



TESIS DOCTORAL

VARIABILIDAD INTERINDIVIDUAL EN EL METABOLISMO DEL PARACETAMOL

MARÍA DE LAS OLAS CEREZO ARIAS

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMARCADORES DE SALUD Y ESTADOS
PATOLÓGICOS (R012)**

Conformidad del director/a y codirector/a en su caso

Dr. José Augusto García-Agúndez Pérez-Coca

Dra. Elena García Martín

Esta tesis cuenta con la autorización del director/a y codirector/a de la misma y de la Comisión Académica del programa. Dichas autorizaciones constan en el Servicio de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Extremadura.

2023

AGRADECIMIENTOS:

A mis directores de tesis José A. García-Agúndez Pérez-Coca y Elena García Martín, por haberme dado la oportunidad de iniciarme en el mundo de la investigación y haber podido elaborar esta Tesis gracias a su ayuda y dedicación a lo largo de todos estos años.

A mis compañeros de laboratorio, Carmen, Gara, Yolanda, Blanca, Juan Gonzalo y Jhon Didier, que hicieron que las horas de trabajo en el laboratorio se convirtieran en momentos inolvidables.

Además, otros miembros del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, en especial a Willy.

A Manuel, por su gran ayuda con la bioestadística.

Al personal de la UCI del Hospital Perpetuo Socorro, en especial a médicos intensivistas y personal de enfermería, que me ayudaron con la extracción de muestras de sangre a los pacientes.

A mis compañeros de la UCI del Hospital Universitario de Badajoz, por permitirme disfrutar de una reducción de jornada este último año para terminar esta Tesis.

A los pacientes y sus familiares que dieron el consentimiento para participar en este estudio.

A mi familia, al cariño y ánimo de mis padres y hermanos, a Jesús por haberme apoyado en todo momento de forma incondicional, a pesar de las adversidades, y a mis tres hijos, Carlos, Álvaro y Sergio, que son el motor de mi vida.

INDICE

AGRADECIMIENTOS:	3
1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1. BIOTRANSFORMACIÓN DE FÁRMACOS: ENZIMAS DE FASE I Y II.....	7
1.2. GLUCURONIDACIÓN	8
1.2.1. UGT	8
1.2.2. UGT Y PARACETAMOL:	12
1.3. POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LAS ENZIMAS UGTs RELACIONADOS CON EL PARACETAMOL: 14	
1.3.1. UGT1A1	15
1.3.2. UGT1A6	18
1.3.3. UGT1A9	20
1.3.4. INDUCCION ENZIMATICA DE LAS UGT.....	23
2. OBJETIVOS	25
3. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
3.1. PACIENTES	27
3.2. MATERIAL.....	28
3.2.1. REACTIVOS:.....	28
3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO	28
3.3. MÉTODOS	29
3.3.1. TÉCNICAS ANALÍTICAS	29
3.3.2. MÉTODOS ESTADÍSTICOS:.....	36
4. RESULTADOS.....	41
4.1. FARMACOCINÉTICA DEL PARACETAMOL:.....	41
4.2. ANÁLISIS GENÉTICOS	56
4.3. FARMACOCINÉTICA EN FUNCIÓN DE LOS GENOTIPOS:	58
4.4. MODELO BICOMPARTIMENTAL.....	65
5. DISCUSIÓN:.....	73
6. CONCLUSIONES	79
7. BIBLIOGRAFÍA:	81

ÍNDICE DE FIGURAS:

Fig. 1. Biotransformación de fármacos y otros xenobióticos, vía oxidación y conjugación (1).....	7
Fig.2. Ácido glucurónico.....	8
Fig. 3. Árbol filogenético de las UGTs humanas. (8).....	9
Fig. 4. Isoformas UGT funcionales en humanos, ratas y ratones (9).....	10
Fig. 5. Representación gráfica del locus UGT1A.....	11
Fig.6. Paracetamol o acetaminofén.	13
Fig.7. NAPQI.....	13
Fig.8. Metabolismo del acetaminofén	14
Fig. 9. Inhibidores de la actividad de las enzimas UGTs.	23
Fig. 10. Sustancias que estimulan la actividad de las enzimas UGTs	24

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1. Principales variantes alélicas de UGT1A1.....	17
Tabla 2. Principales variantes alélicas de UGT1A6.....	19
Tabla 3. Principales variantes alélicas de UGT1A9.....	21
Tabla 4. Principales variantes alélicas que contienen cambios de aminoácido en las enzimas UGT1A1, 1A6 y 1A9.....	22
Tabla 7. Características de los pacientes.....	27
Tabla 8. Ensayos TaqMan utilizados en este estudio.	33
Tabla 9. Variantes alélicas de UGT1A6.....	33
Tabla 10. Relación de las variables con la farmacocinética.	41
Tabla 11. Modelo monocompartimental.	41
Tabla 12. Modelo bicompartimental	42
Tabla 13. Efectos del sexo en la farmacocinética del acetaminofén.....	43
Tabla 14. Influencia del Índice de Masa Corporal (BMI) in la farmacocinética del paracetamol.	44
Tabla 15. Tratamientos de los Pacientes en las dos semanas previas al inicio del estudio	46
Tabla 16. Farmacocinética del paracetamol según el tratamiento farmacológico recibido antes del inicio del estudio.....	51
Tabla 17. Tratamiento farmacológico concomitante recibido después del inicio del estudio.....	53
Tabla 18. Farmacocinética del paracetamol según el tratamiento farmacológico concomitante con paracetamol.....	55
Tabla 19. Resultados de los análisis genéticos.	56
Tabla 20. Genotipos <i>UGT1A1</i>	56
Tabla 21. Genotipos <i>UGT1A6</i>	57
Tabla 22. Genotipos <i>UGT1A9</i>	57

Tabla 23. Farmacocinética del paracetamol según los diplotipos UGT1A6.	59
Tabla 24. Farmacocinética del paracetamol según genotipos UGT1A6.	61
Tabla 25. Farmacocinética del paracetamol según los diplotipos UGT1A9.	62
Tabla 26. Resultados de genotipos.....	63
Tabla 27. Farmacocinética del acetaminofén según la necesidad de terapia adicional con analgésicos.	64
Tabla 28. Genotipos UGT1A6 y UGT1A9 según la necesidad de tratamiento analgésico adicional.	65
Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos en modelo bicompartimental.....	65
Tabla 30. Parámetros farmacocinéticos según el IMC en modelo bicompartimental.....	68
Tabla 31. Parámetros farmacocinéticos según los genotipos <i>UGT1A6</i> en modelo bicompartimental. .	69
Tabla 32. Parámetros farmacocinéticos según los genotipos <i>UGT1A6</i> y sexo en modelo bicompartimental.....	70
Tabla 33. Parámetros farmacocinéticos según el número de alelos <i>UGT1A6</i> mutados.	71
Tabla 34. Distribución de los SNPs.....	76

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. BIOTRANSFORMACIÓN DE FÁRMACOS: ENZIMAS DE FASE I Y II

La biotransformación se define como el proceso por el que una sustancia es modificada químicamente en el organismo. Se refiere a una serie de diferentes procesos catalizados por enzimas, en los cuales el organismo convierte compuestos endógenos, xenobióticos y sustancias tóxicas en metabolitos que generalmente tienen menor actividad farmacológica y son excretados más fácilmente (1) (2). Véase la Figura 1.

Las reacciones asociadas con la biotransformación se clasifican tradicionalmente en dos grupos principales:

- **Las reacciones de fase I:** (reacciones de funcionalización), introducen en la molécula nuevos grupos funcionales y la hacen más polar. Tipos: oxidación, reducción, hidrólisis y eliminación de hidrógeno. Están catalizadas por diversas enzimas y ocurren mayoritariamente en la fracción microsomal hepática.
- **Las reacciones de fase II:** (reacciones de conjugación), agregan un compuesto endógeno (sulfato, aminoácidos, glutatión, metilo o ácido glucurónico) al metabolito de fase I o al fármaco original, haciéndolo más polar e hidrosoluble (3). Estas suelen ocurrir en la fracción citosólica hepática.

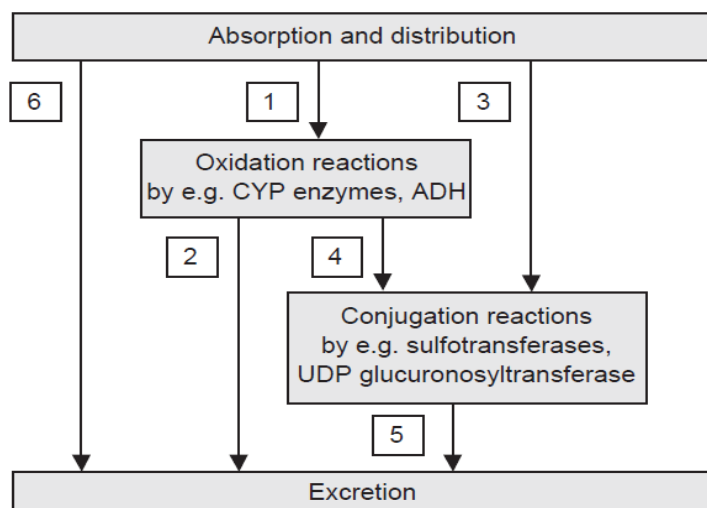


Fig. 1. Biotransformación de fármacos y otros xenobióticos, vía oxidación y conjugación

(1)

1.2. GLUCURONIDACIÓN

Entre las enzimas que catalizan las reacciones de conjugación se encuentran: las glutathione S-transferasas (GSTs), UDP-glucuronosiltransferasas (UGTs), sulfotransferasas (SULTs) y N-acetiltransferasas (NATs).

La glucuronidación es una de las principales conjugaciones y consiste en la transferencia de ácido glucurónico a un sustrato, por cualquiera de los varios tipos de UGT (Fig.2). Las UGTs, reconocen multitud de grupos funcionales, alrededor del 35% de los fármacos metabolizados por enzimas de Fase II sufren glucuronidación (4)

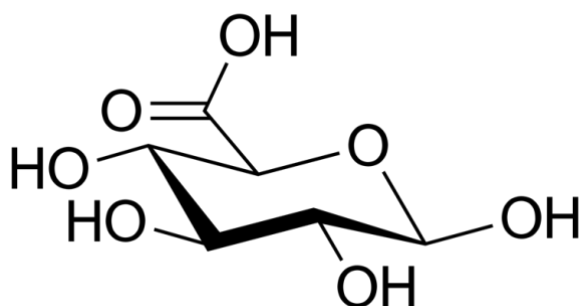


Fig.2. Ácido glucurónico.

1.2.1. UGT

La superfamilia de las UGTs se encuentra en la fracción microsomal de varios tejidos: hígado, riñón, piel, intestino y cerebro. Las UGTs humanas conjugan una gran variedad de sustancias endógenas y exógenas. Algunos ejemplos de sustratos endógenos de UGT incluyen: la bilirrubina, hormonas esteroides, hormonas tiroideas, los ácidos biliares y vitaminas liposolubles. Algunos ejemplos de sustratos exógenos incluyen: fármacos, carcinógenos químicos, contaminantes ambientales, y sustancias dietéticas (5).

1.2.1.1. Nomenclatura

La superfamilia UGT humana se divide en cuatro familias principales: UGT1, 2, 3 y 8, siendo las familias UGT1 y 2 las más importantes para las reacciones de glucuronidación, entre las que destacan las subfamilias UGT1A, UGT2A y UGT2B (6).

Las enzimas de cada familia tienen al menos el 50% de homología en sus secuencias de ADN, mientras que las enzimas de cada subfamilia tienen al menos un 60% de homología en sus secuencias (7) (Fig. 3).

Con respecto al sistema de nomenclatura (6), consta de un número que representa a la familia (por ejemplo, UGT1), una letra que indica la subfamilia (por ejemplo, UGT1A), y un número que indica el gen individual (por ejemplo, UGT1A1).

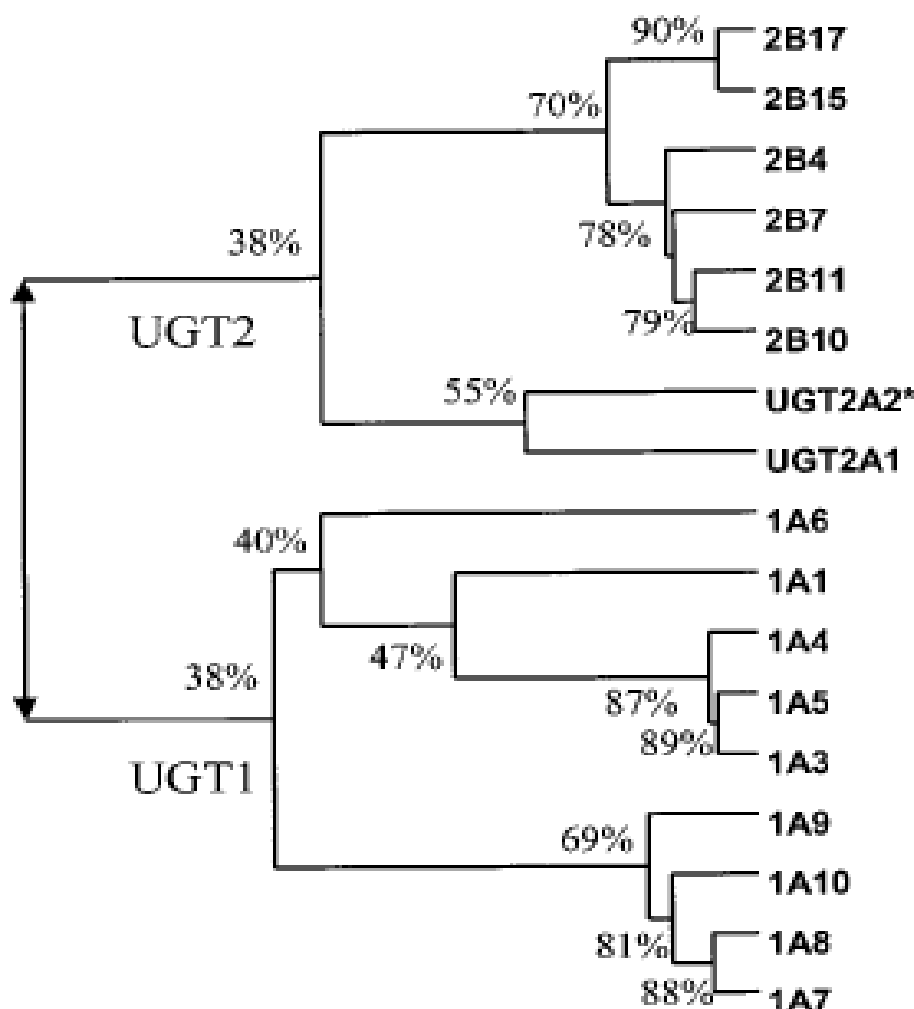


Fig. 3. Árbol filogenético de las UGTs humanas. (8)

Aunque existe una gran similitud entre humanos y roedores en los genes de la superfamilia UGT, la distribución de las distintas isoformas y la eficiencia metabólica en las distintas especies son extremadamente diferentes. Debido a la presencia de pseudogenes, existen algunas diferencias en las isoformas funcionales UGT entre las

distintas especies. La UGT1 funcional incluye nueve isoformas conocidas en humanos (UGT1A1 y UGT1A3-1A10), ocho en ratas (UGT1A1-1A3, UGT1A5-1A8 y UGT1A10) y nueve en ratones (Ugt1a1-1a2 y Ugt1a5-1a10). Las isoformas con los mismos nombres, pero de especies diferentes, pueden mostrar actividades metabólicas completamente distintas (Fig.4).

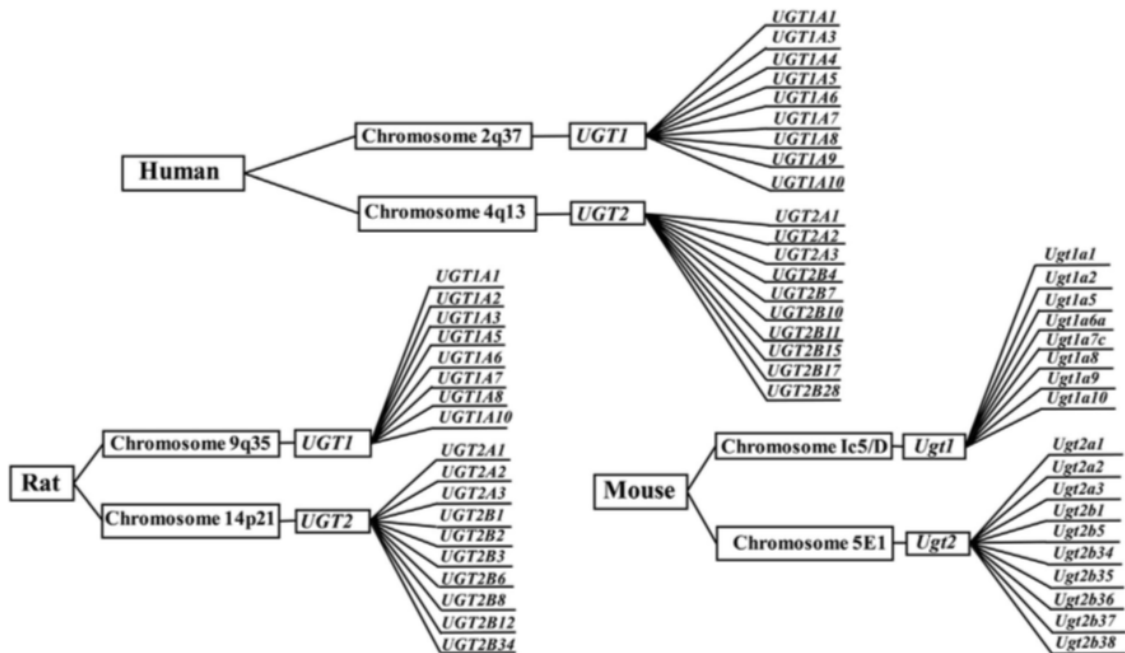


Fig. 4. Isoformas UGT funcionales en humanos, ratas y ratones (9)

1.2.1.1.1. Subfamilia UGT1A

Nos centraremos en la subfamilia UGT1A y particularmente en la UGT1A1, por ser relevante en el metabolismo del paracetamol. La subfamilia UGT1A es responsable de la conjugación de bilirrubina, fenoles, antraquinonas, flavonas, estriol y estradiol (10).

