

Estudio de las variantes alélicas del gen CYP2C9 y monitorización clínica del valproato en plasma como fundamento de la Medicina Personalizada

Angel Alvarado-Yarasca^{1,6}, Luis Sullón Dextre², Alberto Salazar-Granara², Berta Loja Herrera²,
Jessica Miyasato M.³, César Li-Amenero⁴, Rosa Miguel-Ato⁵, Luis Quiñones Sepúlveda⁶,
Nelson Varela Figueroa⁶, Oscar Espinoza Alegre⁷

Resumen

Objetivo: Determinar las variantes alélicas del gen *CYP2C9* y la monitorización clínica del valproato en plasma como fundamento de la Medicina Personalizada. **Material y métodos:** Se utilizaron reactivos GR, estándar VPA USP y kit de extracción de ADN. Se determinó las variantes alélicas por Real Time PCR utilizando sondas TaqMan, y las concentraciones séricas por espectrofotometría UV/Vis a 210 nm. El tipo de estudio fue experimental, observacional, prospectivo de corte transversal. Se incluyó a 55 pacientes ambulatorios del HSJ-Callao, con diagnóstico de epilepsia según la definición de la ILAE, y que recibían VPA en monoterapia y con inductores; todos firmaron el consentimiento informado en forma individual y voluntaria. **Resultados:** Se encontró 10 pacientes con variantes alélicas, 06 fueron metabolizadores intermedios (MI) y 04 lentos (ML); mientras que 45 son metabolizadores extensivos (ME). Las concentraciones plasmáticas en monoterapia fueron en MI de 136.23 mg/L (ND 5.92) y de 121.23 mg/L (ND 4.8) con inductores. En ML con monoterapia es de 141.4 mg/L (ND 6.55) y de 60.84 mg/L (ND 2.54) con inductores; para ME en monoterapia fue de 75.46 mg/L (3.28) y con inductores fue de 74.48 mg/L (ND 3.22). **Conclusiones:** Los resultados sugieren que las variantes alélicas *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* y los inductores enzimáticos tienen influencia sobre las concentraciones plasmáticas del VPA, por lo tanto, antes de iniciar la terapia farmacológica se debe genotipificar a los pacientes peruanos por ser mestizos y luego monitorizar el nivel terapéutico del VPA, y con ello iniciar la Medicina Personalizada.

Palabras clave: Variantes alélicas, *CYP2C9*, N/D, VPA, Medicina Personalizada.

Abstract

Objective: To determine the allelic variants of the *CYP2C9* gene and the clinical monitoring of valproate in plasma as the foundation of Personalized Medicine. **Material and methods:** GR reagents, VPA USP standard and DNA extraction kit were used. The allelic variants were determined by Real Time PCR using TaqMan probes, and the serum concentrations by UV / Vis spectrophotometry at 210 nm. The study design was experimental, observational, prospective and cross-sectional. 55 outpatient-care participants from HSJ-Callao were included, with a previous diagnose of epilepsy according to the definition of the ILAE, and who received VPA as monotherapy and with inducers; all the participants signed the informed consent individually and voluntarily. **Results:** We found 10 patients with allelic variants, 06 were intermediate (MI) and 04 slow metabolizers (ML); while 45 were extensive metabolizers (ME). Plasma concentrations for monotherapy in MI was 136.23 mg / L (ND 5.92) and 121.23 mg / L (ND 4.8) for MI with inducers. In ML with monotherapy was 141.4 mg / L (ND 6.55) and 60.84 mg / L (ND 2.54) in ML with inducers; for ME as monotherapy was 75.46 mg / L (3.28) and 74.48 mg / L (ND 3.22) in ME with inducers. **Conclusions:** The results suggest that the allelic variants *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* and the enzymatic inducers have an influence on the plasma concentrations of VPA, therefore, Peruvian patients should be genotyped for having a multiracial origin, before initiating their pharmacologic treatment, and then monitor the therapeutic level of the VPA, and with that data start Personalized Medicine.

Keywords: Allelic variants, *CYP2C9*, N/D, VPA, Personalized Medicine.

