algunos pacientes pueden presentarse algunas molestias o reacciones no deseadas que pueden ser debidas a los medicamentos sobre todo cuando se usan por largo tiempo, tales como hepatitis, reacciones alérgicas y polineuritis periférica en el caso de la isoniacida. La rifampicina es un medicamento de color rojizo por lo tanto, los pacientes que lo toman eliminarán orina color anaranjado intenso o rojizo. Lo anterior es un proceso normal y no debe considerarse que exista un problema o alteración en la sangre.

Beneficios para el paciente:

Al participar en este proyecto Usted se anexarán a su expediente los resultados de los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre, así como los datos genéticos relacionados con la entrada y salida del éstos en el organismo. Estos resultados podrán servir de referencia para que su médico realice un mejor seguimiento del tratamiento y control de su enfermedad.

Para realizar cualquier pregunta, duda o aclaración sobre este estudio, o acerca de su proceso de consentimiento o sobre alguna reacción adversa relacionada con los medicamentos empleados en esta investigación, Usted puede comunicarse con su médico o con:

Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Laboratorio de Biofarmacia
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Teléfono Oficina: 826-24 40 ext 514
Teléfono celular: 44 41 05 51 19

Q.F.B. Luz Alejandra Espiricueta Zavala
Laboratorio de Biofarmacia
Facultad de Ciencias Químicas
UASLP
Teléfono celular: 44 43 14 39 00

Si usted desea consentir su participación en esta investigación, por favor firme y anote la fecha en este documento en los espacios proporcionados abajo. Su firma significa que usted acepta lo siguiente:

1. Se me ha dado información completa y adecuada en forma verbal y por escrito sobre el objetivo del estudio, los beneficios y riesgos implicados.
2. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento y terminar mi participación en el estudio en cualquier momento sin afectar mi derecho a recibir atención médica.
3. Es mi responsabilidad preguntar para aclarar cualquier punto que no entienda claramente en relación con mi participación en este estudio. He hecho todas esas preguntas a la persona que realiza el proceso de obtención del consentimiento informado y he recibido respuestas satisfactorias.
4. No he ocultado o distorsionado cualquier condición médica actual o cualquier antecedente médico que pudiera perjudicar o afectar mi salud.
5. Tengo 18 años o más y soy legalmente capaz de dar este consentimiento.
6. Acepto participar en este estudio de manera voluntaria y sin que me hayan presionado, manipulado u obligado.

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____

Lugar y Fecha: _____

Nombre y firma de la persona que obtiene el consentimiento del sujeto:

Nombre: _____

Firma del investigador: _____

Lugar y fecha _____

Testigo 1:

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____

Relación con el participante _____

Dirección del testigo _____

Lugar y fecha _____

Testigo 2:

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____

Relación con el participante _____

Dirección del testigo _____

Lugar y fecha _____

Anexo 10.4

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES PEDIÁTRICOS

Título del protocolo:

“MONITORIZACIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN NIÑOS Y ADULTOS CON TUBERCULOSIS. ESTUDIO PILOTO.”

Nombre del Paciente: _____

Introducción:

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por bacterias muy peligrosas. Esta enfermedad es curable pero existen pacientes con tuberculosis que no responden al tratamiento. Por ello es muy importante cumplir todas las instrucciones del médico y tomar los medicamentos en forma estricta para que llegue a la sangre en cantidades adecuadas para destruir a las bacterias. En algunos pacientes es necesario tomar muestras de sangre para medir los niveles de medicamento y asegurar que sean los correctos para combatir esta infección. Cuando las bacterias no son destruidas debidamente pueden hacerse resistentes a los medicamentos y provocar que el tratamiento no sirva para combatir la infección. En esos casos el paciente podrá presentar complicaciones o tener recaídas en su enfermedad.

Para determinar las causas que provocan que los medicamentos no curen de manera eficiente la tuberculosis, es necesario realizar varios estudios en muestras de sangre. Dichos estudios consisten en investigar aspectos genéticos que afectan la entrada y salida del organismo de los medicamentos que se usan en el tratamiento de la tuberculosis. De manera especial se desea investigar estos aspectos en la isoniacida y rifampicina.

A través de su médico del hospital o en el centro de salud en donde se atiende a su hijo(a), se le invita a Usted de la manera más atenta a que su hijo(a) participe en la presente investigación de forma totalmente voluntaria y sin ningún costo. A continuación se describe el objetivo, procedimientos, medicamentos que se administrarán, los posibles riesgos y los beneficios de este estudio con la finalidad de que Usted pueda tomar su decisión de que su hijo(a) participe o no, de manera libre e informada.