El locus *UGT1A* está ubicado en el cromosoma 2q37.1 y tiene cuatro exones comunes (del 2 al 5) y trece exones alternativos (A1-A13). Las combinaciones de un exón alternativo junto a los cuatro exones comunes condicionan la aparición de 13 transcritos (Fig. 5). Sin embargo, el locus *UGT1A* sólo codifica nueve proteínas potencialmente funcionales: UGT1A1 y UGT1A3-10. El resto de transcritos (1A2P, 1A11P-1A13P) corresponden a pseudogenes que no codifican proteínas (11).

Cada uno de los nueve posibles transcritos de ARN de proteínas puede incluir los exones variantes 5a, 5b o 5a más 5b, dando lugar a tres posibles ARNm y tres transcritos putativos.

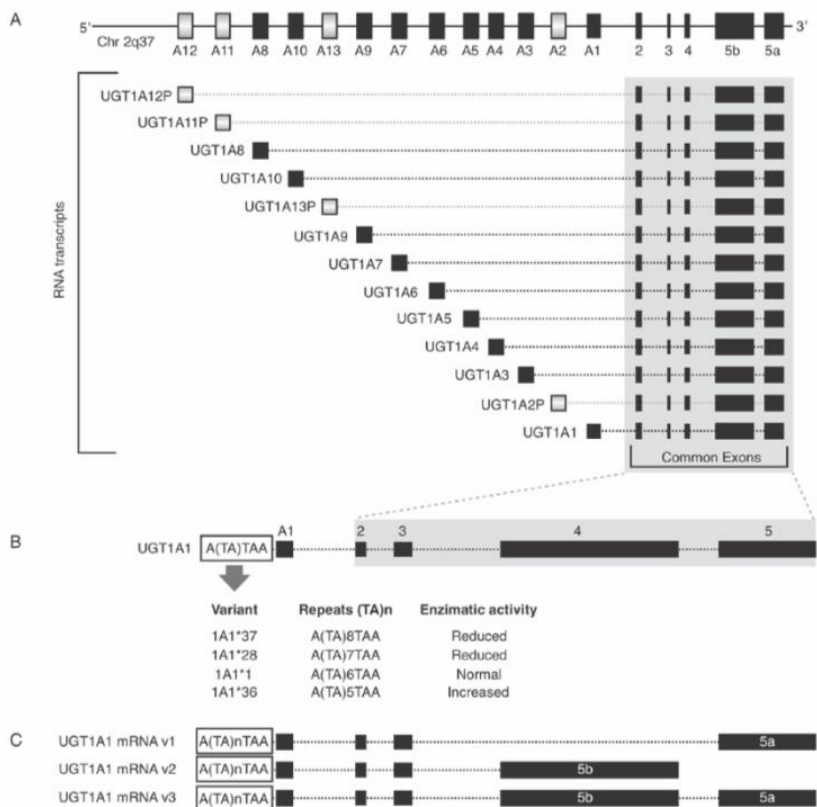


Fig. 5. Representación gráfica del locus UGT1A.

(A) El locus contiene exones alternativos (A1-A13) y 4 (2-5) exones comunes. (B) Variantes de UGT1A1 y su efecto sobre la actividad enzimática. (C) Exón 5 alternativo (5a, 5b, o 5b más 5a) generando variantes v1, v2 o v3.

1.2.1.2. Función

En general, las reacciones de glucuronidación catalizadas por las enzimas UGT convierten al fármaco en más hidrófilo y por lo tanto más fácil de excretar por orina (12). Además, en la mayoría de los casos, la glucuronidación suprime la actividad farmacológica, aunque hay excepciones, como la morfina (13) y el ácido retinoico (14).

Algunos sustratos son selectivos para algunas UGT específicas. Por ejemplo, la bilirrubina, es glucuronizada selectivamente por la UGT1A1, y los pacientes portadores de alelos homocigotos que expresan variantes alélicas deletéreas de UGT1A1 desarrollan hiperbilirrubinemia no conjugada grave, (síndrome de Crigler-Najjar), (15).

Sin embargo, la mayoría de los fármacos son glucuronizados por diversas UGT, debido a las similitudes estructurales y catalíticas de estas enzimas, en concreto el paracetamol es metabolizado por cuatro isoformas. Los factores que determinan la especificidad de sustrato para UGT no se conocen bien, y esta falta de especificidad podría ser por ciertas características del sustrato. Por ejemplo, las moléculas pequeñas e hidrofóbicas son glucuronizadas por varias UGT (16).

1.2.1.3. Distribución en tejidos

Las UGT se distribuyen en diversos tejidos, como el hígado, los riñones, el intestino delgado, el colon, el estómago, los pulmones, el cerebro, el corazón, los ovarios, los testículos, la próstata, las gónadas y la placenta (17) (18) (19) (20).

La isoforma UGT1A1 se expresa predominantemente (de mayor a menor nivel de expresión) en el hígado, en el tracto gastrointestinal y en el riñón. UGT1A6 se expresa predominantemente en el riñón, en el hígado y en el tracto gastrointestinal, y UGT1A9 principalmente en el riñón y en el hígado (<https://www.proteinatlas.org>).

1.2.2. UGT Y PARACETAMOL:

El Acetaminofén o Paracetamol (N-(4-hidroxifenil)acetamida, $C_8H_9NO_2$) (Fig.6), es un fármaco ampliamente usado como analgésico medio y antipirético. Este fármaco se metaboliza en hígado más de un 90% (21).

A dosis terapéuticas, la principal ruta de excreción del paracetamol es la glucuronidación, llevada a cabo especialmente por las enzimas UGT1A1, UGT1A6, UGT1A9 y UGT2B15 (cerca del 50% de los metabolitos urinarios totales), siendo UGT1A6 la más importante desde el punto de vista cuantitativo. (22).

Otras enzimas, como las sulfotransferasas SULT1A1, SULT1A3, SULT1A4, SULT1E1 y SULT2A1 contribuyen de una forma cuantitativamente importante al metabolismo de paracetamol, siendo SULT1A1 la más importante de ellas desde el punto de vista cuantitativo. (22), (23).

La tercera ruta metabólica, es cuantitativamente menos importante (menos del 10% del paracetamol), y se trata de la ruta oxidativa, llevada a cabo por las enzimas

CYP1A2, CYP2A6, CYP2D6, CYP2E1 y CYP3A4. Los productos de esta vía oxidativa son el 3-hidroxiacetaminofén, que se metaboliza posteriormente a 3-metoxiacetaminofén y posteriormente es conjugado a acetimidoquinona (NAPQI) (Fig.7), que es un metabolito tóxico. (24). (25).

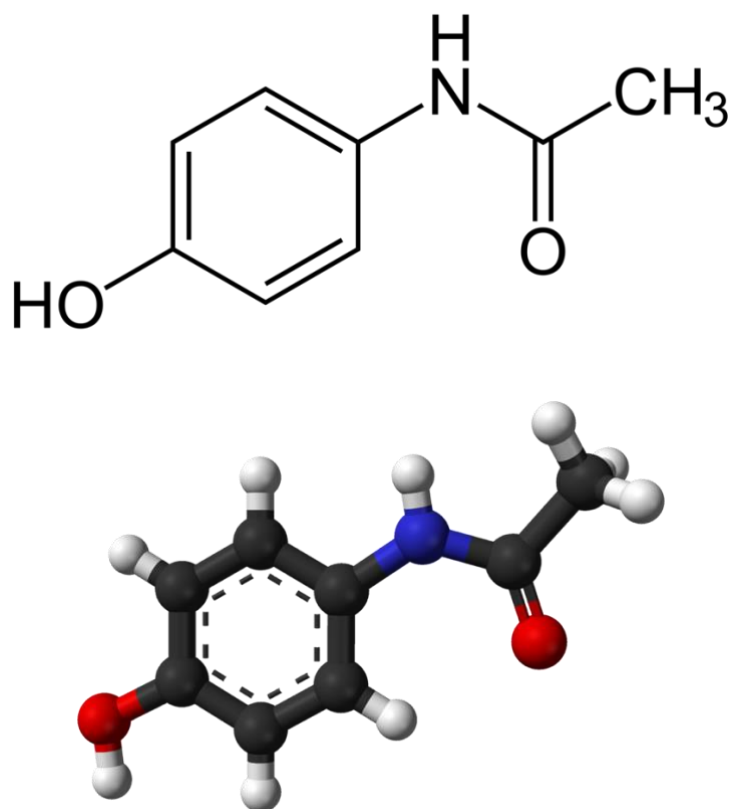


Fig.6. Paracetamol o acetaminofén.

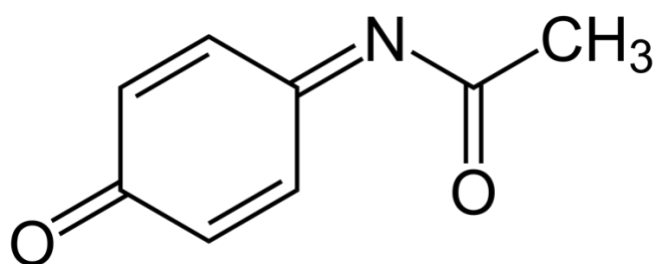


Fig.7. NAPQI

Sin embargo, en condiciones normales, la mayor parte del NAPQI es conjugado por las enzimas GSTM1, GSTP1 y GSTT1, siendo inactivado. En cambio, si la dosis del

paracetamol es suprafisiológica, hay aumento de producción de NAPQI, acumulándose y produciendo necrosis centrolobulillar hepática (Fig. 8).

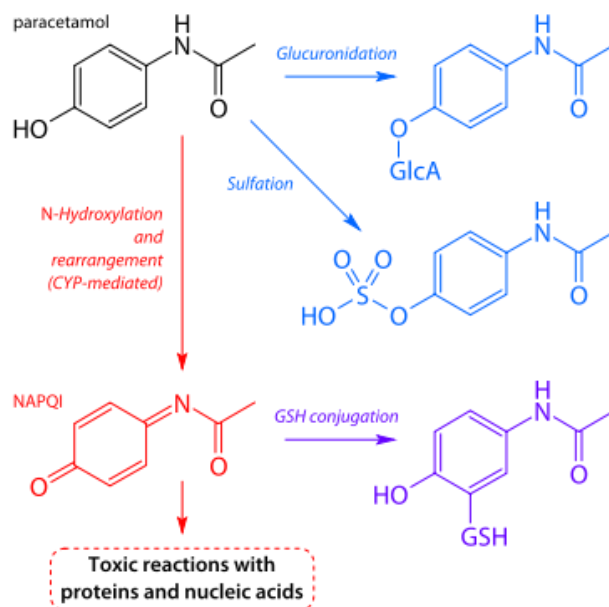


Fig.8. Metabolismo del acetaminofén

Existe una amplia variabilidad interindividual en el metabolismo de paracetamol y se ha postulado que puede deberse a variaciones en los genes implicados en las diversas etapas de su metabolismo (21), (26).

1.3. POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LAS ENZIMAS UGTs RELACIONADOS CON EL PARACETAMOL:

Las principales enzimas relacionadas con el metabolismo del paracetamol, por lo tanto, son las UGTs. Se han descubierto varios polimorfismos (dos o más formas variantes de una secuencia específica de ADN) en estas enzimas que producirían una disminución en su actividad.

Respecto a *UGT1A1*, un estudio llevado a cabo en 23 individuos ha mostrado que la variante *UGT1A1*28*, no afecta de forma significativa al metabolismo de este fármaco (27).

El polimorfismo rs8330 del gen *UGT1A1* se ha relacionado con un incremento en la capacidad de metabolizar paracetamol (28). Sin embargo, este polimorfismo no afecta

al área codificadora del gen y este estudio se basa en un número relativamente pequeño (n=48) de pacientes, por lo que hay que considerarlo como preliminar.

En otro estudio llevado a cabo en 15 individuos, se ha observado que cuando existe la variante *UGT1A6*2* y especialmente, si no existe la variante *UGT1A1*28*, los pacientes tienen valores menores de AUC comparados con los pacientes con genotipos homocigotos para el gen *UGT1A6* sin mutar (29).

Estudios centrados en otras enzimas UGT, como la *UGT2B15*, sugieren una relación de genotipos *UGT2B15*2B* (rs1902023) con reducción en el metabolismo de paracetamol (26).

1.3.1. UGT1A1

Esta enzima juega un papel secundario en el metabolismo de paracetamol. Su papel es muy relevante en el metabolismo de otros fármacos como irinotecan, (30), raloxifeno (31) y etopósido (32).

El gen que codifica las enzimas *UGT1A1* y las enzimas *UGT1A3* hasta *UGT1A10*, se encuentra en el locus *UGT1A*. Las distintas isoformas se obtienen por combinación de distintos exones. Las dos principales variantes son *UGT1A1*28* y *UGT1A1*6*.

La variante *UGT1A1*6* (rs4148323) es frecuente en poblaciones asiáticas y se ha demostrado que los portadores de esta variante en homocigosidad muestran una actividad enzimática del orden de un tercio de la actividad observada en no portadores (33). Su frecuencia es muy baja (0.001) en población europea, por lo que dicha variante no se ha incluido en este estudio.

La variante *UGT1A1*28* (rs8175347) consiste en una repetición de (TA) en la región promotora del gen que se relaciona con una disminución de la actividad transcripcional de aproximadamente el 70% (11), (34).

Su frecuencia en población europea es del orden del 25-30%. En un estudio previo, no se han observado diferencias en el metabolismo de paracetamol debidas a la presencia de la variante *UGT1A1*28* (27), aunque el tamaño muestral en dicho estudio es pequeño.

Otras variantes alélicas de *UGT1A1* son las variantes *UGT1A1*36* y *UGT1A1*37* que consisten en repeticiones (TA) en la región promotora del gen y que son exclusivas de poblaciones de origen africano (35), (36).

La siguiente Tabla muestra las principales variantes alélicas de *UGT1A1* y los SNPs que las definen:

Tabla 1. Principales variantes alélicas de UGT1A1.

Cambio de nucleótidos	-3275T>G	-364C>T	CA(TA)5TAA CA(TA)6TAA CA(TA)7TAA CA(TA)8TAA	211G>A	686C>A
Efecto en la proteína (NP_000454.1)	5' de UGT1A1; intrónico por otras UGT1As ej. UGT1A4	nearGene-5	Región promotora	G71R	P229Q
Posición GRCh38.p2)	g.233757013T>G	g.233759924C>T	g.233760233	g.233760498G>A	g.233760973C>A
Posición NG_002601.2	g.172270T>G	g.175181C>T	g.175490	g.175755G>A	g.176230C>A
rsID	rs4124874	rs887829		rs4148323	rs35350960
Variante					
*1	T	C	CAT	G	C
*6				A	
*27					A
*28			CATAT		
*36			C		
*37			CATATAT		
*80		T			
*80+*28		T	CATAT		
*80+*37		T	CATATAT		

1.3.2. UGT1A6

Existen 20 variantes alélicas de la enzima UGT1A6, que van desde la forma *UGT1A6*1A* (no mutada) hasta la forma *UGT1A6*9*. Las variantes *UGT1A6*1A* hasta *UGT1A6*1G*, difieren en mutaciones en la región promotora del gen, pero hay variaciones exónicas, rs6759892 (S7A), rs1105880 (L105L), rs2070959 (T181A), rs1105879 (R184S), y rs17863783 (V209V), que definen, en distintas combinaciones, los alelos *UGT1A6*2* a *UGT1A6*9*.

De entre ellas, la variante *UGT1A6*2A* se ha asociado con una actividad enzimática incrementada utilizando paracetamol como sustrato (37),(38).

Esta variante consiste en el cambio de los siguientes 5 nucleótidos: rs6759892 (S7A), rs1105880 (L105L), rs2070959 (T181A), rs1105879 (R184S), y rs7592281.

La Tabla siguiente resume las principales variantes alélicas de *UGT1A6*: (<https://www.pharmgkb.org/gene/PA37181/haplotype>)

Tabla 2. Principales variantes alélicas de UGT1A6

Cambio de nucleótidos	-1535G>A	-427G>C	-1377G>A	105C>T			19T>G	315A>G	541A>G	552A>C	IVS1+130 G>T		**S93S	-1710C>G		-652G>A	627G>T	**S103X	**R90H
rsID	rs124 74980	rs124 76197	rs104 45704	rs455 35938	IVS1+120 A>G	IVS1+142C>T	rs675 9892	rs110 5880	rs207 0959	rs110 5879	rs759 2281	IVS1+109C>T	279 A>G	rs126 23271	-1310del AGGAG	rs130 15720	rs178 63783	308C>A	269G>A
Localización / efecto	--	--	5' UTR	--	?	?	Ser7Ala	Leu105Leu	Thr181Ala	Arg184Ser	--	--		3'UTR		--	--		
Variante																			
*1a	G	G	G	C	A	C	T	A	A	A	G	C	A	C	insAGG AG	G	G	C	G
*1b	A	C																	
*1c		C																	
*1d	A	C	A																
*1e				T															
*1f					G														
*1g						T													
*2a							G	G	G	C	T								
*2c							G	G	G	C	T	T							
*2d							G	G	G	C	T		G						
*2e			A				G	G	G	C				G	delAGG AG	A			
*3a			A				G							G	delAGG AG	A			
*3b			A				G	G						G	delAGG AG	A			
*4a							G	G		C									
*4b							G	G		C							T		
*4c			A				G	G		C				G	delAGG AG	A			
*5									G										
*6							G	G	G	C	T							A	
*7							G	G	G	C	T								A
*8									G	C									
*9										C									

1.3.3. UGT1A9

Para el gen que codifica UGT1A9, existen 27 variantes alélicas que van desde la forma *UGT1A9*1A* hasta *UGT1A9*5*. Existe también numerosas variantes alélicas que difieren en mutaciones en la región promotora del gen, pero hay otras variantes que afectan a regiones codificadoras, algunas de las cuales inducen cambios de aminoácidos en las variantes *UGT1A9*3A*, **3B*, **4* y **5*.