¹Departamento de Biología y Química, Facultad de Ingeniería, Universidad San Ignacio de Loyola, USIL, Lima Perú. ²Instituto de Investigación, Facultad de Medicina, Universidad de San Martín de Porres, USMP, Lima-Perú. ³Master Medic ERS. ⁴Departamento de Psiquiatría, Hospital Nacional Víctor Larco Herrera, Lima-Perú. ⁵Sección de Posgrado de Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Lima-Perú. ⁶Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁷Fundación Instituto Hipólito Unanue, FIHU.

Introducción

La Medicina Personalizada (MP) implica hacer el tratamiento farmacoterapéutico en el paciente correcto, en el momento correcto y con la dosis correcta, fundamentada en dos ciencias básicas, la Farmacocinética Clínica y la Farmacogenética, a la vez considerando el mestizaje, la etnia y la nutrigenómica^(1,4). Mediante la Farmacocinética Clínica se monitoriza que los fármacos alcancen una concentración promedio estable; y mediante la Farmacogenética se estudia el genotipo para determinar el fenotipo metabólico, todo ello, permite mantener concentraciones plasmáticas dentro del margen terapéutico, minimizando las reacciones adversas y optimizando la terapia farmacológica⁽¹⁾.

En la práctica clínica se conoce que, en general, los fármacos son eficaces entre un 25 a un 60% de los pacientes⁽⁵⁾. Esta variabilidad entre individuos es multifactorial, pero la base genética es responsable entre un 25 a un 95%, lo que lleva a una baja o alta concentración plasmática del fármaco, en especial para fármaco de estrecho margen terapéutico, como los anticonvulsivantes^(1,5), dentro de ellos, se encuentra el ácido valproico, que debe ser monitorizado para garantizar su seguridad y eficacia⁽⁶⁾.

El ácido valproico es una molécula ácida ramificada^(7,8), con un pKa de 4,8⁽¹⁾ que se absorbe rápidamente después de una dosis oral, alcanzando una concentración plasmática máxima de (C_{máx}) 23,5-25,3 mg/l, con un tiempo máximo (t_{máx}) de 1,5-16,4 horas y un ABC_{0-∞} de 626-831 mg.h/l^(9,10). La unión a proteínas plasmáticas (UP) en un adulto es de 85-95%, en los ancianos es de un 80-90%⁽¹⁾, con un t_{1/2} de 5-20 horas^(1,11), mientras que el valproato de sodio tiene un t_{1/2} de 7-12,7 horas^(1,12); el Vd en el adulto de 0,10-0,19 l/kg y en el niño de 0,20-0,30 l/kg⁽¹⁾. Se metaboliza por fase I por el proceso de oxidación y con participación de la *CYP2C9*^(1,13,14), *CYP2C19*^(1,13), y por la *CYP2A6B*^(13,14).

Los genes que codifican para enzimas de la subfamilia *CYP2C* están situados en el brazo largo del cromosoma 10 en la región q24 (10q24)^(15,16). El gen *CYP2C9* constituye a la isoenzima que metaboliza aproximadamente el 15% de fármacos⁽⁵⁾ y presenta más de 35 variantes, que representan polimorfismos de nucleótido simple, SNP^(16,17), de ellas seis variantes alélicas son las principales, el alelo implicado en el metabolismo extensivo o wild type (ME), es el *CYP2C9*1* con una actividad enzimática del 100%, los alelos implicados en el metabolismo lento (ML), son el *CYP2C9*2* que presenta una mutación de C por T en la posición 430 del exón 3 (430C>T, cambio Arg144Cys, rs1799853) con una actividad del 12% respecto al wild type debido a una menor interacción con el cofactor, el *CYP2C9*3* presenta una mutación de A por C en la posición 1075 del exón 7 (1075A>C, cambio Ile359Leu, rs1057910) con una actividad del 5% debido a una variación en el sitio de unión al sustrato (15,16,17,18), el *CYP2C9*4* presenta la mutación T por C en la posición 1076 del exón 7 (1076T>C, cambio Ile359Thr, rs56165452), el *CYP2C9*5* presenta la mutación C por G en la posición 1080 del exón 7 (1080C>G, cambio Asp360Glu, rs28371686) y el *CYP2C9*8*

presenta la mutación G por A en la posición 449 del exón 3 (449G>A, cambio Arg150His, rs7900194)^(1,16,19,20). Los alelos implicados en el metabolismo intermediario (IM) se generan cuando se presenta un alelo de función extensiva con otro de función reducida (*CYP2C9*1/*2* o *CYP2C9*1/*3*) y un metabolizador lento (LM) se genera cuando se presenta los dos alelos de función reducida (*CYP2C9*2/*2*, *CYP2C9*3/*3* ó *CYP2C9*2/*3*)^(16,17,21).