Objetivo:

El objetivo del estudio es investigar si los niveles de isoniacida y rifampicina, en sangre son adecuados para combatir la infección. También se requiere estudiar los aspectos genéticos que influyen en la entrada y salida del organismo para la isoniacida y rifampicina. Finalmente, se requiere conjuntar toda la información anterior para proponer un cambio de dosis en caso necesario.

Procedimientos a los que será sometido el paciente:

Si su hijo(a) cumple con los criterios de selección y decide que participe se le proporcionarán indicaciones para empezar el estudio.

Etapa uno. Se le solicitará que nos permita tomarle una muestra de sangre en ayuno antes de tomar su medicamento. La muestra será de 4 mL (aproximadamente lo que equivale a una cucharada sopera) para estudiar el material genético que está relacionado con la entrada y salida del organismo (absorción, metabolismo y eliminación) de isoniacida y rifampicina. Al terminar la toma de muestra de

sangre el niño tomará su medicamento con agua en cantidad equivalente a un vaso. Posteriormente podrá ingerir sus alimentos a la hora indicada por su médico.

Después se le tomarán 2 muestras de sangre de 4 mL a las 2 y 4 horas posteriores a la toma de su medicamento. En estas muestras se medirán los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre, para determinar si éstas son adecuadas para destruir las bacterias. Su médico le indicará cambios de dosis en caso de ser necesario.

Etapa dos. Se repetirá el mismo procedimiento que en la etapa uno, pero en este caso se le citará a los dos meses de que el niño esté tomando el medicamento, con el fin de evaluar si los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre siguen siendo adecuados.

Nota: Se hace la aclaración de que las muestras sanguíneas obtenidas del niño no serán empleadas para otro estudio diferente al presente. Las muestras de sangre sólo se emplearán para el estudio genético de las proteínas que participan en la entrada y salida de los medicamentos (Multidrug-resistant-1 y N-acetiltransferasa-2), así como para la medición de niveles de rifampicina, isoniacida y acetil-isoniacida. Esto quiere decir, que ni las muestras sanguíneas ni su material genético serán empleados para la obtener células inmortales.

Riesgos esperados para el paciente pediátrico:

En la toma de muestras, los riesgos físicos son los normales que pueden presentarse cuando se realiza una punción en la vena. Puede haber dolor leve, moretones, irritación o enrojecimiento en el sitio de la punción o en casos extremos, si se pone muy nervioso (a) su hijo (a) podría sentir que se desmaya. En casos muy raros puede desarrollarse una infección. Los profesionales que lo atenderán le proporcionarán los cuidados necesarios para resolver este tipo de inconvenientes que se pudieran presentar.

Por lo general el medicamento se tolera bien a las dosis que señala el médico. Sin embargo algunos pacientes pueden presentarse algunas molestias o reacciones no deseadas que pueden ser debidas a los medicamentos sobre todo cuando se usan por largo tiempo, tales como hepatitis, reacciones alérgicas y polineuritis periférica en el caso de la isoniacida. La rifampicina es un medicamento de color rojizo por lo tanto, los pacientes que lo toman eliminarán orina color anaranjado intenso o rojizo. Lo anterior es un proceso normal y no debe considerarse que exista un problema o alteración en la sangre.

Beneficios para el paciente:

Al participar en este proyecto, se anexarán al expediente de su hijo(a) los resultados de los niveles de isoniacida y rifampicina en sangre de su hijo(a), y los datos genéticos relacionados con la entrada y salida de los fármacos en el organismo. Estos resultados podrán servir de referencia para que el médico realice un mejor seguimiento del tratamiento y control de su enfermedad.

Para realizar cualquier pregunta, duda o aclaración sobre este estudio, o acerca de su proceso de consentimiento o sobre alguna reacción adversa relacionada con los medicamentos empleados en esta investigación, Usted puede comunicarse con su médico o con:

Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Laboratorio de Biofarmacia
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Teléfono Oficina: 826-24 40 ext 514
Teléfono celular: 44 41 05 51 19

Q.F.B. Luz Alejandra Espiricueta Zavala
Laboratorio de Biofarmacia
Facultad de Ciencias Químicas
UASLP
Teléfono celular: 44 43 14 39 00

Si usted desea consentir la participación de su hijo (a) en esta investigación, por favor feche y firme este documento en los espacios proporcionados abajo. Su firma significa que usted acepta lo siguiente:

1. Se me ha dado información completa y adecuada en forma verbal y por escrito sobre el objetivo del estudio, los beneficios y riesgos implicados.
2. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento y terminar la participación de mi hijo(a) en el estudio en cualquier momento sin afectar su derecho a recibir atención médica.
3. Es mi responsabilidad preguntar para aclarar cualquier punto que no entienda claramente en relación con la participación de mi hijo(a) en este estudio. He hecho todas esas preguntas a la persona que realiza el proceso de obtención del consentimiento informado y he recibido respuestas satisfactorias.
4. No he ocultado o distorsionado cualquier condición médica actual o cualquier antecedente médico que pudiera perjudicar o afectar la salud de mi hijo (a).
5. Soy el padre o tutor del paciente pediátrico que participará en el estudio y soy legalmente capaz de dar este consentimiento.
6. Acepto que participe mi hijo (a) en este estudio de manera voluntaria y sin que me hayan presionado, manipulado u obligado.

Nombre del padre o tutor: _____

Firma del padre o tutor: _____

Lugar y Fecha: _____

Nombre y firma de la persona que obtiene el consentimiento del sujeto:

Nombre: _____

Firma del investigador: _____

Lugar y fecha _____

Testigo 1:

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____

Relación con el participante _____

Dirección del testigo _____

Lugar y fecha _____

Testigo 2:

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____

Relación con el participante _____

Dirección del testigo _____

Lugar y fecha _____

Anexo 10.5

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES DE 12 A 17 AÑOS CON TUBERCULOSIS, PARA EL INGRESO AL PROTOCOLO DE ESTUDIO TITULADO:

Título del protocolo:

“MONITORIZACIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN NIÑOS Y ADULTOS CON TUBERCULOSIS. ESTUDIO PILOTO.”

Yo: _____, de _____ años de edad, paciente del servicio de Infectología Pediátrica en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, estoy de acuerdo con que se me tomen muestras de sangre, y que sea utilizada únicamente para este estudio y para ningún otro fin ajeno a lo que se me ha explicado.

Nombre y firma del paciente

Vo Bo del padre o tutor

Lugar y Fecha: _____

Nombre del investigador _____

Firma del investigador _____

Investigadores participantes:

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

- Dr. Arturo Ortiz Álvarez
- Dr. Luis Fernando Pérez González
- Dr. Martín Magaña Aquino

Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

- Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
- Dra. Susanna Edith Medellín Garibay
- Dra. Silvia Romano Moreno
- QFB. Luz Alejandra Espiricueta Zavala

Anexo 10.6

FORMATO DE ENTREGA DE RESULTADOS DE MONITORIZACIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE ANTIFÍMICOS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
 FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
 LABORATORIO DE BIOFARMACIA Y FARMACOCINÉTICA



MONITORIZACIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE ANTIFÍMICOS

Fecha: _____

DATOS DEL PACIENTE

Nombre: _____ Numero de control interno: _____

Edad: _____ Sexo: Masculino Femenino Peso: _____ kg Talla: _____ m IMC: _____ kg/m²

Nombre del Médico tratante: _____

Diagnóstico: _____ Inicio de tratamiento: _____

FÁRMACOS Y DOSIS PARA MONITORIZAR

Esquema TAES: Fase Intensiva Fase de Sostén Formulación: _____ Dotbal _____

mg Rifampicina mg Isoniacida mg Pirazinamida mg Etambutol

Régimen de dosificación: _____ Fecha y hora de la última dosis: _____

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIFÍMICOS

No. muestra	Fecha y hora de toma de muestra	Tiempo post-dosis (horas)	Concentración plasmática (mg/L)			
			Rifampicina	Isoniacida	Pirazinamida	Etambutol
Concentración esperada después de 2-4 h postdosis			8-24 mg/L	3-6 mg/L	20-60 mg/L	2-6 mg/L
1		2 horas				
2						

RESULTADOS GENOTIPIFICACIÓN

Glicoproteína-P:

Fenotipo acetilador:

Recibido por: _____ Firma: _____ Fecha: _____

Elaboró: QFB. Luz Alejandra Espiricueta Zavala

Supervisó: Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia

Anexo 10.7

Ejemplo de un caso clínico particular. A través de la monitorización de fármacos, se pretende optimizar el tratamiento farmacológico en pacientes que, por diversos motivos no consiguen presentar el efecto farmacológico deseado o que presentan problemas de toxicidad, entre otras fallas terapéuticas. Para ello, es preciso identificar los factores que condicionan la farmacocinética y que derivan en la falta de respuesta o presencia de efectos adversos, y de esa manera, proponer la individualización del régimen posológico a través del cual se pretende mejorar la respuesta farmacológica en el paciente.