Dos variantes han sido relacionadas con el paracetamol:

- Para la variante rs8330, que se sitúa en la región 3', los portadores de los genotipos CG y GG parecen tener un riesgo menor de fracaso hepático agudo cuando se tratan con paracetamol (28)
- Por otra parte, la variante rs887829, que es intrónica, los portadores del genotipo TT tienen mayor riesgo de apnea post-anestesia cuando son tratados con paracetamol y otros fármacos (39).

Ninguna de estas variantes define alelos de UGT1A9.

La siguiente tabla muestra las principales variantes alélicas de UGT1A9 y los SNPs que las definen.

Tabla 3. Principales variantes alélicas de UGT1A9

Cambio de nucleótido	118(dT) 9>10			-87G>A						IVS1+21 9A>T	IVS1+31 3C>A	IVS1+39 9T>C	IVS1+15 2G>A	IVS1+14 3C>T				**C3Y	98T>C	726T>G	766G>A	
rsID	rs38320 43	-440T >C	-331C >T	rs1786 8322	-1818T >C	-1887T >G	-665C >T	-2152C >T	-275T >A	rs27410 47	rs27410 48	rs27410 49	rs46638 71	rs45554 333	-5366G >T	-4549T >C	IVS1+19 0T >C	8G>A	rs7255 1330	rs6691 5469	rs5859 7806	
Variante																						
*1a																						
*1b	(dT)10																					
*1c		C	T																			
*1d	(dT)10	C	T																			
*1e				A																		
*1f	(dT)10	C	T		C																	
*1g		C	T			G																
*1h		C	T			G	T															
*1j		C	T		C																	
*1k	(dT)10	C	T		C		T															
*1l		C	T					T	A													
*1m	(dT)10	C	T					T														
*1n		C	T					T	T	A												
*1p		C	T		C			T														
*1q										T	A	T										
*1r										T	A		A									
*1s				A						T	A											
*1t										T	A		A	T								
*1u	(dT)10									T	A	T										
*1v								T	A	T	A	T			T	C						
*1w								T	A						T	C						
*1x																	C					
*2																		A				
*3a																			C			
*3b		C	T		C														C			
*4																					G	
*5																						A

A pesar del gran número de variantes de estas enzimas, son pocas las variantes que realmente han demostrado ser relevantes en el metabolismo de fármacos.

De entre ellas, las más destacadas, además de las formas silvestres son, por su frecuencia y su impacto funcional, *UGT1A1**6 (cuyo SNP es rs4148323), que causa una sustitución de aminoácido G71R, la variante *UGT1A1**27 (rs35350960), que causa una sustitución de aminoácido P229Q. Ambas se relacionan con una disminución funcional (40), [41].

Las variantes más destacadas de *UGT1A6* son las denominadas como *2, *3, *4, *5, *8 y *9 (41), (37), (42), (43). Estas variantes se diferencian por cuatro SNPs no sinónimos frecuentes en nuestra población. Las combinaciones aparecen en la Tabla de la Fig. 12. Respecto a *UGT1A9*, destaca la variante *UGT1A9**3 que tiene un efecto funcional dependiente del sustrato (44).

Tabla 4. Principales variantes alélicas que contienen cambios de aminoácido en las enzimas UGT1A1, 1A6 y 1A9.

Gen	Alelo	Identificadores de SNPs no sinónimos	Efecto en la secuencia	MAF en europeos del sur (gnomAD)
UGT1A1	*6	rs4148323	G71R	0.0009475
UGT1A1	*27	rs35350960	P229Q	0.0001723
UGT1A6	*2	rs6759892, rs1105880, rs2070959, rs1105879	S7A, L105L, T181A, R184S	0.4175 0.3747 0.3478 0.3737
UGT1A6	*3	rs6759892, rs1105880,	S7A, L105L	0.4175 0.3747
UGT1A6	*4	rs6759892, rs1105880, rs1105879	S7A, L105L, R184S	0.4175 0.3747 0.3737
UGT1A6	*5	rs2070959,	T181A,	0.3478
UGT1A6	*8	rs2070959, rs1105879	T181A, R184S	0.3478 0.3737
UGT1A6	*9	rs1105879	R184S	0.3737
UGT1A9	*3	rs72551330	M33T	0.0139

1.3.4. INDUCCION ENZIMATICA DE LAS UGT

Además de los factores genéticos, hay que tener en cuenta que las enzimas UGTs sufren fenómenos de inducción e inhibición por otros fármacos y por lo tanto tratamientos concomitantes con esos fármacos podrían modificar las actividades enzimáticas observadas *in vivo*.

La inducción enzimática de las UGTs esta mediada de manera directa y/o indirecta por el receptor nuclear CAR (constitutive androstene receptor) y probablemente también por PXR (pregnane X receptor), (45,46)(Sugatani et al., 2004),

Estos receptores son importantes en la respuesta farmacológica porque su activación por medicamentos u otros productos químicos conduce a un aumento de la expresión y de la capacidad funcional de las UGTs (45).

Los fármacos inmunosupresores tacrólimus y ciclosporina parecen ser particularmente potentes inhibidores de las enzimas UGTs (47). Otros inhibidores incluyen los antiinflamatorios no esteroides, las benzodiazepinas, antidepresivos tricíclicos, ácido valpróico y probenecid (48) (Fig. 9).

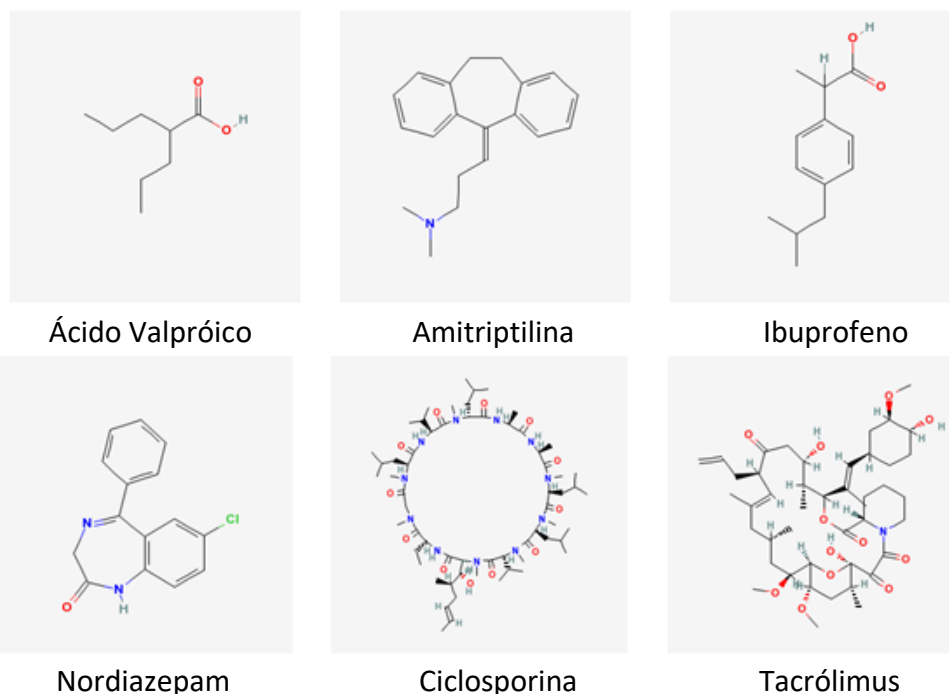


Fig. 9. Inhibidores de la actividad de las enzimas UGTs.

La rifampicina, fenobarbital, fenitoína y carbamazepina estimulan las reacciones de glucuronidación mediada por las enzimas UGTs (16) (45) (Fig. 10).

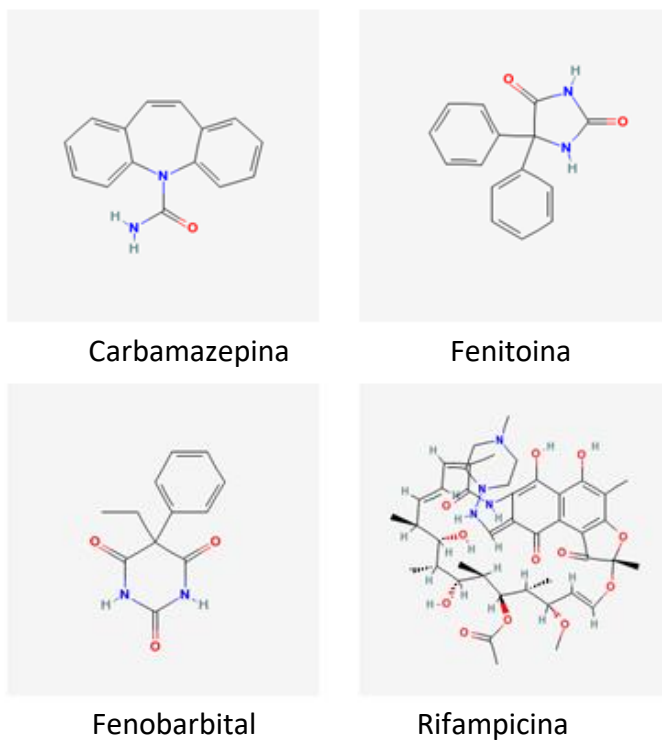


Fig. 10. Sustancias que estimulan la actividad de las enzimas UGTs

2. OBJETIVOS

A pesar de que se conocen desde hace años las principales enzimas implicadas en el metabolismo de paracetamol, las principales variantes de esas enzimas, y otros factores que condicionan el metabolismo de paracetamol, existe muy poca información sobre el impacto real que estos factores tienen en la farmacocinética (y por lo tanto en la exposición orgánica y, como consecuencia, en el riesgo de desarrollar efectos adversos) de este fármaco.

Existen numerosas guías de práctica clínica para el manejo de información farmacogenética en la práctica clínica, y aunque recientemente se ha publicado una guía para el manejo de AINEs, aún no se ha conseguido reunir información consistente sobre si los factores genéticos relacionados con el metabolismo a través de las UGTs modifican de forma sustancial la farmacocinética del paracetamol.

Los objetivos que se proponen en esta Tesis son los siguientes:

- 1.- Determinar la variabilidad interindividual en la biodisposición del paracetamol, a partir del análisis farmacocinético.
- 2.- Determinar las frecuencias alélicas de las principales variantes de los genes *UGT1A1*, *UGT1A6* y *UGT1A9* en población española.
- 3.- Determinar el impacto que dichos polimorfismos tienen sobre la farmacocinética del paracetamol.
- 4.- Determinar la influencia de variables no genéticas, patologías intercurrentes y tratamientos concomitantes, tienen sobre la farmacocinética del paracetamol.

3. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. PACIENTES

Se reclutaron 193 pacientes (125 mujeres y 68 hombres), mayores de edad, ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Perpetuo Socorro de Badajoz. Los diagnósticos de ingreso en su gran mayoría eran postoperatorios de Traumatología (186), algunos postoperatorios de Otorrinolaringología (2), de Cirugía Bariátrica (1), de Cirugía de mama (1) y otros (3) con patologías médicas (edema agudo de pulmón, status epiléptico y sépsis abdominal). Todos los pacientes reclutados, estaban tratados con paracetamol intravenoso durante su ingreso, bien como analgésico o como antitérmico, con una pauta de administración de 1g cada 6 horas, diluido en 100ml de suero salino, y perfundido en 15 minutos.

A todos ellos, se les entregó un consentimiento informado y una vez firmado se incluyeron en el estudio. Se extrajeron 10ml de sangre cada media hora, durante 5 horas, en tubos con EDTA, empezando a la media hora de infusión de paracetamol, obteniéndose, por tanto, 10 muestras por cada paciente. La administración por vía intravenosa permite calcular los parámetros farmacocinéticos, evitando la influencia de la variabilidad interindividual en la absorción y en el efecto primer paso. Las muestras de sangre se centrifugaron y se congelaron a temperatura de -80° hasta su uso. Las características principales de los pacientes se resumen en la Tabla 7:

Tabla 7. Características de los pacientes.

	Hombres	Mujeres	Total	Comparación*
Num pacientes (%)	68 (32.6%)	125 (64.8%)	193 (100%)	--
Edad (años): Media; Mediana, rango	63.6; 65, 25-83	68.2; 71, 17-85	66.6; 70, 17-85	0.004
Peso (kg): Media; Mediana, rango	84.4; 83, 58-150	77.4; 78, 42-113	79.9; 80, 42-150	0.002
IMC: Media; Mediana, rango	31.0; 29.7, 21.0-49.0	32.8; 32.8, 19.0-45.0	32.1; 32.0, 19.0-49.0	0.013
Antecedentes de nefropatía	2 (3.0%)	2 (1.7%)	4 (2.2%)	0.616
Antecedentes de hepatopatía	0 (0%)	3 (2.5%)	3 (1.6%)	0.553

*Las comparaciones corresponden a los valores de P utilizando U de Mann-Whitney para la edad, el peso e ICM (índice de masa corporal), y test de Fisher para los antecedentes de hepatopatía y nefropatía.

3.2. MATERIAL

3.2.1. REACTIVOS:

Se precisó de los siguientes reactivos para realizar el procesamiento analítico:

- Fenol, Merck.
- Cloroformo, Panreac.
- Isoamilalcohol, Merck.
- 2-Propofol, Merck.
- Etanol, Merck.
- TE pH= 7,5, Biozona científica SL.
- Tris, Merck.
- Glicerol, Sigma.
- Proteinasa K, Roche Diagnósticos.
- Mezcla de reacción (contiene polimerasa y nucleótidos) Thermo Scientific.
- Mezclas de oligonucleótidos específicos para cada SNP Thermo Scientific.
- Agua purificada a través del sistema Milli Q de Millipore.
- Agarosa, Pronadisa.
- Bromuro de etidio 10mg/ml, Sigma.
- EDTA, Sigma.
- Albumina de suero bovino, Sigma.
- Cloruro de Magnesio, Sigma.
- TBE (EDTA 1mM, Tris 100mM, ácido bórico 88mM, pH=8).
- Tampón de carga: (50% de glicerol, 50% de agua, 0,255 de xileno cianol).
- Ácido bórico, Sigma.
- CINH₄, Sigma.
- CO₃HK, Sigma.
- ClNa, Sigma.
- 8-hidroxiquinoleína, Sigma.

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO

El material de laboratorio utilizado fue el que se detalla a continuación:

- Aparato de electroforesis submarina Pharmacia, modelo GNA200.
- Centrifuga Heraeus®, modelo Biofuge 13.
- Centrifuga Heraeus®, modelo Megafuge 1.0R.
- Balanza PRECISA®, modelo Megafuge 1.0R.
- Balanza Mettler®, modelo H31AR.
- Espectrofotómetro Spectronic S-2000 de Bausch & Lomb, termostatzado y equipado con intercambiador de cubetas y registrador automático.
- HPLC Hitachi LaChrome equipado con detector de UV_VIS y fluorescencia.
- Baño termostatzado de Tectron, modelo 3000543.
- Baño termostatzado de Tectron, modelo 3473100.
- Autoclave P-SELECTA.
- Fuente de alimentación multidrive XL. Pharmacia.
- Termociclador Eppendorf Mastercycler gradient, Eppendorf.
- Termociclador 7500Fast de Applied Biosystems
- Transiluminador macrouve, LKV, 2111.
- Agitador de volteo Heidolph®, modelo REAX-2000.
- Bomba de vacío DINKO®, modelo D-95.
- Pipetas automáticas GILSON® (P10, P20, P100, P200, P1000 y P5000).
- Tubos Falcon de 50ml, Bector Dickinson.
- Tubos Venoject, Terumo.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.3.1.1. PURIFICACIÓN DE DNA GENÓMICO:

Se realizaron los siguientes pasos:

- A. Se extraen 10ml de sangre venosa de cada paciente, cada media hora, durante 5h, desde media hora después de la infusión de 1g de paracetamol.
- B. Se depositan en tubos venoject que contienen EDTA.

- C. Se centrifugan y se congelan a -80° .
- D. Extracción del DNA genómico de los leucocitos (Neitzel, 1986):
 1. Descongelar la sangre, dejándola a temperatura ambiente, aproximadamente 30 minutos.
 2. Separar el sobrenadante para análisis farmacocinéticos.
 3. Mezclar todo el precipitado de los 10 botes de un mismo paciente en tubos Falcon de 50ml y se añaden tres volúmenes de tampón de hemólisis almacenado a 4°C . Agitar la mezcla suavemente durante 20 minutos.
 4. Centrifugar a $1000 \times g$ durante 10 minutos a 4°C para que los leucocitos sedimenten. En el sobrenadante quedan proteínas y restos de eritrocitos que se eliminan posteriormente por decantación.
 5. Añadir 3 volúmenes de tampón de hemólisis, agitar y centrifugar. Se decanta el sobrenadante del mismo modo que en los pasos anteriores.
 6. Se secan bien las paredes del tubo para que no queden restos de sobrenadante y se añaden al sedimento de leucocitos 5 ml de solución SE. Se resuspende en ella el sedimento. La purificación del DNA puede detenerse en este momento congelando las muestras a -80°C .
 7. Se añaden $300\mu\text{l}$ de proteinasa K (10 mg/ml) y $250\mu\text{l}$ de SDS al 20%. Se agita suavemente de 8 a 24 horas a temperatura ambiente. Para todos los pasos que vienen a continuación los tiempos de agitación son de 20 minutos a 25 rpm, y la centrifugación es de 10 minutos a $5000 \times g$ y a 4°C .
 8. Se añade a la solución que contienen el DNA la misma cantidad de fenol a 4°C . Se agita y centrifuga.
 9. Se observan dos fases claramente diferentes, la superior contiene los ácidos nucleicos. Se extrae con cuidado de no arrastrar nada de la fase inferior de fenol y se deposita en un nuevo tubo Falcon de 50 ml estéril.