En nuestro país no se ha reportado estudios del nivel plasmático del ácido valproico y de las variantes alélicas del gen *CYP2C9*, habiéndose hecho una revisión en el PubMed-NCBI.

El objetivo de este estudio fue determinar las variantes alélicas del gen *CYP2C9* y la monitorización clínica del valproato en plasma como fundamento de la Medicina Personalizada.

Material y métodos

Materiales y reactivos: Los materiales utilizados fueron los tubos Vacutest, tubos de lisis PLP, tubos de recepción, tubos de elución, filtros de jeringa Acrodisc PSF y micropipetas automáticas; entre los reactivos utilizados fueron metanol QP, ácido fosfórico 1M, n-hexano, trietilamina 0.5%, kit de extracción de ADN y estándar USP de AVP.

Equipos e instrumentos: Vórtex, Espectrofotómetro Shimadzu UV/vis, Denovix DS-11 FX Serie Spectrophotometer, Real Time STRATAGENE Mx3000P de Agilent Technologies.

Muestras de estudio: Se obtuvo células de la mucosa oral mediante hisopado y la sangre de 55 pacientes con diagnóstico de epilepsia según la definición de la ILAE, categorizado como voluntarios con edades que comprendían entre 19 y 63 años (media 38,75, DE 12,12), y que estaban recibiendo ácido valproico (VPA) en monoterapia a una dosis de 1500-2000 mg/día o en combinación con otros fármacos antiepilépticos, tales como carbamazepina (CBZ), fenobarbital (PB) y fenitoína (PHT).

Técnica y metodología de la extracción de las muestras biológicas: Las muestras de sangre se colectaron como parte de la rutina del tratamiento. Todas las muestras sanguíneas se colectaron en tubos Vacutest de 3 ml, el mismo que se realizó después de cuatro semanas de tratamiento, es decir, luego de alcanzar la concentración plasmática en el estado estacionario, en condiciones de ayuno, entre las 7:00-9:00 am., y con no menos de 10 horas después de la última toma de la dosis y antes de la administración del medicamento del presente día^(1,22, 23). El hisopado se realizó el mismo día de la extracción de las muestras de sangre.

Método de cuantificación: Para la cuantificación del VPA, se utilizó el método de Amini H, et al.,⁽²⁴⁾ y Chen Z, et al.,⁽²⁵⁾, modificado: primero se centrifugó 3 ml de sangre de cada

paciente a 8000 rpm por 10 min, luego se midió 1 ml de suero, al cual se adicionó 50 μ L de metanol QP y se centrifugó a 8000 rpm por 5 min. Luego se mide 750 μ L del suero, adicionándose 50 μ L de H_3PO_4 1 M y 3.5 mL de n-hexano, y se homogenizó en un vórtex por espacio de 2 min, y se centrifugó a 12000 rpm por 3 min. Después se separó la capa orgánica que queda en la parte superior del tubo ($\rho=0,655$ g/mL), el cual se transfirió a otro tubo, y se adicionó 100 μ L de trietilamina al 0.5% y se homogenizó en vórtex por 3 min, se reposó a temperatura ambiente por 1 min. y se descartó la fase orgánica. La fase acuosa obtenida se transfirió a un tubo de 1.5 ml y se centrifugó a 11300 rpm durante 3 min., la parte superior orgánica se descartó por completo. La fase acuosa obtenida, se analizaron por triplicado a una longitud de onda de 210 nm en el Espectrofotómetro Shimadzu UV/vis; previamente se realizó una curva de calibración a una concentración de 10, 20, 30, 50, 60, 80, 90 y 100 mg/L.

Método de determinación de las variantes alélicas:

El DNA genómico se cuantificó utilizando el equipo Denovix DS-11 FX Serie Spectrophotometer, obteniendo un valor superior de 1.7 mediante una relación de absorbancias 260/280 nm.