De los diversos pacientes que participaron en el protocolo, se seleccionó 1 de ellos como ejemplo de la intervención farmacocinética que se desarrolló exitosamente en el presente estudio.

Caso 1. Paciente femenino de 49 años y peso corporal de 47 Kg, presentó TB peritoneal con problemas de respuesta clínica a través de pérdida de peso, fiebre y evolución inadecuada de una fístula presente en el área abdominal. Recibe TAES en dosis de 375 mg de RMP y 187.5 mg de INH (2.5 tabletas de DoTBal) (Figura 7.9). A las dos semanas de tratamiento ingresa al protocolo y mediante el estudio de genotipificación resultó ser acetilador intermedio para NAT2 y con expresión disminuida de PGP. La monitorización de Cp de RMP e INH a las 2h postdosis arroja niveles subterapéuticos de 4.1 mg/L y 1.2 mg/L, respectivamente. Mediante estimación Bayesiana se determinan los parámetros farmacocinéticos para RMP: V de 28.5L, CL de 6 L/h, Ka de 0.53 h⁻¹; y para INH: V de 15.9 L, CL de 19.4L/h y Ka de 0.42 h⁻¹. Con el programa NONMEM® v.7.3 se ensayan diferentes ajustes de dosis, Con incremento a 600 mg de RMP y 300 mg de INH (4 tabletas de DoTBal) la predicción de Cp es de 9.1 mg/L para RMP y de 2.5 mg/L de INH; no obstante, la paciente presenta Cp de 9.2 mg/L y 1.5 mg/L de INH. Se decide ofrecer el tratamiento con presentación farmacéutica monofármaco para RMP (manteniendo misma dosis) e INH con la finalidad de ajustar la dosis de este último. La dosis modificada para INH resulta de 400 mg para obtener 4.0 mg/L. La nueva monitorización resulta con 12.2 mg/L y 3.2 mg/L para RMP e INH, respectivamente. La respuesta clínica se vio favorecida a través de los resultados de una fístula que presentaba la paciente en el área abdominal, aumento de peso, no hubo presencia de episodios febriles posteriores además de un cambio de ánimo positivo.

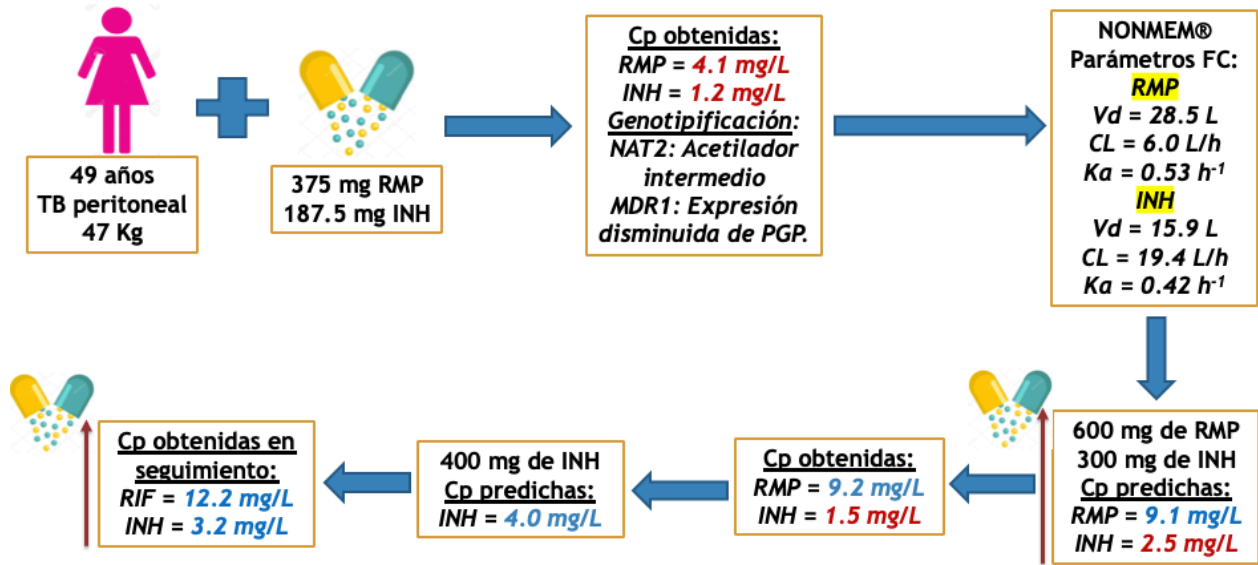


Figura 10.1 Esquema de monitorización de un paciente con ajuste de dosis (Paciente femenino con dos ajustes de dosis de RMP y tres ajustes de dosis de INH).