10. Se añade el mismo volumen de una solución de fenol/cloroformo (1:1). Se agita y se centrifuga. La fase superior se extrae y se pasa a tubo Falcon de 50 ml estéril.
11. A esta fase se le añade el mismo volumen de una solución de cloroformo/isoamil alcohol (24:1). Se agita, centrifuga y se extrae la fase superior que se pone en un tubo Falcon de 50 ml estéril.
12. Se añade un volumen igual de isopropanol.
13. Agitar manualmente, hasta que se forme el floculo de DNA, se extrae el floculo con pipeta Pasteur de vidrio y se lava con etanol al 70% a -20°C.
14. Se introduce en un tubo estéril, la pipeta de vidrio con el floculo, rompiendo la pipeta sobrante.
15. Meter los tubos estériles en bomba de vacío para evaporar los restos de etanol, durante 10 minutos y se añade 500 µl de solución de TE (Tris 10mM, EDTA 1mM, ph=8).
16. Se almacena el DNA a 4°C hasta su uso. No es aconsejable su congelación pues los cristales que se forman podrían fragmentarlo.
17. Se calcula la concentración de DNA y su pureza, midiendo la absorbancia en el espectrofotómetro:
 - Se ponen 700 µl de solución TE en una cubeta de cuarzo de cámara estrecha, y se mide la absorbancia a 260 nm, se anota y se mide la absorbancia a 280 nm y también se anota.
 - A los 700 µl de TE se le añaden 5 µl de DNA y se mezcla bien invirtiendo varias veces la cubeta para que el DNA se resuspenda homogéneamente.
 - Se mide la absorbancia a 260 nm y a 280 nm, al valor obtenido se le resta el de la primera medida sin DNA.
 - Se añaden otros 5 µl de DNA a la cubeta y se repiten las mediciones. Tiene que existir una correlación entre ambas mediciones.

- Para determinar la pureza del DNA se calcula la relación A260/A280. Una ratio de 1.8-2 indica que el DNA es puro, si es inferior habrá que purificar de nuevo el DNA.
- La absorbancia a 260 nm depende del tipo de ácido nucleico:
 - -A260: 1.000: 50 µg/ml de DNA de cadena doble.
 - -A260: 1.000: 40 µg/ml de DNA de cadena sencilla.
 - -A260: 1.000: 40 µg/ml de RNA.
 - -A260: 1.000: 20 µg/ml de oligonucleótidos.
- El factor de dilución utilizado es 705/5: 141 y 710/10: 71. Por ello se multiplica la densidad óptica A260 por 141 ó 71 y el resultado se multiplica por 50 para obtener la concentración de DNA en µg/ml.

3.3.1.2. ANÁLISIS GENÉTICOS

Para analizar la presencia de los polimorfismos se ha utilizado la técnica de PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan® (Life Technologies, Alcobendas, Madrid, Spain) y un termociclador 7500Fast de Applied Biosystems.

Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen total de 25 µl, la mezcla de reacción fue igual para todos los polimorfismos estudiados por este método.

Cada pocillo tiene 4,2 µl de ADN (10ng/µl) y 20.8 µl de la mezcla de reacción: 1.1 µl de mezcla de cebadores específicos para cada mutación, que son comercializados por Applied Biosystems (Tabla 13), uno de éstos hibrida con la secuencia no mutada y el otro con la mutada. El marcaje TaqMan es diferente en estos dos últimos cebadores, de modo que evaluando el incremento de fluorescencia en la longitud de onda de cada marcador se puede definir la presencia o ausencia de la mutación.

La mezcla de reacción se completa con 8.1 µl de agua y 11.6 µl de mezcla de reacción comercial (TaqMan Universal PCR Master Mix, Applied Biosystems).

Posteriormente se amplifican en el termociclador Eppendorf o en termociclador Applied Biosystems 7500, con un pre-ciclo a 95° C durante 10 min, seguido de 40 ciclos de 95° C durante 15 segundos, después 60 °C durante 60 segundos y termina con otro ciclo de 60° C durante 4 minutos.

La fluorescencia de cada muestra se mide tras cada ciclo y a punto final. Los genotipos se determinan por identificación por parte del software 7500 Software v2.0.3 de Applied Biosystems.

Los polimorfismos analizados corresponden a los que definen las variantes alélicas más relevantes en los genes *UGT1A1*, *UGT1A6* y *UGT1A9* y se resumen en la siguiente Tabla:

Tabla 8. Ensayos TaqMan utilizados en este estudio.

Alelo	Random SNP id.	Identificación del ensayo
<i>UGT1A1</i> *6	rs4148323 G/A	C__559715_20
<i>UGT1A1</i> *27	rs35350960 C/A	C__2307598_20
<i>UGT1A6</i> *2, *3, y *4,	rs6759892 T/G	C__1432204_30
<i>UGT1A6</i> *2, *5, y *8	rs2070959 A/G	C__15868110_30
<i>UGT1A6</i> *2, *4, *8, y *9	rs1105879 A/C	C__1173642_30
<i>UGT1A9</i> *3	rs72551330 T/C	C__64627083_10

Desambiguación de haplotipos *UGT1A6*: como se ha indicado anteriormente, las principales variantes de *UGT1A6* difieren en la distribución de varios SNPs, de modo que analizando tres de ellos se pueden discriminar las seis variantes alélicas, como sigue:

Tabla 9. Variantes alélicas de UGT1A6.

	Rs6759892 T/G	rs2070959 A/G	rs1105879 A/C
<i>UGT1A6</i> *2	+	+	+
<i>UGT1A6</i> *3	+	-	-
<i>UGT1A6</i> *4	+	-	+
<i>UGT1A6</i> *5	-	+	-
<i>UGT1A6</i> *8	-	+	+
<i>UGT1A6</i> *9	-	-	+

3.3.1.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICOS:

Se descongelaron los sueros a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min). Para cada análisis se tomaron 10 µL de suero, que se mezcló con 800 µL de metanol, 0.2% de ácido fórmico y 5 µM de paracetamol-d4 (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) que se utilizó como estándar interno. Las muestras se mezclaron durante 15 seg y se mantuvieron en hielo durante 20 min.

Posteriormente se centrifugaron a $3000 \times g$, a 4°C . El sobrenadante ($750 \mu\text{L}$) se evaporó con nitrógeno. Las muestras se resuspendieron en $40 \mu\text{L}$ de una mezcla de agua (97.49%), metanol (2.5%) y ácido fórmico (0.1%).

Se realizaron rectas de calibración utilizando suero blanco al que se añadió paracetamol a concentraciones entre 0.1 y 35 mg/L. El sobrenadante ($10 \mu\text{L}$) se inyectó en una columna Sinergy®4 μm Fusión-RP 80 A de $50 \times 2 \text{ mm}$ (Phenomenex, Alcobendas, Madrid) utilizando un cromatógrafo Hitachi LaChrom Elite® (Hitachi, Tokio, Japón), que se compone de una bomba cuaternaria HTA L-2130, un autoinyector LaChrom Elite L-2200, un horno de columnas Chromaster 5310 y un detector MS/MS de triple cuadrupolo API400® (SCIEX, Alcobendas, España). La columna se mantuvo a 20°C .

El flujo utilizado fue de 0.2 mL/min y la fase móvil consistió en el siguiente gradiente: A: ácido fórmico 0.1% en agua. B: ácido fórmico 0.1% en metanol. La elución se inició con una proporción de 97.5% A : 2.5% B. Se mantuvo un gradiente lineal desde 2.5% B hasta 65% B durante 0.6 min, y entonces la fase móvil se revirtió a las condiciones iniciales.

El espectrómetro se mantuvo en ionización positiva de electrospray usando monitorización de reacción múltiple (MRM). La fuente se puso a 500°C y 5.5 kV. La relación masa-carga (m/z) para el paracetamol y el paracetamol deuterado fue $152 \rightarrow 110.2$, 93.2 y $156 \rightarrow 114.2$, 97 . El coeficiente de variación interdía fue menor del 5% y el coeficiente de variación intradía fue menos del 4%.

Los análisis farmacocinéticos se realizaron con el programa WinNonlin® V5.3 (Pharsight Corporation, St. Louis, MO, USA) utilizando un modelo monocompartimental y uno bicompartimental ya que, en muchos participantes las cinéticas presentaban unas características compatibles con el modelo bicompartimental (ver el apartado de resultados para más detalles).

Los parámetros farmacocinéticos que se analizaron fueron los siguientes en los distintos modelos:

3.3.1.3.1. En el modelo monocompartimental:

- C_0 : concentración del fármaco a tiempo = 0 ($\mu\text{g/ml}$).
- K_{10} : constante de eliminación (1/h).

- $t_{1/2}$: vida media biológica de eliminación (h).
- Vd: volumen de distribución (mg/(ug/ml)).
- CL: aclaramiento plasmático (mg/(ug/ml)/h).
- AUC^{0-t} : área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t (ug/ml*h).
- $AUC^{0-\infty}$: área total bajo la curva de niveles plasmáticos, también denominada entre tiempo = 0 e infinito (ug/ml*h).
- AUMC (Área under the Moment Curve): equivale al valor de AUC del primer momento frente a la curva del tiempo (ug/ml*h²).
- MRT: tiempo medio de residencia de las moléculas en el organismo (AUMC/AUC) (h).
- Vss: volumen de distribución en estado de equilibrio ((mg/(ug/ml)).

3.3.1.3.2. En el modelo bicompartimental:

- C0: concentración del fármaco a tiempo = 0 (ug/ml)
- K_{10_1} : constante de eliminación (1/h).
- K_{12} : constante de transferencia o distribución (1/h).
- K_{21} : constante de retorno (1/h).
- $t_{1/2}(\alpha)$: vida media de distribución (h).
- $t_{1/2}(\beta)$: vida media de redistribución o eliminación (h).
- Vd: volumen de distribución (mg/(ug/ml)).
- CL: aclaramiento plasmático (mg/(ug/ml)/h).
- CL2: aclaramiento periférico (mg/(ug/ml)/h).
- AUC^{0-t} : área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t (ug/ml*h).
- $AUC^{0-\infty}$: área total bajo la curva de niveles plasmáticos entre tiempo = 0 e infinito (ug/ml*h).
- AUMC: valor de AUC del primer momento frente a la curva del tiempo (ug/ml*h²).
- MRT: tiempo medio de residencia de las moléculas en el organismo (h).
- Vss: volumen de distribución en estado de equilibrio (mg/(ug/ml)).

(Análisis farmacocinéticos y parámetros farmacocinéticos. Dr. Enrique A. Formentini. 2018) (49)

3.3.2. MÉTODOS ESTADÍSTICOS:

3.3.2.1. VARIABLES ALEATORIAS:

Se ha elaborado un análisis independiente para el modelo monocompartimental y otro para el bicompartimental, siguiendo una estructura similar en ambos casos.

Las variables dependientes son cada uno de los parámetros farmacocinéticos en cada modelo.

Las variables independientes se estructuran en cuatro bloques: 1) variables epidemiológicas más antecedentes de nefropatía/hepatopatía, 2) tratamientos domiciliarios, 3) tratamientos en la unidad de cuidados intensivos y 4) polimorfismos genéticos.

1. El primer bloque, variables epidemiológicas y nefropatía/hepatopatía, se compone de:
 - a. Sexo.
 - b. Grupos de edad:
 - i. Menos de 65 años.
 - ii. Más de 65 años.
 - c. Índice de masa corporal:
 - i. Bajo peso / Rango normal (BMI < 25.0).
 - ii. Sobrepeso (BMI 25.0-29.9)
 - iii. Obesidad (BMI ≥ 30)
 - d. Nefropatía.
 - e. Hepatopatía.
2. En el segundo bloque figuran los tratamientos domiciliarios.
3. El tercer bloque recoge los tratamientos administrados en UCI.
4. El cuarto bloque se compone de los 6 polimorfismos genéticos investigados. Sin embargo, ya que dos SNPs, rs4148323 y rs35350960 correspondientes a *UGT1A1*6* y *UGT1A1*27*, respectivamente, resultaron ser monomórficos en la muestra, estos SNPs, se excluyeron de las tablas de resultados.

Las variables independientes son comunes en ambos modelos, excepto la nefropatía y hepatopatía, ya que no se registró su presencia en los pacientes que presentaron un modelo farmacocinético bicompartimental.

3.3.2.2. EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

El principio de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) permite calcular qué frecuencias de cada genotipo han de observarse en la población en función de las frecuencias de los alelos.

Se ha analizado para cada genotipo estudiado, con el fin de detectar alteraciones del equilibrio que pudiesen alterar los resultados. El cálculo se ha hecho a partir de la frecuencia real de cada variante alélica, y aplicando la fórmula $1 = p^2 + (2pq) + q^2$, donde p = es la frecuencia de alelos no mutados y q es la frecuencia de alelos mutados. El valor de p^2 es la frecuencia esperada de no portadores del gen mutado, $2pq$ es la frecuencia esperada de heterocigotos y q^2 es la frecuencia esperada de homocigotos mutados.

Existen diversos test estadísticos para contrastar la hipótesis de equilibrio, entre las cuales destacan la prueba chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher. Se ha seleccionado esta última para efectuar el contraste, en consonancia con el criterio seguido en el programa de análisis estadísticos SNPStats y en el paquete de R SNPAssoc, donde se calcula por defecto (50).

3.3.2.2.1. Prueba chi-cuadrado:

La hipótesis nula del estadístico chi-cuadrado es que las variables son independientes y se contrasta si las frecuencias observadas difieren estadísticamente de las frecuencias esperadas.

3.3.2.3. VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y TRATAMIENTOS:

El primer paso del análisis de asociación bivalente consiste en investigar si el valor de los parámetros farmacocinéticos difiere entre los niveles de las variables epidemiológicas y tratamientos, es decir, se consideran todas las variables independientes que no son polimorfismos genéticos.

Para tal fin se han aplicado tanto técnicas no paramétricas: prueba de Kruskal-Wallis (K-W) y U de Mann Withney (U-M); como paramétricas: t de Student y análisis de la varianza (ANOVA).

En general, el incumplimiento del supuesto básico de normalidad u homocedasticidad que se requiere en las pruebas paramétricas, observándose esta situación en diversas variables, por lo que se ha prestado especial atención a la información que arrojan las pruebas no paramétricas.

La falta de homocedasticidad puede corregirse en las variables dicotómicas, debido a que la prueba t de Student ofrece una corrección para variables no homocedásticas. Para el análisis de tres variables no es posible aplicar este criterio, ya que se utiliza la prueba ANOVA, que asume igualdad de varianzas para calcular el p-valor del contraste global, sin embargo, es posible distinguir entre ambas situaciones para realizar las comparaciones múltiples por pares entre las categorías de cada variable.

Se ha optado por presentar los resultados de ambas técnicas en las tablas, para evaluar si ambas corroboran o no la existencia de relación entre parámetros farmacocinéticos y variables y el sentido de dicha relación.

Es importante destacar que la prueba K-W es la extensión de la prueba U-M para variables que constan de más de dos niveles y que ambas contrastan las diferencias entre niveles atendiendo al orden que ocupan según el valor de sus parámetros farmacocinéticos. Así, esta prueba puede considerarse un ANOVA de rangos, con la particularidad de que no se centra en los valores concretos, sino en su ordenación. Por ejemplo, si se aplica una función lineal sobre las variables originales, se obtiene el mismo resultado que al operar sobre las variables originales.

Por este motivo, en el modelo de un solo compartimento se obtienen p-valores idénticos en la constante de eliminación (k_{10}), la vida media biológica de eliminación ($t_{1/2}$) y el tiempo medio de residencia o permanencia (MRT), debido a que la relación entre k_{10} y $t_{1/2}$ es inversa según una función lineal, obteniéndose la misma secuencia de ordenación de los datos, pero en sentido inverso, y que por lo tanto proporciona el mismo p-valor. Su relación con la MRT también es directa, ya que ésta se calcula multiplicando $t_{1/2}$ por 1,44. Así, los comentarios se dirigirán con mayor énfasis a la vida

media biológica de eliminación, a partir de la cual pueden deducirse las conclusiones asociadas a k_{10} y MRT. La misma situación tiene lugar entre el aclaramiento plasmático (CL) y el área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 e infinito (AUC 0 inf).

La prueba U-M equivale a la prueba K-W para un factor de dos niveles, por lo que se denomina indistintamente como K-W en las tablas. A pesar de que éstas se basan en el cálculo de rangos, se ha optado por presentar los valores medios de las variables y su desviación típica, cuya interpretación es más intuitiva. A efectos expositivos, se han omitido de los comentarios las unidades en las que se mide cada variable, las cuales pueden verse en el encabezado de las tablas.