La determinación de los SNPs se realizó mediante discriminación alélica utilizando sondas TaqMan. Con este fin el DNA genómico aislado de cada paciente voluntario, fue amplificado por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Real Time PCR) utilizando sondas TaqMan® (AppliedBiosystems, Foster City, CA, USA) cuyos partidores incluyen dos sondas específicas, una para el alelo silvestre y otra para el alelo con la mutación, las sondas están marcadas con fluoróforos y presentan las siguientes secuencias contexto: CYP2C9*2 [rs1799853 secuencia (fluoróforos VIC/FAM GATGGGGAAGAGGAGCATTGAGGAC[C/T] GTGTTCAAGAGGAAGCCCGCTG CCT)] y para CYP2C9*3 [rs1057910 secuencia (VIC/FAM)TGTTGTCACGAGGTCCAGAGATAC (C/A)TTGACCTTCTCCCCACCAGCCTGCC.

Tipo y diseño de investigación: Se realizó un estudio observacional, prospectivo de corte transversal.

Consentimiento informado: Luego de escuchar las explicaciones sobre los objetivos, la importancia y la aplicación del estudio en la salud pública, firmaron el consentimiento informado en forma individual y voluntaria, siendo registrados como pacientes voluntarios⁽¹⁾.

Criterios de inclusión y exclusión: Se incluyeron pacientes con diagnóstico de epilepsia que recibían tratamiento con ácido valproico como monoterapia y con antiepilépticos de primera línea (carbamazepina, fenitoína y fenobarbital). Se excluyeron a todos aquellos con antecedentes de insuficiencia renal, con disfunción hepática y pacientes embarazadas^(1,22,26).

Aspectos éticos: El presente estudio se realizó considerando los principios de Buenas Prácticas Clínicas (BPC) de acuerdo a las pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos, y además garantizamos la confidencialidad y el anonimato de los datos de los pacientes voluntarios. La información obtenida solo se utilizará con fines académicos y científicos^(1,17).

Análisis de datos: Los resultados se registraron en un instrumento de colección de datos, posteriormente se tabuló en una base de datos para analizarse con el programa informático Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 20,0 para Windows.

Se utilizó el equilibrio de Hardy-Weinberg para encontrar el valor de χ^2 se calcula con los números observados y esperados, el cual debe ser menor a 3.84 con 1 grado de libertad y un $\alpha=0,05$.

Resultados

En la tabla 1 se reportan las características de los 55 pacientes voluntarios de 19 a 63 años de edad (media 38.75 años: SD12.12) y con un índice de masa corporal (IMC) media de 25.19 (SD 3.89).

En la tabla 2 se reporta sobre las variantes alélicas del CYP2C9*2 y CYP2C9*3, su frecuencia genotípica, su dosis total por día, las concentraciones plasmáticas medias del VPA en monoterapia y con inductores enzimáticos, y el análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 1

Características descriptivas de los pacientes voluntarios

Características	Análisis estadístico						
n= 55	Media	Varianza	SD	CV (%)	IC95%	LSC	LIC
Edad (años)	38.75	146.93	12.12	0.31	3.20	41.95	35.54
Peso (Kg)	65.29	131.96	11.49	0.18	3.04	68.32	62.25
Talla (m)	1.61	0.01	0.08	0.05	0.02	1.63	1.59
IMC (kg / m ²)	25.19	15.15	3.89	0.15	1.03	26.22	24.16

Tabla 2

Relación de las variantes alélicas del CYP2C9*2 y CYP2C9*3 con las concentraciones plasmáticas del ácido valproico

Variante alélica	Concentración sérica MT: 50-100 mg/L		Dosis (mg/d)	FG	Test de Hardy -Weinberg (Chi ² =14.25)			Test de Mann -Whitney (p>z)		
	VPA (mg/L)	VPA + IE (mg/L)			OB	ESP	X ²	OB	ESP	p (z= - 3.307)
ME CYP2C9*1/*1	75.46		1600	0.82	45	42	0.2	45	1260	0.0009
		74.483	1500							
MI CYP2C9*1/*2 CYP2C9*1/*3	136.23	121.23	1500	0.11	6	12	3.2	10	280	
ML CYP2C9*2/*2 CYP2C9*2/*3	141.4	60.84	1500	0.07	4	1	10.9			

Leyenda: ME (Metabolizador extensivo), MI (Metabolizador intermedio), ML (Metabolizador lento); MT (Margen Terapéutico), IE (CBZ, PHT, PB); OB (Observado), ESP (Esperado), FG (Frecuencia genotípica).