4. RESULTADOS

4.1. FARMACOCINÉTICA DEL PARACETAMOL:

En primer lugar, se eliminaron del análisis los pacientes con hepatopatía o nefropatía, porque sus parámetros farmacocinéticos podrían estar influenciados por estas patologías, lo que dejó 186 participantes válidos. Al analizar los parámetros farmacocinéticos se observó que en la mayoría de los pacientes el mejor ajuste era el monocompartimental, pero en algunos pacientes la cinética se podía ajustar también a una cinética bicompartmental. La distribución de participantes en estos grupos fue la siguiente:

Tabla 10. Relación de las variables con la farmacocinética.

	Sólo monocompartimental	Bicompartmental y monocompartimental	Comparación
Hombres	49 (74.2%)	17 (25.8%)	Sexo: P = 0.909
Mujeres	90 (75.0%)	30 (25.0%)	
Edad ≤ 70 años	74 (74.7%)	25 (25.3%)	Edad: P = 0.996
Edad > 70 años	65 (74.7%)	22 (25.3%)	
Peso bajo o normal	11 (68.8%)	5 (31.3%)	Peso P = 0.835
Sobrepeso	45 (76.3%)	14 (23.7%)	
Obesidad	83 (74.8%)	28 (25.2%)	
Antecedentes de nefropatía	4 (100%)	0	---
Antecedentes de hepatopatía	3 (100%)	0	---

En la Tabla 10 se observa la relación entre el sexo, la edad, el índice de masa corporal y los antecedentes sobre el tipo de cinética observado. No hay diferencias significativas relacionadas con el sexo, la edad, ni el índice de masa corporal. Respecto a los antecedentes de nefropatía y hepatopatía (no incluidos en los análisis farmacocinéticos), todos los pacientes con dichos antecedentes presentaron una cinética monocompartimental. En la Tabla 11 se muestran las medias y desviaciones estándar de cada parámetro farmacocinético en el modelo monocompartimental.

Tabla 11. Modelo monocompartimental.

Parámetro	Total (media; SD, min-máx.)	Rango de variación
C ₀ (µg/ml)	10.53; 5.23, 2.39-32.43	13.57
K ₁₀ (1/h)	0.48; 0.18, 0.19-1.44	7.58
t _{1/2} (h)	1.64; 0.54, 0.48-3.61	7.52
V (mg/(ug/ml))	118.61; 60.38, 30.83-339.11	11.00
CL (mg/(ug/ml)/h)	56.19; 35.31, 14.21-236.88	16.67
AUC 0-t (ug/ml*h)	20.58; 10.59, 4.12-57.66	14.00
AUC 0-inf (ug/ml*h)	24.18; 13.14, 4.22-70.35	16.67
AUMC (ug/ml*h ²)	61.29; 45.4, 4.49-229.51	51.12
MRT (h)	2.36; 0.77, 0.70-5.20	7.43
V _{ss} (mg/(ug/ml))	118.61; 60.38, 30.83-339.11	11.00

Se observa una amplísima variabilidad interindividual en la farmacocinética con rangos de C_0 que oscilan en más de un orden de magnitud. También hay una amplísima variabilidad en los valores de $t_{1/2}$ (algo menos de un orden de magnitud), los valores de AUC (algo más de un orden de magnitud) y MRT. En los próximos apartados de esta Tesis analizaremos el impacto de los factores fenotípicos y genéticos sobre esta variabilidad.

En la siguiente Tabla se observan las medias y desviaciones estándar de cada parámetro farmacocinético en el modelo bicompartimental.

Tabla 12. Modelo bicompartimental

	Total (media; SD, min-máx.)	Rango de variación
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	18.52; 11.15, 4.54-49.12	10.82
K_{10} (1/h)	0.71; 0.49, 0.18-2.15	11.94
K_{12} (1/h)	0.99; 0.95, 0.04-3.58	89.50
K_{21} (1/h)	0.99; 0.57, 0.06-2.14	35.67
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.54; 0.46, 0.10-2.29	22.90
$t_{1/2\beta}$ (h)	3.86, 4.72, 1.01-25.72	25.46
V_d ($\text{mg}/(\mu\text{g/ml})$)	71.66; 38.01, 20.36-181.87	8.93
CL ($\text{mg}/(\mu\text{g/ml})/\text{h}$)	41.29; 21.49, 6.65-109.62	16.48
CL_2	42.42; 33.12, 0.65-132.85	204.39
AUC 0-t ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$)	22.37; 9.87, 7.81-61.51	7.88
AUC 0-inf ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$)	31.06; 19.64, 9.12-124.06	9.12
AUMC ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}^2$)	129.56; 184.66, 14.59-986.82	67.64
MRT (h)	4.27; 5.14, 1.25-30.40	24.32
V_{ss} ($\text{mg}/(\mu\text{g/ml})$)	128.01; 63.02, 42.36-326.22	7.70

De nuevo se observa una amplia variabilidad interindividual en muchos parámetros, que serán analizados en detalle más adelante. Llama la atención que el rango de los valores de $t_{1/2}$ y CL_2 tienen una mayor variabilidad que los que se observan en los pacientes que se ajustan a una cinética monocompartimental.

Debido a que los 186 participantes se ajustaban bien a una cinética monocompartimental, la mayor parte de los análisis realizados en esta tesis se centran en el modelo monocompartimental, si bien al final de capítulo de resultados se hacen análisis específicos para aquellos pacientes que también se ajustan a una cinética bicompartimental.

Se analizó el efecto del sexo en la farmacocinética del paracetamol, y los resultados se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla 13. Efectos del sexo en la farmacocinética del acetaminofén.

Parámetro	Hombres (n= 66) (Media; SD, min-máx.)	Mujeres (n = 120) (Media; SD, min-máx.)	Comparación (p-Valor)
C0 (µg/mL)	8.29; 4.44, 2.39-26.70	11.77; 5.24, 3.31-32.43	<0.001
K10 (1/h)	0.45; 0.16, 0.19-0.93	0.49; 0.19, 0.20-1.44	0.207
t _{1/2} (h)	1.72; 0.58, 0.75-3.61	1.59; 0.51, 0.48-3.51	0.108
V (mg/(ug/mL))	146.33; 67.28, 37.45-339.11	103.83; 50.76, 30.83-302.39	<0.001
CL (mg/(ug/mL)/h)	65.88; 36.81, 22.17-205.77	50.87; 33.43, 14.21-236.88	<0.001
AUC 0-t (ug/mL*h)	16.18; 7.19, 4.74-32.13	23.00; 11.38, 4.12-57.66	<0.001
AUC 0-inf (ug/mL*h)	19.17; 8.59, 4.86-45.10	26.94; 14.38, 4.22-70.35	<0.001
AUMC (ug/mL*h ²)	49.58; 31.44, 5.86-165.98	67.63; 50.46, 4.49-229.51	0.058
MRT (h)	2.49; 0.84, 1.08-5.20	2.30; 0.73, 0.70-5.07	0.108
V _{ss} ((mg/(ug/mL))	146.33; 67.28, 37.45-339.11	103.83; 50.76, 30.83-302.39	<0.001

Abreviaturas: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0-t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t ; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; V_{ss}, volumen de distribución en estado de equilibrio

La Tabla anterior muestra diferencias estadísticamente significativas en los valores de C0 (mayores en mujeres), aclaramiento (mayores en varones) y AUC (mayores en mujeres). Sin embargo, no hay diferencias estadísticamente significativas en los valores de t_{1/2}.

De acuerdo con estos resultados, las diferencias relacionadas con el sexo causan concentraciones mayores de paracetamol (y por lo tanto un incremento en la exposición al fármaco) en mujeres, que probablemente se deben a diferencias en el Volumen de distribución, que es mucho menor en mujeres que en varones. A partir de este resultado, decidimos introducir el factor sexo en los ajustes estadísticos de los análisis farmacocinéticos.

A continuación, analizamos la influencia de la masa corporal en la farmacocinética del paracetamol. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla:

Tabla 14. Influencia del Índice de Masa Corporal (BMI) en la farmacocinética del paracetamol.

Parámetro	Bajo/Peso Normal, BMI < 25.0, (n = 16) (Media; SD, Min-Max)	Sobrepeso, BMI 25.0–29.9, (n = 59) (Media; SD, Min-Max)	Obesidad, BMI ≥ 30.0, (n = 111) (Media; SD, Min-Max)	Comparación Bajo/Normal vs. Sobrepeso	Comparación Bajo/Normal vs. Obesidad	Comparación Sobrepeso vs. Obesidad
C ₀ (µg/ml)	11.25; 7.13, 2.42-30.10	10.71; 5.95, 2.39-32.43	10.34; 4.51, 2.95-23.43	0.979	0.626	0.835
K ₁₀ (1/h)	0.42; 0.15, 0.25-0.84	0.50; 0.18, 0.20-0.96	0.47; 0.19, 0.19-1.44	0.100	0.251	0.378
t _{1/2} (h)	1.80; 0.51, 0.83-2.77	1.58; 0.56, 0.72-3.51	1.64; 0.52, 0.48-3.61	0.165	0.258	0.498
V (mg/(ug/ml))	111.31; 56.87, 33.22-214.04	118.75; 60.95, 30.83-328.58	119.53; 61.00, 42.68-339.11	0.754	0.638	0.979
CL (mg/(ug/ml)/h)	49.85; 31.05, 22.49-126.61	59.08; 40.69, 16.06-236.88	55.57; 32.89, 14.21-178.70	0.345	0.387	0.688
AUC 0–t (ug/ml*h)	22.39; 10.08, 6.19-35.33	19.96; 10.47, 4.12-57.66	20.65; 10.78, 5.38-57.04	0.345	0.391	0.787
AUC 0–inf (ug/ml*h)	26.37; 11.81, 7.90-44.47	23.18; 12.60, 4.22-62.26	24.20; 13.66, 5.60-70.35	0.345	0.387	0.688
AUMC (ug/ml*h ²)	68.80; 39.53, 23.03-148.88	56.60; 44.42, 4.49-224.94	62.70; 46.81, 4.94-229.51	0.170	0.302	0.431
MRT (h)	2.60; 0.74, 1.19-4.00	2.29; 0.81, 1.04-5.07	2.37; 0.76, 0.70-5.20	0.165	0.258	0.498
V _{ss} ((mg/(ug/ml))	111.31; 56.87, 33.22-214.04	118.75; 60.95, 30.83-328.58	119.53; 61.00, 42.68-339.11	0.754	0.638	0.979

Abreviaturas: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0-t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; V_{ss}, volumen de distribución en estado de equilibrio.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la farmacocinética del paracetamol en función de la masa corporal. Estos resultados son consistentes con la baja liposolubilidad del paracetamol (51) y nos permiten eliminar el índice de masa corporal como factor de confusión en este estudio.

Otros factores potenciales que podrían influenciar la farmacocinética del paracetamol son las interacciones con otros fármacos, antes y durante el tratamiento.

Para estudiar el efecto de las interacciones entre fármacos, los 186 pacientes válidos se dividieron en tres grupos de acuerdo con el tratamiento que habían recibido durante las dos semanas previas al inicio del estudio, que se resume en la siguiente Tabla:

Tabla 15. Tratamientos de los Pacientes en las dos semanas previas al inicio del estudio

Fármacos	Dosis media (mg/24 h)	Ruta de administración	Total de participantes (n)	Hombres que recibieron el fármaco	Hombres que no recibieron el fármaco	Mujeres que recibieron el fármaco	Mujeres que no recibieron el fármaco	Valores de comparación entre grupos: <i>p</i> -Valor (Chi-Square)
Omeprazol	20	oral	40	11	55	29	91	0,234
ASA	100	oral	28	13	53	15	105	0,189
Hidroclorotiazida	25	oral	24	7	59	17	103	0,489
Aceclofenaco	100	oral	18	1	65	17	103	0,005
Lorazepam	1	oral	15	1	65	14	106	0,015
Acetaminofén	3000	oral	14	5	61	9	111	0,985
Simvastatina	80	oral	14	6	60	8	112	0,549
Ibuprofeno	1200	oral	15	2	64	13	107	0,062
Atorvastatina	80	oral	12	5	61	7	113	0,643
Pantoprazol	40	oral	12	4	62	8	112	0,872
Tramadol	100	oral	12	3	63	9	111	0,433
Torasemida	20	oral	11	5	61	6	114	0,477
Amlodipino	10	oral	10	3	63	7	113	0,709
Enalapril	10	oral	10	3	63	7	113	0,709
Calcio	1000	oral	9	3	63	6	114	0,890
Diclofenaco	100	oral	9	2	64	7	113	0,394
Doxazosina	4	oral	9	8	58	1	119	0,001
Heparina	40	subcutáneo	9	2	64	7	113	0,394
Furosemida	40	oral	9	2	64	7	113	0,394
Metamizol	1725	oral	9	3	63	6	114	0,890
Valsartan	80	oral	9	3	63	6	114	0,890
Alprazolam	1.5	oral	8	1	65	7	113	0,165
Irbesartan	150	oral	8	4	62	4	116	0,380
Metformina	1500	oral	8	3	63	5	115	0,903
Acenocumarol	2	oral	7	5	61	2	118	0,043
Bisoprolol	5	oral	7	2	64	5	115	0,697
Candesartan	8	oral	7	2	64	5	115	0,697
Carvedilol	25	oral	7	2	64	5	115	0,697
Atenolol	100	oral	6	2	64	4	116	0,911
Condroitin sulfato	800	oral	6	1	65	5	115	0,327
Gliclazida	30	oral	6	2	64	4	116	0,911
Glucosamina	1500	oral	6	0	66	6	114	0,065
Insulina	100U/ml	subcutáneo	7	2	64	5	115	0,698
Losartan	50	oral	6	1	65	5	115	0,327
Paroxetina	20	oral	6	0	66	6	114	0,065
Pentoxifilina	800	oral	6	4	62	2	118	0,105

Sertralina	50	oral	6	1	65	5	115	0,327
Verapamilo	360	oral	6	3	63	3	117	0,450
Zolpidem	10	oral	6	1	65	5	115	0,327
Ácido alendronico	10	oral	5	2	64	3	117	0,831
Amilorida	5	oral	5	1	65	4	116	0,463
Fluoxetina	20	oral	5	0	66	5	115	0,093
Levotiroxina	0.025	oral	5	1	65	4	116	0,463
Trazodona	150	oral	5	2	64	3	117	0,831
Clorazepato	5	oral	4	1	65	3	117	0,658
Eprosartán	600	oral	4	2	64	2	118	0,540
Fluticasona	0.500	inhalación	4	0	66	4	116	0,134
Hierro	80	oral	4	1	65	4	116	0,464
Nifedipino	40	oral	4	1	65	3	117	0,658
Pravastatina	40	oral	4	0	66	4	116	0,134
Ramipril	2.5	oral	4	2	64	2	118	0,540
Ácido risedronico	5	oral	4	0	66	4	116	0,134
Tamsulosina	0.4	oral	6	6	60	0	120	0,001
Trimetazidina	60	oral	4	0	66	4	116	0,134
Alopurinol	100	oral	3	2	64	1	119	0,255
Bromazepam	9	oral	3	1	65	2	118	0,937
Captopril	50	oral	3	2	64	1	119	0,255
Diazepam	10	oral	3	1	65	2	118	0,937
Escina	100	oral	3	0	66	3	117	0,195
Dutasterida	0.500	oral	3	3	63	0	120	0,019
Fentanilo	8.3	transdérmico	3	0	66	3	117	0,195
Gabapentina	900	oral	3	0	66	3	117	0,195
Lansoprazol	15	oral	3	1	65	2	118	0,937
Salmeterol	0.100	inhalación	3	0	66	3	117	0,195
Telmisartan	40	oral	3	0	66	3	117	0,195
Tiotropio	0.005	inhalación	3	3	63	0	120	0,019
Trifusal	600	oral	3	0	66	3	117	0,195
Troxerutina	1000	oral	3	0	66	3	117	0,195
Venlafaxina	75	oral	3	0	66	3	117	0,195
Amitriptilina	50	oral	2	1	65	1	119	0,666
Cefditoren	400	oral	2	1	65	1	119	0,666
Ciclobenzaprina	30	oral	2	0	66	2	118	0,292
Citalopram	20	oral	2	1	65	1	119	0,666
Clonazepam	3	oral	2	0	66	2	118	0,292
Deflazacort	30	oral	2	1	65	1	119	0,666
Dexametasona	30	oral	2	0	66	2	118	0,292

Resultados

Dexketoprofeno	75	oral	2	2	64	0	120	0,055
Diacereina	100	oral	2	1	65	1	119	0,666
Diltiazem	180	oral	2	1	65	1	119	0,666
Ácido dobesílico	1500	oral	2	0	66	2	118	0,292
Donepezilo	10	oral	2	1	65	1	119	0,666
Hidrosmín	600	oral	2	0	66	2	118	0,292
Hidroxizina	75	oral	2	0	66	2	118	0,292
Indapamida	1.5	oral	2	0	66	2	118	0,292
Lisinopril	20	oral	2	0	66	2	118	0,292
Lovastatina	20	oral	2	0	66	2	118	0,292
Semilla de plantago	11000	oral	2	0	66	2	118	0,292
Raloxifeno	60	oral	2	0	66	2	118	0,292
Salbutamol	0.200	inhalación	2	2	64	0	120	0,055
Sulpirida	150	oral	2	0	66	2	118	0,292
Tetrazepam	100	oral	2	0	66	2	118	0,292
Troxerutina	1000	oral	2	0	66	2	118	0,292
Almagato	3000	oral	1	0	66	1	119	0,457
Altizida	30	oral	1	0	66	1	119	0,457
Amiodarona	600	oral	1	0	66	1	119	0,457
Azathioprina	140	oral	1	1	65	0	120	0,176
Betahistina	24	oral	1	0	66	1	119	0,457
Biperideno	6	oral	1	1	65	0	120	0,176
Bosentán	250	oral	1	0	66	1	119	0,457
Budesonida	0.400	inhalación	1	1	65	0	120	0,176
Bupremorfina	0.875	transdérmico	1	0	66	1	119	0,457
Carbidopa	75	oral	1	1	65	0	120	0,176
Cetirizina	10	oral	1	0	66	1	119	0,457
Diflunisal	1000	oral	1	1	65	0	120	0,176
Domperidona	30	oral	1	0	66	1	119	0,457
Enoxaparina	40	subcutáneo	1	1	65	0	120	0,176
Escitalopram	10	oral	1	1	65	0	120	0,176
Esomeprazol	40	oral	1	0	66	1	119	0,457
Estradiol	0.017	transdérmico	1	0	66	1	119	0,457
Ácido etidróico	800	oral	1	0	66	1	119	0,457
Etoricoxib	30	oral	1	1	65	0	120	0,176
Felodipina	5	oral	1	1	65	0	120	0,176
Fexofenadina	180	oral	1	0	66	1	119	0,457
Fluvoxamina	50	oral	1	0	66	1	119	0,457
Fosinopril	10	oral	1	0	66	1	119	0,457
Gemfibrozilo	900	oral	1	0	66	1	119	0,457
Glimepirida	1	oral	1	1	65	0	120	0,176

Acido glutámico	5000	oral	1	1	65	0	120	0,176
Halazepam	60	oral	1	0	66	1	119	0,457
Indometacina	50	oral	1	1	65	0	120	0,176
Ipratropio	0.750	inhalación	1	1	65	0	120	0,176
Ketorolaco	40	oral	1	1	65	0	120	0,176
Lactulosa	20	oral	1	1	65	0	120	0,176
Lercanidipino	10	oral	1	0	66	1	119	0,457
Levodopa	300	oral	1	1	65	0	120	0,176
Loprazolam	1	oral	1	0	66	1	119	0,457
Lormetazepam	1	oral	1	0	66	1	119	0,457
Maprotilina	75	oral	1	0	66	1	119	0,457
Meloxicam	7.5	oral	1	0	66	1	119	0,457
Mesalazina	2000	oral	1	0	66	1	119	0,457
Metimazol	30	oral	1	0	66	1	119	0,457
Metoprolol	100	oral	1	1	65	0	120	0,176
Migitol	150	oral	1	1	65	0	120	0,176
Mirtazapina	30	oral	1	0	66	1	119	0,457
Misoprostol	0.400	oral	1	0	66	1	119	0,457
Naproxeno	550	oral	1	0	66	1	119	0,457
Nevibolol	5	oral	1	0	66	1	119	0,457
Nimodipineo	360	oral	1	0	66	1	119	0,457
Nitroglicerina	4.8	sublingual	1	1	65	0	120	0,176
Nitroglicerina	5	transdérmica	1	0	66	1	119	0,457
Olmesartan	10	oral	1	1	65	0	120	0,176
Orlistat	160	oral	1	1	65	0	120	0,176
Piroxicam	20	oral	1	0	66	1	119	0,457
Prednisona	5	oral	1	1	65	0	120	0,176
Pregabalina	150	oral	1	0	66	1	119	0,457
Propafenona	450	oral	1	1	65	0	120	0,176
Propranolol	80	oral	1	0	66	1	119	0,457
Quinapril	20	oral	1	1	65	0	120	0,176
Rabeprazol	10	oral	1	1	65	0	120	0,176
Repaglinida	0.500	oral	1	1	65	0	120	0,176
Rupatadina	10	oral	1	0	66	1	119	0,457
Sotalol	80	oral	1	0	66	1	119	0,457
Spironolactona	50	oral	1	0	66	1	119	0,457
Tenoxicam	20	oral	1	0	66	1	119	0,457
Temazepam	50	oral	1	0	66	1	119	0,457
Ticlopidina	500	oral	1	1	65	0	120	0,176
Tietilperazina	19.5	oral	1	0	66	1	119	0,457

Resultados

Tolterodina	4	oral	1	0	66	1	119	0,457
Acido tranexámico	1000	oral	1	1	65	0	120	0,176
Triazolam	0.250	oral	1	0	66	1	119	0,457
Triamtereno	25	oral	1	0	66	1	119	0,457
Ácido ursodesoxicólico	500	oral	1	1	65	0	120	0,176
Acido valproico	750	oral	1	0	66	1	119	0,457

Los valores estadísticamente significativos están marcados en negrita. Abreviaturas: ASA, ácido acetilsalicílico.

El grupo de referencia lo constituían los pacientes que no habían tomado ningún sustrato, inhibidor o inductor de UGT1A1, UGT1A6 o UGT1A9, de acuerdo con la base de datos DrugBank (<https://go.drugbank.com>).

Otro grupo estaba compuesto por participantes que habían recibido sustratos de cualquiera de las enzimas mencionadas, incluyendo ácido acetil salicílico, atorvastatina, buprenorfina, carvedilol, diclofenaco, estradiol, furosemina, gemfibrozil, ibuprofeno, indometacina, levotiroxina, losartan, lovastatina, naproxeno, paracetamol, raloxifeno, simvastatina o tramadol.

El tercer grupo estaba compuesto por los participantes que habían recibido inhibidores de cualquiera de las enzimas mencionadas, incluyendo amitriptilina, diflunisal, gemfibrozil o indometacina. Algunos de los fármacos mencionados son a la vez sustratos e inhibidores de UGT1A1, UGT1A6 o UGT1A9 y por lo tanto algunos pacientes están presentes simultáneamente en el grupo de los que recibieron sustratos y en el de los que recibieron inhibidores.

Tabla 16. Farmacocinética del paracetamol según el tratamiento farmacológico recibido antes del inicio del estudio.

Parámetro	No Sustrato o Inhibidores (n = 83)	Tratados con Sustratos (n = 102)	Tratados con Inhibidores (n = 5)
	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)
C0 (µg/mL)	10.49; 4.90, 2.42–30.1 (referencia)	10.63; 5.51, 2.39–32.43 (0.857; 0.998)	9.46; 3.67, 5.33–13.72 (0.644; 0.924)
K10 (1/h)	0.46; 0.17, 0.23–1.19 (referencia)	0.49; 0.19, 0.19–1.44 (0.189; 0.207)	0.54; 0.21, 0.27–0.85 (0.318; 0.247)
t _{1/2} (h)	1.69; 0.52, 0.58–2.95 (referencia)	1.59; 0.55, 0.48–3.61 (0.204; 0.227)	1.48; 0.64, 0.82–2.53 (0.374; 0.292)
V (mg/(ug/mL))	117.07; 59.46, 33.22–328.58 (referencia)	119.18; 61.30, 30.83–339.11 (0.815; 0.660)	121.69; 52.18, 72.90–187.60 (0.865; 0.858)
CL (mg/(ug/mL)/h)	52.98; 30.78, 16.56–178.70 (referencia)	58.54; 38.64, 14.21–236.88 (0.287; 0.230)	62.42; 27.07, 26.12–93.22 (0.503; 0.617)
AUC 0–t (ug/mL*h)	20.91; 9.84, 5.45–49.89 (referencia)	20.41; 11.21, 4.12–57.66 (0.749; 0.606)	17.00; 7.58, 10.06–28.55 (0.384; 0.565)
AUC 0–inf (ug/mL*h)	24.87; 12.50, 5.60–60.39 (referencia)	23.74; 13.69, 4.22–70.35 (0.562; 0.443)	19.64; 11.17, 10.73–38.29 (0.362; 0.522)
AUMC (ug/mL*h ²)	64.48; 43.19, 6.46–178.09 (referencia)	59.03; 47.28, 4.49–229.51 (0.417; 0.351)	48.53; 51.62, 19.21–139.91 (0.427; 0.538)
MRT (h)	2.44; 0.75, 0.84–4.26 (referencia)	2.30; 0.79, 0.70–5.20 (0.204; 0.227)	2.13; 0.93, 1.18–3.65 (0.374; 0.292)
V _{ss} ((mg/(ug/mL))	117.07; 59.46, 33.22–328.58 (referencia)	119.18; 61.30, 30.83–339.11 (0.815; 0.660)	121.69; 52.18, 72.90–187.60 (0.865; 0.858)

El número total de participantes es 186. Cuatro participantes recibieron tanto sustratos como inhibidores. Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0–t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; V_{ss}, volumen de distribución en estado de equilibrio.

En la Tabla anterior los valores fueron ajustados por sexo, porque el sexo influencia la farmacocinética del paracetamol según la Tabla 11. No se han encontrado

diferencias estadísticamente significativas al comparar los tres grupos de pacientes de acuerdo con los tratamientos recibidos previamente al inicio del estudio. De hecho, los valores de $t_{1/2}$ fueron ligeramente inferiores en los pacientes que habían tomado sustratos o inhibidores de las enzimas, que en aquellos que no los habían tomado.

Estos resultados sugieren que los tratamientos previos (limitados a los fármacos y las dosis que se indican en la Tabla 13) no afectan de forma significativa a la farmacocinética del paracetamol. Además de los tratamientos previos, hemos analizado el efecto de los fármacos que se administraron en UCI simultáneamente al paracetamol. Estos tratamientos se resumen en la siguiente Tabla:

Tabla 17. Tratamiento farmacológico concomitante recibido después del inicio del estudio.

Fármaco	Dosis Media (mg/24 h)	Vía de administración	Total de participantes (n)	Hombres que recibieron el fármaco	Hombres que no recibieron el fármaco	Mujeres que recibieron el fármaco	Mujeres que no recibieron el fármaco	Comparación intergrupo. Valores: p-Valor (Chi-Cuadrado)
Pantoprazol	40	intravenoso	186	66	0	120	0	1.000
Ondansetron	12	Intravenoso	185	64	2	120	0	0.055
Metamizol	6000	Intravenoso	176	61	5	115	5	0.324
Gentamicina	350	Intravenoso	173	60	6	113	7	0.404
Cefazolina	3000	Intravenoso	164	57	9	107	13	0.571
Cloruro de morfina	10	Subcutáneo	128	47	19	81	39	0.601
Dalteparina	2500 UI	Subcutáneo	121	38	28	83	37	0.113
Ketorolaco	90	Intravenoso	79	28	38	51	69	0.992
Tramadol	300	Intravenoso	54	20	46	34	86	0.777
Insulina	variable	Subcutáneo	51	19	47	32	88	0.756
Dexametasona	4	Intravenoso	31	10	56	21	99	0.158
Vancomicina	2000	Intravenoso	18	6	60	12	108	0.841
Ropivacaina	150	Epidural	7	3	63	4	116	0.678
Enoxaparina	40	Subcutáneo	6	4	62	2	118	0.106
Hierro	80	Oral	6	0	66	6	114	0.065
Fentanilo	2.8	Intravenoso	4	1	65	3	117	0.658
Furosemida	40	Intravenoso	4	1	65	3	117	0.658
Atropina	0.45	Intravenoso	2	2	64	0	120	0.055
Metoclopramida	30	Intravenoso	2	1	65	1	119	0.666
ASA	100	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Aciclovir	1050	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Alprazolam	0.500	Oral	1	0	66	1	119	0.457
Amiodarona	600	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Amoxicilina / Acido Clavulánico	3000 / 600	Intravenoso	1	0	66	1	119	0.457
Atorvastatina	80	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Bromazepam	4.5	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Carbamazepina	800	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Carvedilol	25	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Ceftriaxona	4000	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Dopamina	345	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Haloperidol	20	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Isoniazida	300	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Lactulosa	30000	Oral	1	1	65	0	120	0.176

Resultados

Midazolam	190	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Nitroglicerina	28	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Fenitoína	300	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Pirazinamida	1800	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Piridoxina	300	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Propofol 2%	5760	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Rifampicina	600	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Tiamina	100	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176
Trazodona	100	Oral	1	1	65	0	120	0.176
Acido valproico	800	Intravenoso	1	1	65	0	120	0.176

Abreviaturas: ASA, ácido acetilsalicílico.

Los 186 participantes válidos se dividieron en tres categorías: el primer grupo eran los participantes que no habían tomado ningún sustrato, inhibidor o inductor de las enzimas UGT1A1, UGT1A6 o UG1A9. Este era el grupo de referencia.

El segundo grupo fueron los participantes que habían tomado, simultáneamente al paracetamol, sustratos de algunas de las enzimas incluyendo AAA, atorvastatina, carvedilol, furosemida, morfina, propofol, tramadol o ácido valprórico.

El tercer grupo formado por los pacientes que habían tomado inhibidores (ácido valprórico o propofol) o inductores (carbamazepina o rifampicina) finalmente sólo contó con un paciente, que había recibido todos esos fármacos simultáneamente. Los resultados se resumen en la siguiente Tabla 18:

Tabla 18. Farmacocinética del paracetamol según el tratamiento farmacológico concomitante con paracetamol.

Parámetro	No Sustrato o Inhibidores (n = 40)	Tratados con Sustratos (n = 146)	Otros (Inhibidores + Inductores) (n = 1)
	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustados por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustados por Sexo)	
C0 (µg/mL)	12.10; 5.58, 3.04–30.10 (referencia)	10.11; 5.07, 2.39–32.43 (0.032; 0.035)	3.34; -
K10 (1/h)	0.51; 0.25, 0.20–1.44 (referencia)	0.47; 0.31, 0.19–0.96 (0.164; 0.177)	0.45; -
t _{1/2} (h)	1.60; 0.61, 0.48–3.51 (referencia)	1.65; 0.52, 0.72–3.61 (0.657; 0.694)	1.54; -
V (mg/(ug/mL))	102.40; 55.64, 33.22–328.58 (referencia)	123.11; 31.05, 30.83–339.11 (0.053; 0.054)	299.16; -
CL (mg/(ug/mL)/h)	51.48; 36.44, 14.21–178.70 (referencia)	57.49; 35.01, 15.11–236.88 (0.340; 0.379)	134.34; -
AUC 0–t (ug/mL*h)	23.31; 11.35, 5.45–57.04 (referencia)	19.83; 10.29, 4.2–57.66 (0.064; 0.072)	6.66; -
AUC 0–inf (ug/mL*h)	27.32; 14.45, 5.60–70.35 (referencia)	23.32; 12.68, 4.22–66.19 (0.087; 0.099)	7.44; -
AUMC (ug/mL*h ²)	70.42; 55.67, 4.94–224.94 (referencia)	58.79; 42.03, 4.49–229.51 (0.150; 0.169)	16.58; -
MRT (h)	2.31; 0.88, 0.70–5.07 (referencia)	2.38; 0.74, 1.04–5.20 (0.657; 0.694)	2.23; -
Vss ((mg)/(ug/mL))	102.40; 55.64, 33.22–328.58 (referencia)	123.11; 31.05, 30.83–339.11 (0.053; 0.054)	299.16; -

El número total de participantes es 186. Un participante recibió sustratos, inhibidores, e inductores. Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0-t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; Vss, volumen de distribución en estado de equilibrio.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores de t_{1/2} fueron ligeramente superiores en los pacientes que habían recibido sustratos de las enzimas, pero estas diferencias no alcanzaban significación estadística.

Además, los valores de AUC fueron menores en los pacientes que habían tomado sustratos de las enzimas, lo que sugiere que la farmacocinética del paracetamol no resulta afectada en los pacientes que tomaban los fármacos que aparecen en la tabla 15 a las dosis que se mencionan.

4.2. ANÁLISIS GENÉTICOS

En las siguientes tablas se muestran los resultados de los análisis genéticos en el grupo de estudio y el p-valor asociado al contraste de Hardy-Weinberg según la prueba exacta de Fisher.

Tabla 19. Resultados de los análisis genéticos.

Gen	Genotipo	No mutados	Heterocigotos	Homocigotos	MAF	H-W (p-valor)
<i>UGT1A1</i>	rs4148323 G/A	186	0	0	0.000	--
<i>UGT1A1</i>	rs35350960 C/A	186	0	0	0.000	--
<i>UGT1A6</i>	rs6759892 T/G	66	85	35	0.417	0.414
<i>UGT1A6</i>	rs2070959 A/G	87	84	15	0.306	0.395
<i>UGT1A6</i>	rs1105879 A/C	81	82	23	0.344	0.751
<i>UGT1A9</i>	rs72551330 T/C	175	10	1	0.032	0.059

MAF: Frecuencia del alelo menor (mutado)

Las frecuencias de las variantes de *UGT1A1* se corresponden a las descritas en poblaciones de origen europeo (ver la Tabla 1). En el caso de las variantes de *UGT1A6* se observa una frecuencia ligeramente menor de la esperada en nuestra población para las mutaciones rs2070959 A/G (30% vs. 35%), y rs1105879 (34% vs. 37%) y una frecuencia ligeramente superior a la esperada para la variante rs72551330 de *UGT1A9* (3% vs. 1.4%). Todas las variantes estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg en la población de estudio.

Debido a que los SNPs rs4148323 y rs35350960 son monomórficos, se excluyen del análisis estadístico, ya que presentan un único nivel, cuyo valor diferirá de la media global del parámetro según el número de valores perdidos que contengan. Con estos resultados se obtuvieron los siguientes genotipos:

Tabla 20. Genotipos *UGT1A1*.

Genotipo	Número	Porcentaje
<i>UGT1A1</i> *1/*1	186	100%
<i>UGT1A1</i> *1/*6	0	--
<i>UGT1A1</i> *6/*6	0	--
<i>UGT1A1</i> *1/*27	0	--
<i>UGT1A1</i> *27/*27	0	--
<i>UGT1A1</i> *6/*27	0	--

Dada la baja frecuencia de las variantes que definen las variantes alélicas, todos los participantes fueron clasificados como portadores del genotipo *UGT1A1**1/*1, de modo que en esta población de estudio es muy poco probable observar algún efecto en la farmacocinética del paracetamol relacionado con variaciones en el gen *UGT1A1*.