Se determinó el índice nivel sérico/dosis (N/D) en el estado estacionario, de acuerdo a la farmacoterapia y en base a las variantes alélicas. El valor del N/D del VPA en monoterapia para el adulto es de 4 L/kg⁽²⁷⁾, y con este valor se ha propuesto el nivel sérico del VPA dentro del Margen Terapéutico para los pacientes voluntarios peruanos, cuyos datos obtenidos se reportan en la tabla 3.

Discusión

Se evaluaron las características de los pacientes voluntarios de 19 a 63 años de edad (media 38.75 años: IC95% 41.95-35.54), con un peso medio de 65.29 kg (IC95% 68.32-62.25) y un índice de masa corporal medio de 25.19 kg/m² (IC95% 26.22-24.16), los cuales no modifican el efecto de las variantes alélicas sobre las concentraciones del VPA; sin embargo, debemos mencionar que de acuerdo a la OMS un IMC igual o superior a 25 kg/m² indica que los pacientes están en sobrepeso⁽²⁸⁾, lo que sugiere una de las reacciones adversas del VPA, ya en el año 2015 Fricke-Galindo I, et al., reportaron que el VPA es responsable del aumento del peso, tremor, pérdida de memoria, hepatotoxicidad y teratogénesis⁽²⁹⁾. Mientras que Plonka-Pótoraka E, et al., concluyeron que los pacientes con exceso de peso tratados con VPA están expuestos a un mayor riesgo de aterosclerosis, y que las alteraciones en los ácidos grasos libres probablemente dependan del control de las convulsiones y de los niveles de VPA⁽³⁰⁾.

En nuestro estudio, hemos encontrado que de los 55 pacientes voluntarios, 10 (18%) presentan alguna de las variantes alélicas, 6 (11%) son metabolizadores intermedios (CYP2C9*1/*2; CYP2C9*1/*3) y 4 (7%) son metabolizadores lentos (CYP2C9*2/*2; CYP2C9*2/*3). Las frecuencias

alélicas calculadas para los alelos MI y ML fueron de 0.11 y 0.07, respectivamente (Tabla 2). Aplicando la prueba Mann Whitney, en análisis bivariado se obtiene una probabilidad (p) igual a 0.0009, por lo tanto, la variación en la concentración del VPA difiere entre pacientes con y sin variación alélica. Al realizar un análisis multivariado de la relación variante alélica/ concentración sérica se obtiene una z de 3.07 y una p de 0.002, lo que indica que las variaciones de las concentraciones plasmáticas del fármaco están asociadas a la presencia de las variantes alélicas. Al hacer el test de Hardy-Weinberg, se verificó que el alelo CYP2C9*2 y CYP2C9*3 no están en equilibrio de Hardy-Weinberg, el análisis entregó un valor de Chi² de 14.25 mayor a 3.84 con 1 grado de libertad y un α=0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y por lo tanto las frecuencias observadas difieren significativamente de las esperadas, la cual puede deberse a mutaciones, migraciones y al tamaño pequeño de la muestra. En el estudio de Kiang T, et al., se describe que el VPA es metabolizado por fase I del VPA por acción de la CYP2C9*1, CYP2A6 y CYP2B6, generando el VPA 4-hidroxi y VPA 5-hidroxi⁽³¹⁾. En otros estudios se han reportado que las CYP2C9*2 (430C>T, Arg144Cys, rs1799853) tienen una actividad enzimática del 12%, y las CYP2C9*3 (1075A>C, cambio I1359Leu, rs1057910) presenta una actividad del 5% en relación a las variantes silvestres^(15,16,17,29). Se debe promover estos estudios en nuestro país, para identificar las variantes alélicas de la población mestiza.