Tabla 21. Genotipos UGT1A6.

Genotipo	Número	Porcentaje
UGT1A6*1/*1	65	34.9%
UGT1A6*1/*2	64	34.4%
UGT1A6*1/*3	16	8.6%
UGT1A6*1/*4	5	2.7%
UGT1A6*1/*9	1	0.5%
UGT1A6*2/*2	15	8.1%
UGT1A6*2/*3	8	4.3%
UGT1A6*2/*4	8	4.3%
UGT1A6*3/*4	4	2.2%

Puede observarse que menos de la mitad de la población de estudio (65 pacientes) muestran genotipos homocigotos no mutados. El resto se subdivide en dos grupos: heterocigotos para un gen mutado y otro no mutado (86 pacientes, 46.4%) y homocigotos o doble-heterocigotos mutados (35 pacientes, 18.9%).

Las frecuencias alélicas que se obtienen de los datos anteriores son la siguientes: *UGT1A6*1*: 216 alelos (58.1%), *UGT1A6*2*: 110 alelos (29.6%), *UGT1A6*3*: 28 alelos (7.6%), *UGT1A6*4*: 17 alelos (4.6%), *UGT1A6*9*: 1 alelo (0.3%). No se observaron portadores de las variantes alélicas *UGT1A6*5* ni *UGT1A6*8*.

Globalmente esta distribución es adecuada para estudiar el efecto de las variantes de *UGT1A6* más frecuentes, en la farmacocinética del paracetamol.

Tabla 22. Genotipos UGT1A9.

Genotipo	Núm.	Porcentaje
UGT1A9*1/*1	175	94.1%
UGT1A9*1/*3	10	5.4%
UGT1A9*3/*3	1	0.5%

Aunque la frecuencia de la variante alélica es baja, se han identificado participantes con los tres posibles genotipos, lo que permite analizar el efecto de las variantes de *UGT1A9* en la farmacocinética del paracetamol, al menos en el caso de los heterocigotos. Las frecuencias alélicas que se observan son las siguientes: *UGT1A9*1*: 360 alelos (96.8%), *UGT1A9*3*: 12 alelos (3.2%).

4.3. FARMACOCINÉTICA EN FUNCIÓN DE LOS GENOTIPOS:

Para analizar el efecto de los genotipos *UGT1A6* y *UGT1A9*, y con el fin de evitar que los resultados de uno de los genotipos resulten influenciados por el otro, en el estudio del efecto de *UGT1A6* se han excluido los 11 pacientes que tenían mutaciones en *UGT1A9* y en el estudio de *UGT1A9* se han excluido todos los pacientes que tuviesen mutaciones en *UGT1A6*.

En la siguiente Tabla 23 se muestran los parámetros farmacocinéticos de acuerdo con los genotipos *UGT1A6*. Los haplotipos poco frecuentes se han englobado en la categoría *UGT1A6**1/*otros (*UGT1A6**1/*4 y *1/*9).

Tabla 23. Farmacocinética del paracetamol según los diplotipos UGT1A6.

Parámetro	UGT1A6*1/*1 (n = 61)	UGT1A6*1/*2 (n = 59)	UGT1A6*1/*3 (n = 14)	UGT1A6*1/*otro (n = 6)	UGT1A6*2/*2 (n = 15)	UGT1A6*2/*3 (n = 8)	UGT1A6*2/*4 (n = 8)	UGT1A6*3/*4 (n = 4)
	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)
C0 (µg/mL)	10.47; 4.98, 4.11–30.10 (referencia)	9.86; 5.54, 2.39–26.70 (0.364; 0.631)	11.25; 4.28, 5.97–22.00 (0.602; 0.456)	9.29; 3.58, 3.85–13.65 (0.574; 0.329)	10.39; 5.93, 2.42–21.67 (0.961; 0.749)	10.72; 4.05, 6.19–18.53 (0.895; 0.642)	11.62; 4.96, 6.23–21.12 (0.541; 0.716)	11.90; 5.78, 7.20–20.07 (0.583; 0.954)
K10 (1/h)	0.49; 0.17, 0.29–0.88 (referencia)	0.47; 0.18, 0.23–0.96 (0.307; 0.454)	0.49; 0.12, 0.25–0.70 (0.511; 0.947)	0.47; 0.08, 0.31–0.52 (0.797; 0.692)	0.36; 0.11, 0.19–0.55 (0.004; 0.004)	0.046; 0.13, 0.27–0.68 (0.952; 0.642)	0.037; 0.11, 0.25–0.53 (0.038; 0.037)	0.51; 0.12, 0.39–0.65 (0.484; 0.849)
t _{1/2} (h)	1.55; 0.45, 0.79–2.36 (referencia)	1.67; 0.53, 0.72–2.95 (0.307; 0.202)	1.52; 0.46, 0.98–2.77 (0.511; 0.804)	1.53; 0.33, 1.34–2.21 (0.797; 0.913)	2.14; 0.73, 1.25–3.61 (0.004; 0.004)	1.62; 0.49, 1.02–2.55 (0.952; 0.732)	2.03; 0.57, 1.30–2.75 (0.038; 0.006)	1.41; 0.32, 1.07–1.76 (0.484; 0.545)
V (mg/(ug/mL))	117.41; 52.96, 33.22–243.08 (referencia)	133.38; 74.72, 37.45–339.11 (0.451; 0.204)	100.59; 36.77, 45.45–167.38 (0.483; 0.186)	128.95; 70.07, 73.26–259.56 (0.656; 0.419)	121.02; 75.23, 46.14–302.39 (0.815; 0.578)	105.14; 38.09, 53.98–161.56 (0.660; 0.348)	99.11; 37.67, 47.34–160.64 (0.402; 0.462)	97.69; 38.99, 49.83–138.90 (0.541; 0.850)
CL (mg/(ug/mL)/h)	56.43; 29.86, 18.67–178.70 (referencia)	62.62; 44.53 14.21–236.88 (0.922; 0.441)	47.07; 16.32, 29.43–77.45 (0.280; 0.226)	56.29; 19.82, 37.28–81.59 (0.991; 0.838)	46.63; 31.87, 20.68–126.61 (0.129; 0.335)	50.30; 25.59, 21.61–88.59 (0.583; 0.468)	34.65; 11.09, 16.56–50.26 (0.031; 0.056)	53.45; 31.26; 19.62–90.03 (0.848; 0.859)
AUC 0–t (ug/mL*h)	19.88; 9.58, 5.45–43.47 (referencia)	19.46; 11.58, 4.12–57.04 (0.667; 0.968)	20.96; 6.50, 12.34–32.13 (0.369; 0.549)	17.50; 6.01, 9.71–24.72 (0.640; 0.311)	22.48; 10.72, 6.19–40.83 (0.340; 0.476)	22.06; 11.00, 10.62–40.03 (0.590; 0.351)	26.51; 10.97, 17.70–49.89 (0.072; 0.096)	23.13; 14.92, 10.67–43.86 (0.771; 0.961)
AUC 0–inf (ug/mL*h)	22.99; 11.99, 5.60–53.57 (referencia)	23.03; 14.21, 4.22–70.35 (0.922; 0.845)	23.56; 7.41, 12.91–33.98 (0.410; 0.720)	219.50; 6.00, 12.26–26.83 (0.761; 0.268)	29.35; 14.06, 7.90–48.35 (0.129; 0.108)	26.16; 14.86, 11.29–46.28 (0.576; 0.322)	32.55; 13.79, 19.90–60.39 (0.031; 0.050)	25.98; 17.97, 11.11–50.98 (0.907; 0.921)
AUMC (ug/mL*h ²)	55.33; 39.99 7.61–160.47 (referencia)	59.43; 47.47, 4.49–229.51 (0.748; 0.512)	52.94; 26.40, 20.68–121.42 (0.531; 0.941)	41.79; 10.02, 23.76–52.72 (0.981; 0.259)	91.81; 57.47, 25.76–224.94 (0.017; 0.007)	68.74; 56.02, 19.94–165.98 (0.646; 0.294)	97.35; 52.30, 43.67–178.09 (0.011; 0.010)	58.49; 51.00, 17.14–129.50 (0.930; 0.769)
MRT (h)	2.24; 0.65, 1.13–3.41 (referencia)	2.42; 0.77, 1.04–4.26 (0.307; 0.202)	2.20; 0.66, 1.42–4.00 (0.511; 0.804)	2.21; 0.48, 1.93–3.18 (0.797; 0.913)	3.18; 1.05, 1.81–5.20 (0.004; <0.001)	2.33; 0.71, 1.48–3.68 (0.925; 0.732)	2.93; 0.82, 1.88–3.97 (0.038; 0.006)	2.03; 0.46, 1.54–2.54 (0.484; 0.545)
Vss ((mg/(ug/mL))	117.41; 52.96, 33.22–243.08 (referencia)	133.38; 74.72, 37.45–339.11 (0.451; 0.204)	100.59; 36.77, 45.45–167.38 (0.483; 0.186)	128.95; 70.07, 73.26–259.56 (0.656; 0.419)	121.02; 75.23, 46.14–302.39 (0.815; 0.587)	105.14; 38.09, 53.98–161.56 (0.660; 0.348)	99.11; 37.67, 47.34–160.64 (0.402; 0.462)	97.69; 38.99, 49.83–138.90 (0.541; 0.850)

El número de participantes fue 175 porque 11 participantes se excluyeron por llevar alelos de la variante UGT1A9 para evitar factores de confusión. Los genes mutados incluyen UGT1A6*2, *3, *4, y *9. No se observaron otras variantes alélicas en el grupo a estudio. Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0-t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; Vss, volumen de distribución en estado de equilibrio.

Se han utilizado Test de Student, de Welch o U de Mann Withney dependiendo de la distribución normal de cada parámetro. Todos los genotipos se han comparado con el genotipo de referencia *UGT1A6**1/*1, excluyendo de las comparaciones a los participantes que tenían genotipos mutados *UGT1A9*. Dado que se ha confirmado que el sexo es un determinante de algunos parámetros farmacocinéticos, en las comparaciones se muestran los valores de P crudos (T de Student, test de Welch o U de Mann Withney), y ajustado por sexo (Likelihood ratio test).

Se observan diferencias en los valores de $t_{1/2}$ y AUC en portadores de alelos *UGT1A6**2/*2 y *2/*4, y además, se observan diferencias en el aclaramiento en aquellos participantes con genotipos *UGT1A6**2/*4. Los resultados sugieren un efecto significativo de la variante *UGT1A6**2 y un efecto más acusado de la variante *UGT1A6**4, que condiciona un menor aclaramiento y unos valores de AUC superiores comparados con los individuos que no tienen mutaciones en el gen *UGT1A6*.

El número de homocigotos de alelos poco frecuentes no es suficiente para observar diferencias significativas en este grupo. Por este motivo, para analizar el efecto global de la presencia de todas las variantes de *UGT1A6*, se agruparon los pacientes de acuerdo con el número de alelos *UGT1A6* mutados, agrupando todas las variantes en una categoría. Los resultados se muestran en la Tabla 24.

Se observa que los individuos con un gen *UGT1A6* mutado tienen perfiles farmacocinéticos prácticamente iguales a los homocigotos no mutados. En cambio, los participantes con los dos genes mutados presentan un incremento de un 22.5% en los valores de $t_{1/2}$, una disminución del 20% en los valores de aclaramiento, un incremento del 26% en los valores de AUC 0-inf, y un incremento del 23% en el tiempo medio de residencia en el organismo.

Estos resultados sugieren que el genotipo *UGT1A6* es un factor que modifica la farmacocinética del paracetamol en individuos homocigotos de genes mutados.

Otra conclusión que se obtiene del análisis de estos datos es que la agrupación de alelos *UGT1A6* mutados no incrementa la capacidad predictiva que tiene el estudio de alelos por separado, lo que probablemente puede ser debido a un efecto diferencial de cada variante alélica sobre la farmacocinética del paracetamol.

Tabla 24. Farmacocinética del paracetamol según genotipos UGT1A6.

Parámetro	UGT1A6*1/*1 (n = 61)	UGT1A6*1/*Mutados (n = 79)	UGT1A6*Mutados/*Mutados (n = 35)
	Media; SD, Rango (p -Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p -Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Media; SD, Rango (p -Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)
C ₀ (µg/mL)	10.47; 4.98, 4.11–30.10 (referencia)	10.06; 5.20, 2.39–26.70 (0.549; 0.710)	10.94; 5.09, 2.42–21.67 (0.669; 0.893)
K ₁₀ (1/h)	0.47; 0.17, 0.29–0.88 (referencia)	0.47; 0.17, 0.23–0.96 (0.570; 0.466)	0.40; 0.13, 0.19–0.68 (0.019; 0.005)
t _{1/2} (h)	1.55; 0.45, 0.79–2.36 (referencia)	1.64; 0.51, 0.72–2.95 (0.570; 0.339)	1.90; 0.64, 1.02–3.61 (0.019; 0.001)
V (mg/(ug/mL))	117.41; 52.96, 33.22–243.08 (referencia)	127.26; 69.60, 37.45–339.11 (0.636; 0.400)	109.03; 54.73, 46.14–302.39 (0.400; 0.676)
CL (mg/(ug/mL)/h)	56.43; 29.86, 18.67–178.70 (referencia)	59.42; 39.74, 14.21–236.88 (0.910; 0.687)	45.48; 26.39, 16.56–126.61 (0.081; 0.102)
AUC 0–t (ug/mL*h)	19.88; 9.58, 5.45–43.47 (referencia)	19.56; 10.47, 4.12–57.04 (0.870; 0.942)	23.41; 10.95, 6.19–49.89 (0.113; 0.152)
AUC 0–inf (ug/mL*h)	22.99; 11.99, 5.60–53.57 (referencia)	22.84; 12.75, 4.22–70.35 (0.910; 0.968)	28.96; 14.16, 7.90–60.39 (0.044; 0.045)
AUMC (ug/mL*h ²)	55.53; 39.99, 7.61–160.47 (referencia)	56.90; 42.67, 4.49–229.51 (0.658; 0.760)	83.77; 54.66, 17.14–224.94 (0.010; 0.006)
MRT (h)	2.24; 0.65, 1.13–3.41 (referencia)	2.36; 0.73, 1.04–4.26 (0.570; 0.339)	2.75; 0.93, 1.48–5.20 (0.019; 0.001)
V _{ss} ((mg)/(ug/mL))	117.41; 52.96, 33.22–243.08 (referencia)	127.26; 69.60, 37.45–339.11 (0.636; 0.400)	109.03, 54.73, 46.14–302.39 (0.400; 0.676)

El número de participantes fue 175 porque 11 participantes se excluyeron por llevar alelos de la variante UGT1A9 para evitar factores de confusión. Los genes mutados incluyen UGT1A6*2, *3, *4, y *9. No se observaron otras variantes alélicas en el grupo a estudio. Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC 0–t, área bajo la curva de niveles plasmáticos entre 0 y t; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; V_{ss}, volumen de distribución en estado de equilibrio.

En la Tabla 25 se muestran los parámetros farmacocinéticos de acuerdo con los genotipos UGT1A9. En este caso se han eliminado todos los portadores de genotipos mutados de UGT1A6 para las comparaciones, por lo que el número de participantes fue de 65.

Los resultados no muestran ningún efecto significativo de la variante UGT1A9*3 en los parámetros farmacocinéticos, si bien hay que resaltar la baja frecuencia de dicha variante en nuestra población, que sólo nos ha permitido incluir un individuo homocigoto en las comparaciones.

Tabla 25. Farmacocinética del paracetamol según los diplotipos UGT1A9.

Parámetros	UGT1A9*1/*1 (n = 60) Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; ajustado por Sexo)	UGT1A9*1/*3 (n = 4) Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustados por Sexo)	UGT1A9*3/*3 (n = 1)
CO (µg/ml)	10.47; 4.98, 4.11-30.10 (referencia)	8.46; 4.05, 4.58-12.07 (0.433; 0.537)	6.67
K10 (1/h)	0.49; 0.17, 0.29-0.88 (referencia)	0.55; 0.13, 0.45-0.71 (0.221; 0.493)	0.39
t _{1/2} (h)	1.55; 0.45, 0.79-2.36 (referencia)	1.31; 0.29, 0.98-1.56 (0.221; 0.294)	1.78
V (mg/(ug/ml))	117.41; 52.96, 33.22-243.08 (referencia)	143.29; 69.99, 82.82-218.25 (0.351; 0.439)	149.83
CL (mg/(ug/ml)/h)	56.43; 29.86, 18.67-178.70 (referencia)	81.33; 52.14, 37.19-153.89 (0.130; 0.153)	58.35
AUC 0-t (ug/ml*h)	19.88; 9.58, 5.45-43.47 (referencia)	14.85; 8.09, 5.95-24.04 (0.281; 0.381)	14.69
AUC 0-inf (ug/ml*h)	22.99; 11.99, 5.60-53.57 (referencia)	16.27; 8.92, 6.50-26.89 (0.294; 0.338)	17.14
AUMC (ug/ml*h ²)	55.33; 39.99, 7.61-160.47 (referencia)	32.21; 21.00, 9.22-59.88 (0.210; 0.309)	44.00
MRT (h)	2.24; 0.65, 1.13-3.41 (referencia)	1.89; 0.41, 1.42-2.25 (0.221; 0.294)	2.57
V _{ss} ((mg)/(ug/ml))	117.41; 52.96, 33.22-243.08 (referencia)	143.29; 69.99, 80.82-218.25 (0.351; 0.439)	149.83

Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC, área bajo la curva de concentración de fármaco en plasma-tiempo; AUMC, área bajo la curva en el primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; V_{ss}, Volumen de distribución en estado estacionario.