El índice nivel sérico/dosis (N/D), cuantifica la relación dosis-nivel sérico alcanzado en el estado estacionario, la misma que se ha calculado dividiendo el nivel de concentración sérica en el estado estacionario (C_{ss} = mg/L) entre la dosis diaria (mg/Peso kg). El valor del N/D del VPA en monoterapia propuesto en la literatura para el adulto es de 4 L/kg⁽²⁷⁾. Con este valor se ha propuesto el nivel sérico del VPA dentro del Margen

Tabla 3

Índice de nivel dosis (N/D) y nivel sérico del VPA dentro del margen terapéutico (MT) para los peruanos

Tipo de Farmacoterapia	Índice nivel sérico/dosis ND = L/Kg			Nivel sérico del VPA dentro del MT Nivel Css (mg/L)		
	MI	ML	ME	MI	ML	ME
Monoterapia VPA	5.92	6.55	3.28	30.95	28.78	29.29
VPA + Inductores	4.80	2.54	3.22	34.50	31.73	32.05

Terapéutico (MT) para los pacientes voluntarios peruanos, siendo calculado con la siguiente ecuación: Nivel C_{ss} = (Dosis única/Peso kg) x 4 (Tabla 3). Observamos que el N/D y el nivel sérico dentro del MT para los MI (5.92; 30.95 mg/L), ML (6.55; 28.78 mg/L) y para los ME (3.28; 29.29 mg/L) se correlacionan. Al analizar el tratamiento con inductores enzimáticos (CBZ, PHT y PB) se observa la influencia del inductor sobre el VPA. Estos valores encontrados en nuestra investigación, se podría deber a lo descrito por Sánchez A, et al., quienes mencionan que el N/D varía entre distintos pacientes y poblaciones en función de la genética, farmacocinética (momento de la toma de la muestra, intervalo de administración del fármaco, adherencia del tratamiento, cumplimiento o no de la terapia farmacológica), fisiología y patología del paciente (edad, fiebre, menstruación, embarazo, parto, disfunción hepática y renal), politerapia (interacciones con inductores e inhibidores enzimáticos). Siendo mayor el ND en monoterapia que en terapia farmacológica con inductores enzimáticos (PHT, PB, CBZ, primidona), ya que estos inducen el metabolismo rápido del VPA⁽²⁷⁾. Se debe mencionar que el N/D nos predice que el nivel sérico hipotético alcanzado, es con una dosis teórica de 1 mg/kg y se utiliza para el ajuste de dosis y detección del incumplimiento en los fármacos con cinética lineal⁽²⁷⁾. En el estudio realizado por Jogamoto T, et al., se observó que el uso concomitante del topiramato con VPA, induce al desarrollo de anorexia grave y trombocitopenia, debido a una elevada

concentración sérica del VPA⁽³²⁾. Mientras que Milosheska D, et al., proponen que se debe monitorizar las concentraciones séricas del VPA y en base a ello identificar los efectos adversos relacionados con la concentración⁽³³⁾. En el estudio de Cotuá-Urzola J, et al., se reporta que las concentraciones plasmáticas media (64,94 mg/L) y el N/D del ácido valproico (N/D 4,32), disminuyen en los pacientes que son tratados con fármacos inductores enzimáticos⁽¹⁾. Los pacientes peruanos por ser mestizos, deben ser tratados en forma individualizada, y solo tener como guía las concentración mínima efectiva (C_{me} = 50 mg/L) y la concentración máxima efectiva o techo nivel (C_{me} = 100 mg/L), ya que algunos pacientes pueden tener sus crisis bien controladas y otros con concentraciones dentro del margen terapéutico pueden presentar reacciones adversas⁽²⁷⁾.

Conclusiones

Nuestros resultados sugieren que las variantes alélicas *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* y los fármacos inductores enzimáticos tienen influencia sobre las concentraciones plasmáticas del ácido valproico, por lo tanto, antes de iniciar el tratamiento farmacológico se debe genotipificar a los pacientes peruanos por ser mestizos y luego monitorizar el nivel terapéutico del VPA, y con ello iniciar la Medicina Personalizada.

Referencias bibliográficas

1. Cotuá-Urzola J, Morales-Ortiz A, Delgado-Niño M, Muñoz-Jáuregui A, Quiñones-Sepúlveda L, Salazar-Granara A, Alvarado-Yarasca A. Determinación del nivel de dosis del ácido valproico e influencia de los fármacos inductores y no inductores enzimáticos en pacientes voluntarios de la ciudad de Mérida, Venezuela. *Horiz Med* 2017;17(3):29-34.
2. Bravo S, Caminos J, Eslava J. Medicina personalizada: farmacogenómica y farmacoeigenética. *Rev Col Anestesiología*. 2011;39(3):308-313.
3. Medrano A. Medicina personalizada: hacia un nuevo modelo en la práctica médica. *Arch Neurocienc (Mex)*. 2012;17(2):129-131.
4. Precision Medicine Initiative (PMI) Working Group Report to the Advisory Committee to the Director, NIH. The Precision Medicine Initiative Cohort Program-Building a Research Foundation for 21st Century Medicine. Estados Unidos, 2015.
5. Miranda C, Roco A, Garay J, Squicciarini V, Tamayo E, Agúndez J, García-Martin E, Sasso J, Saavedra I, Cáceres D, Quiñones L. Determinación del polimorfismo de *CYP2C9*2* y su relación con la farmacocinética de acenocumarol en voluntarios sanos. *Rev Chil Cardiol* 2011;30:218-224.
6. Machín E. Fenotipos metabólicos de dextrometorfano y losartán, genotipos *CYP2D6* y *CYP2C9* en la población ecuatoriana respecto a la española [tesis]. Badajoz (España): Universidad de Extremadura; 2012;179.
7. RET. Farmacología básica del valproato. *Revista de Toxicomanías*. [Internet]. 2006 [citado 25 de abril de 2017];(47):11-33. Recuperado a partir de: http://www.catbarcelona.com/uploads/rets/47_2.pdf
8. Gamez G, Zhu L, Disko A, Chen H, Azov V, Chingin K, et al. Real-time, *in vivo* monitoring and pharmacokinetics of valproic acid via a novel biomarker in exhaled breathw. *Chem. Commun*. 2011;47:4884-4886.
9. Dutta S, Zhang Y, Lee L, O'Dea R. Comparison of the

- Bioavailability of 250 and 500mg Divalproex Sodium Extended-Release Tablets in Healthy Volunteers. *Biopharm. Drug Dispos.* 2004;25(8):353-357.
10. **Dulac O, Alvarez JC.** Bioequivalence of a New Sustained-Release Formulation of Sodium Valproate, Valproate Modified-Release Granules, Compared with Existing Sustained-Release Formulations After Once- or Twice-Daily Administration. *Pharmacotherapy.* 2005;25(1):35-41.
 11. **Lana F, Marti-Bonany J, Fuster J, de León J.** Reduction in serum concentration of valproic acid secondary to the intake of ibuprofen as an example of valproic acid auto-induction metabolism. *Actas Esp Psiquiatr.* 2016;44(4):136-144.
 12. **Fujisaki Y, Tsukune T, Funyū M, Okumura M, Ukigaya T, Sugibayashi K.** Development of Sustained-Release Tablets Containing Sodium Valproate: *In Vitro* and *In Vivo* Correlation. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 2006;32(2):207-217.
 13. **Aldaz A, Ferriols R, Aumente D, Calvo MV, Farre MR, García B, et al.** Monitorización farmacocinética de antiepilépticos. *Farm Hosp* 2011;35(6):326-339.
 14. **Sabin O, Pop R, Trifa A, Buzoianu A.** The influence of *CYP2C9*, *CYP2C19* and *ABCB1* polymorphisms on the plasma concentrations of valproic acid in epileptic patients. *Human y Veterinary Medicine International Journal of the Bioflux Society* 2016;8(1):29-33.
 15. **Rosemary J, Adithan C.** The pharmacogenetics of *CYP2C9* and *CYP2C19*: ethnic variation and clinical significance. *Curr Clin Pharmacol* 2007;2:93-109.
 16. **Saldaña-Cruz A, Sánchez-Corona J, Márquez de Santiago D, García-Zapién A, Flores-Martínez S.** Farmacogenética y metabolismo de fármacos antiepilépticos: implicación de variantes genéticas en citocromos P450. *Rev Neurol* 2013;56(9):471-479.
 17. **Sasso J.** Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos y la respuesta clínica-farmacocinética de ácido valproico. [Tesis Doctoral]. Santiago (Chile): Universidad de Chile; 2016. 68P.
 18. **Grover S, Gourie-Devi M, Baghel R, Sharma S, Bala K, Gupta M, et al.** Genetic profile of patients with epilepsy on first-line antiepileptic drugs and potential directions for personalized treatment. *Pharmacogenomics.* 2010;11(7):927-941.
 19. **Quiñones L, Roco A, Cayún J, Escalante P, Miranda C, Varela N, Meneses F, Gallegos B, Zaruma-Torres F, Lares-Asseff I.** Farmacogenómica como herramienta fundamental para la medicina personalizada: aplicaciones en la práctica clínica. *Rev Med Chile* 2017;145:483-500.
 20. **Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC).** PharmGkb. [Internet]. [citado el 24 de septiembre de 2017]. Disponible en: <https://cpicpgx.org/>
 21. **Caudle K, Rettie A, Whirl-Carrillo M, Smith L, Mintzer S, Lee M, Klein T, Callaghan T.** Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP2C9 and HLA-B Genotype and Phenytoin Dosing *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(5):542-548.
 22. **Adín J, Cruz M, Blanco Y, Herranz J, Armijo J.** Topiramate Serum Concentration-to-Dose Ratio: Influence of Age and Concomitant Antiepileptic Drugs and Monitoring Implications. *Ther Drug Monit.* 2004;26(3):251-257.
 23. **Büdi T, Tóth K, Nagy A, Szever Z, Kiss A, Temesvári M, et al.** Clinical significance of CYP2C9-status guided valproic acid therapy in children. *Epilepsia.* 2015;56(6):849-855.
 24. **Amiri H, Javan M, Ahmadiani A.** Development and validation of a sensitive assay of valproic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography without prior derivatization. *Journal of Chromatography B.* 2006;830:368-371.
 25. **Chen Z, Wang X, Wang H, Chen S, Zhou L, Li J, Shu W, Zhou J, Fang Z, Zhang Y, Huang M.** Simultaneous determination of valproic acid and 2-propyl-4-pentenoic acid for the prediction of clinical adverse effects in Chinese patients with epilepsy. *Seizure* 2012;21:110-117.
 26. **Hernández L, Marín K.** Interacciones medicamentosas de los anticonvulsivantes de primera línea con antipsicóticos y/o antidepresivos. *Repert Med Cir.* 2017;26(2):78-84.
 27. **Sánchez A, García R, Durán J, Onsurbe I.** Monitorización terapéutica de niveles séricos de antiepilépticos en Atención Primaria. *Semergen.* 2005;31(9):424-433.
 28. **OMS.** Estadísticas Sanitarias Mundiales 2005. Ediciones de la OMS, 2005. 96p.
 29. **Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, LLerena A, López-López M.** Farmacogenética de reacciones adversas a fármacos antiepilépticos. *Neurología* 2015:1-12.
 30. **Plonka-Póltoraka E, Zagrodzki P, Kryczyk-Kozioł J, Westermarck T, Kaipainen P, Kaskid M, Atroshi F.** Does valproate therapy in epileptic patients contribute to changing atherosclerosis risk factors? The role of lipids and free fatty acids. *Pharmacological Reports.* 2016;68:1339-1344.
 31. **Kiang T, Ho P, Anari M, Tong V, Abbott F, Chang T.** Contribution of *CYP2C9*, *CYP2A6*, and *CYP2B6* to Valproic Acid Metabolism in Hepatic Microsomes from Individuals with the *CYP2C9**1/*1 Genotype. *Toxicological Sciences* 2006;94(2):261-271.
 32. **Jogamoto T, Yamamoto Y, Fukuda M, Suzuki Y, Imai K, Takahashi Y, Inoue Y, Ohtsuka Y.** Add-on stiripentol elevates serum valproate levels in patients with or without concomitant topiramate therapy. *Epilepsy Res.* 2017;130:7-12.
 33. **Milosheska D, Grabnar I, Vovk T.** Dried blood spots for monitoring and individualization of antiepileptic drug treatment. *Eur J Pharm Sci.* 2015;30(75):25-39.