Aunque los resultados sugieren un efecto de algunas variantes genéticas en la farmacocinética del paracetamol, se procedió a analizar los genotipos globales (UGT1A6 y UGT1A9) estableciendo tres categorías: Individuos sin mutaciones en ninguno de los genes, aquellos que tenían solamente una variante en cualquiera de los dos genes, y los que tenían dos o más variantes sumando los dos genes. Los resultados se muestran en la Tabla 26.

Tabla 26. Resultados de genotipos

Parámetro	<i>UGT1A6</i> *1/*1 y <i>UGT1A9</i> *1/*1 (N=61) Media; SD, rango	Una sola mutación en <i>UGT1A6</i> ó <i>UGT1A9</i> (N=84) Media; SD, rango	P-valor crudo; ajustado por sexo	Dos o más mutaciones en <i>UGT1A6</i> ó <i>UGT1A9</i> (N=41) Media; SD, rango	P-valor crudo; ajustado por sexo
C0 (µg/ml)	10.47; 4.98, 4.11-30.10	9.97; 5.14, 2.39-26.70	0.575; 0.650	10.81; 5.07, 2.42-21.67	0.632; 0.985
K10 (1/h)	0.49; 0.17, 0.29-0.88	0.47; 0.16, 0.23-0.96	0.719; 0.548	0.40; 0.12, 0.19-0.68	0.019; 0.004
t1/2 (h)	1.55; 0.45, 0.79-2.36	1.62; 0.50, 0.72-2.95	0.719; 0.440	1.90; 0.93, 1.02-3.61	0.019; 0.001
V (mg/(ug/ml))	117.41; 52.96, 33.22-243.08	128.08; 69.25, 37.45-339.11	0.551; 0.364	110.23; 54.35, 46.14-302.39	0.470; 0.772
CL (mg/(ug/ml)/h)	56.43; 29.86, 18.67-178.70	60.53; 40.32, 14.21-236.88	0.960; 0.576	45.84; 26.09, 16.56-126.61	0.050; 0.115
AUC 0-t (ug/ml*h)	19.88; 9.58, 5.45-43.47	19.32; 10.37, 4.12-57.04	0.749; 0.847	23.16; 10.88, 6.19-49.89	0.132; 0.196
AUC 0-inf (ug/ml*h)	22.99; 11.99, 5.60-53.57	22.51; 12.62, 4.22-70.35	0.960; 0.922	28.62; 14.103, 7.90-60.39	0.050; 0.062
AUMC (ug/ml*h ²)	55.33; 39.99, 7.61-160.47	55.65; 42.12, 4.49-225.51	0.813; 0.881	82.63; 54.27, 17.14-224.94	0.011; 0.008
MRT (h)	2.24; 0.65, 1.13-3.41	2.34; 0.72, 1.04-4.26	0.719; 0.440	2.74; 0.91, 1.48-5.20	0.019; 0.001
Vss ((mg/(ug/ml))	117.41; 52.96, 33.22-243.08	128.08; 69.25, 37.45-339.11	0.551; 0.364	110.23; 54.35, 46.14-302.39	0.470; 0.772

Pueden observarse diferencias significativas en portadores de dos o más mutaciones, en los valores de t1/2 con incremento del 23%, en el aclaramiento con una disminución del 19%, en el AUC 0-inf con un incremento del 24%, en AUMC con un incremento del 49% y en MRT con un incremento del 22%.

Globalmente puede concluirse que el genotipo *UGT1A6* es un factor modificador de la farmacocinética del paracetamol en pacientes homocigotos para genes mutados y que no existe poder estadístico suficiente para determinar el efecto de las variantes de *UGT1A9* debido a su escasa frecuencia en la población. La combinación de los genotipos *UGT1A6* + *UGT1A9* no arroja asociaciones más significativas que con *UGT1A6* de forma aislada lo que, combinado con la baja frecuencia de la variante *UGT1A9**3 en la población estudiada, sugiere que el efecto que se pueda observar en la combinación es atribuible a *UGT1A6*.

Como los resultados obtenidos en este estudio muestran un claro efecto de los genotipos *UGT1A6* en la farmacocinética del paracetamol, hemos analizado si los

pacientes que requirieron tratamiento para el dolor a demanda (además del paracetamol) mostraban diferencias en la farmacocinética del paracetamol. La hipótesis que queríamos evaluar es si los pacientes que eliminan el paracetamol más rápidamente requerían tratamiento adicional para el dolor con AINES o con opiáceos (morfina, fentanilo o tramadol). Solamente un participante no requirió tratamiento adicional, 38 fueron tratados con AINES y 147 con opiáceos. La Tabla 27 muestra los parámetros farmacocinéticos en estos grupos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Tabla 27. Farmacocinética del acetaminofén según la necesidad de terapia adicional con analgésicos.

Parámetro	Sin analgésicos además del paracetamol (n = 1)	Terapia adicional con AINE (n = 38) Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por sexo)	Terapia con opiáceos (n = 147) Media; SD, Rango (p-Valores: Crudo; Ajustado por sexo)
C0 (µg/ml)	3.34	11.87; 5.70, 3.04-30.10 (referencia)	10.24; 5.05, 2.39-32.43 (0.085; 0.058)
K10 (1/h)	0.45	0.52; 0.25, 0.26-1.44 (referencia)	0.46; 0.16, 0.19-0.96 (0.066-0.062)
t _{1/2} (h)	1.54	1.54; 0.53, 0.48-2.66 (referencia)	1.66; 0.54, 0.72-3.61 (0.212; 0.199)
V (mg/(ug/ml))	299.16	105.18; 56.74, 33.22-328.58 (referencia)	120.88; 59.39, 30.83-339.11 (0.143; 0.096)
CL (mg/(ug/ml)/h)	134.34	53.80; 36.42, 14.21-178.70 (referencia)	56.28; 34.65, 15.11-236.88 (0.697; 0.657)
AUC 0-t (ug/ml*h)	6.66	22.30; 11.22, 5.45-57.04 (referencia)	20.23; 10.39, 4.12-57.66 (0.282; 0.229)
AUC 0-inf (ug/ml*h)	7.44	25.74; 13.97, 5.60-70.35 (referencia)	23.89; 12.91, 4.22-66.19 (0.439; 0.382)
AUMC (ug/ml*h ²)	16.58	62.83; 48.77, 4.94-211.24 (referencia)	61.19; 44.66, 4.49-229.51 (0.843; 0.805)
MRT (h)	2.23	2.22; 0.76, 0.70-3.84 (referencia)	2.40; 0.78, 1.04-5.20 (0.212; 0.199)
Vss ((mg/(ug/ml))	299.16	105.18; 56.74, 33.22-328.58 (referencia)	120.88; 59.39, 30.83-339.11 (0.143; 0.096)

Abreviaciones: SD, desviación estándar; V, volumen de distribución; CL, aclaramiento; AUC, área bajo la curva de concentración de fármaco en plasma-tiempo; AUMC, área bajo la curva del primer momento; MRT, tiempo medio de residencia; Vss, Volumen de distribución en estado estacionario.

A continuación, analizamos si los genotipos UGT1A6 y UGT1A9 se relacionaban con la necesidad de tratamiento adicional contra el dolor. Los resultados se muestran en la Tabla 28. Tampoco los genotipos mostraron una asociación significativa con la necesidad de tratamiento adicional contra el dolor.

Tabla 28. Genotipos UGT1A6 y UGT1A9 según la necesidad de tratamiento analgésico adicional.

Genotipos/diplotipos	Terapia adicional con AINE <i>n</i> , % (<i>p</i> -Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)	Terapia con opiáceos <i>n</i> , % (<i>p</i> -Valores: Crudo; Ajustado por Sexo)
UGT1A6 diplotipos	<i>n</i> = 34	<i>n</i> = 140
<i>UGT1A6*1/*1</i>	12, 35.3% (referencia)	49, 35.0% (0.765, 0.764)
<i>UGT1A6*1/*2</i>	10, 29.4% (referencia)	49, 35.0% (0.569, 0.558)
<i>UGT1A6*1/*3</i>	5, 14.7% (referencia)	8, 5.7% (0.083, 0.085)
<i>UGT1A6*1/*otros</i>	1, 2.9% (referencia)	5, 3.6% (0.891, 0.909)
<i>UGT1A6*2/*2</i>	1, 2.9% (referencia)	14, 10.0% (0.197, 0.201)
<i>UGT1A6*2/*3</i>	1, 2.9% (referencia)	7, 5.0% (0.625, 0.611)
<i>UGT1A6*2/*4</i>	3, 8.8% (referencia)	5, 3.6% (0.891, 0.909)
<i>UGT1A6*3/*4</i>	1, 2.9% (referencia)	3, 2.1% (0.756, 0.726)
UGT1A6 genotipos	<i>n</i> = 34	<i>n</i> = 140
<i>UGT1A6*1/*1</i>	12, 35.3% (referencia)	49, 35.0% (0.765, 0.764)
<i>UGT1A6*1/mut</i>	16, 47.0 (referencia)	62, 44.3% (0.661, 0.672)
<i>UGT1A6*mut/*mut</i>	6, 19.4% (referencia)	29, 20.7% (0.848, 0.864)
UGT1A9 diplotipos	<i>n</i> = 12	<i>n</i> = 53
<i>UGT1A9*1/*1</i>	10, 83.3% (referencia)	48, 90.6% (0.892, 0.891)
<i>UGT1A9*1/*3</i>	1, 8.3% (referencia)	5, 9.4% (0.203, 0.203)
<i>UGT1A9*3/*3</i>	1, 8.3% (referencia)	0, 0.0% (0.060, 0.059)

AINE: Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos.

Las categorías de genotipos/diplotipos están marcadas en negrita. Un participante de los 186 no se incluyó porque no recibió ningún tratamiento con analgésicos además del paracetamol. Los diplotipos y genotipos de UGT1A6 correspondieron únicamente a individuos sin variantes del gen UGT1A9 y viceversa.

4.4. MODELO BICOMPARTIMENTAL

Como se indicaba en apartados anteriores de esta Tesis, 47 pacientes mostraron farmacocinéticas que podían ajustarse a un modelo bicompartmental. En estos pacientes se analizaron los parámetros farmacocinéticos, que se resumen en la Tabla 29.

Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos en modelo bicompartmental.

	Hombres (N=17) (media; SD, min-máx.)	Mujeres (N=30) (media; SD, min-máx.)	Comparación
K10 (1/h)	0.82; 0.60, 0.18-1.86	0.65; 0.42, 0.21-2.15	0.674
K12 (1/h)	1.15; 0.99, 0.07-3.55	0.89; 0.92, 0.04-3.58	0.335
K21 (1/h)	1.02; 0.59, 0.06-1.89	0.98; 0.56, 0.13-2.14	0.794
t1/2 α (h)	0.52; 0.49, 0.11-1.62	0.55; 0.45, 0.10-2.29	0.400
t1/2 β (h)	3.65; 3.55, 1.22-13.90	3.98; 5.33, 1.01-25.72	0.894
Vd (mg/(μ g/ml))	76.65; 41.30, 26.87-181.78	68.83; 36.44, 20.36-143.93	0.504
CL (mg/(μ g/ml)/h)	47.32; 22.91, 17.83-109.62	37.87; 20.25, 6.65-83.17	0.144
CL2	55.32; 39.62, 1.77-132.85	35.12; 26.85, 0.65-98.47	0.097
AUC 0-t (μ g/ml*h)	18.61; 6.97, 7.81-33.47	24.49; 10.71, 10.24-61.51	0.035
AUC 0-inf (μ g/ml*h)	24.65; 10.44, 9.12-46.28	34.69; 22.68, 12.02-124.06	0.111
AUMC (μ g/ml*h ²)	104.56; 132.51, 14.59-591.45	144.22; 210.16, 19.99-986.82	0.609
MRT (h)	3.61; 2.71, 1.25-12.78	4.65; 6.11, 1.33-30.40	0.965
Vss ((mg/(μ g/ml))	141.25; 57.44, 63.58-249.76	120.50; 65.71, 42.36-326.22	0.138

En los pacientes en los que la cinética se ajusta a un modelo bicompartimental no se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo, con excepción de los valores de AUC que indican una mayor exposición en las mujeres que en los hombres, aunque la significación estadística es baja. El aclaramiento sigue siendo mayor en hombres, como ocurría en el grupo total de pacientes, pero las diferencias no son significativas, si bien hay que recordar que este grupo solamente comprende un pequeño número de pacientes, y por lo tanto que el poder estadístico es menor que en los que siguen un modelo monocompartimental.

En la Tabla 30 se muestra la influencia del índice de masa corporal en la farmacocinética del paracetamol en los participantes que tenían una cinética bicompartimental. Al igual que ocurre con los pacientes que siguen una cinética monocompartimental, no se ha observado un efecto relevante del índice de masa corporal sobre la farmacocinética en este subgrupo de pacientes, si bien en estos pacientes hay algunas diferencias escasamente significativas al comparar las cinéticas de pacientes obesos frente los pacientes con bajo peso o peso normal, en las áreas bajo la curva.

Se realizó a continuación un análisis de la farmacocinética en función de los genotipos: como se hizo en el modelo monocompartimental, para analizar el efecto de los genotipos *UGT1A6* y *UGT1A9*, y con el fin de evitar que los resultados de uno de los genotipos resulten influenciados por el otro, en el estudio del efecto de *UGT1A6* se han excluido los pacientes que tenían mutaciones en *UGT1A9* y en el estudio de *UGT1A9* se han excluido todos los pacientes que tuviesen mutaciones en *UGT1A6*. De nuevo, los alelos poco frecuentes (*UGT1A6*3* y **5*) se han englobado en la categoría "otros". En la Tabla 31 se muestran los parámetros farmacocinéticos de acuerdo con los genotipos *UGT1A6*.

En la Tabla 32 se muestran las comparaciones de los parámetros farmacocinéticos correspondientes a la Tabla anterior. Se han utilizado Test de Student, de Welch o U de Mann Withney dependiendo de la distribución normal de cada parámetro. Todos los genotipos se han comparado con el genotipo de referencia *UGT1A6*1/*1*, excluyendo de las comparaciones a los participantes que tenían genotipos mutados *UGT1A9*. Dado que se ha confirmado que el sexo es un determinante

de algunos parámetros farmacocinéticos, en las comparaciones se muestran los valores de P crudos (T de Student, test de Welch o U de Mann Withney), y ajustado por sexo (Likelyhood ratio test).

Se observan diferencias estadísticamente significativas en los valores de AUMC y MRT, si bien estas diferencias no se observan en todos los genotipos. Globalmente los resultados apuntan a que las variantes de *UGT1A6* también modifican los parámetros farmacocinéticos en los pacientes que siguen cinéticas bicompartimentales, aunque el poder estadístico en este caso es reducido. De modo que se analizó el efecto global de la presencia de todas las variantes de *UGT1A6*, estratificando a los pacientes de acuerdo con el número de alelos *UGT1A6* mutados, agrupando todas las variantes en una categoría. Los resultados se muestran en la Tabla 33.

Se observan incrementos en los valores de $t_{1/2}$ beta en los portadores de mutaciones y un incremento en los valores de AUC y de MRT. No obstante, aunque los efectos se parecen a los que se observan en los pacientes con cinética monocompartimental, en este caso no se alcanza significación estadística relevante en ninguna de las asociaciones. Ello puede ser debido al menor número de pacientes en este grupo.

Tabla 30. Parámetros farmacocinéticos según el IMC en modelo bicompartimental.

Parámetro	Peso bajo/normal (N= 5) (media; SD, min-máx.)	Sobrepeso (N=14) (media; SD, min-máx.)	Obesidad (N=28) (media; SD, min-máx.)	Comparación Bajo/normal vs. Sobrepeso	Comparación Bajo/normal vs. Obesidad	Comparación Sobrepeso vs. Obesidad
K10 (1/h)	0.49; 0.10, 0.37-0.62	0.71; 0.51, 0.25-1.83	0.75; 0.52, 0.18-2.15	0.711	0.422	0.749
K12 (1/h)	0.79; 0.45, 0.35-0.62	0.90; 0.71, 0.07-2.22	1.07; 1.12, 0.04-3.58	0.752	0.846	0.914
K21 (1/h)	1.19; 0.32, 0.83-1.69	1.05; 0.64, 0.06-1.96	0.93; 0.57, 0.13-2.14	0.546	0.344	0.555
t1/2 α (h)	0.35; 0.12, 0.23-0.50	0.54; 0.59, 0.15-2.29	0.57; 0.44, 0.10-1.62	0.926	0.547	0.749
t1/2 β (h)	2.66; 0.47, 2.15-3.41	4.95; 6.86, 1.22-25.72	3.54; 3.78, 1.01-18.03	0.229	0.393	0.979
Vd (mg/(ug/ml))	61.09; 21.51, 32.91-79.19	66.15; 32.01, 26.92-143.93	76.30; 42.90, 20.36-181.78	0.749	0.448	0.439
CL (mg/(ug/ml)/h)	28.18; 6.04, 20.27-33.89	42.05; 27.20, 6.65-109.62	43.26; 19.73, 12.36-83.17	0.282	0.105	0.870
CL2 (mg/(ug/ml)/h)	44.66; 29.55, 26.53-96.19	45.60; 39.18, 0.65-132.85	40.43; 31.46, 0.85-107.72	1.000	0.422	0.810
AUC 0-t (ug/ml*h)	28.19; 6.87, 22.53-37.58	23.40; 10.02, 7.81-40.59	20.81; 10.06, 10.24-61.51	0.340	0.040	0.311
AUC 0-inf (ug/ml*h)	36.95; 8.59, 29.50-49.34	35.01; 28.29, 9.12-124.06	28.03; 15.40, 12.02-80.90	0.405	0.063	0.505
AUMC (ug/ml*h ²)	127.09; 36.89, 84.76-167.87	96.86; 91.15, 14.59-366.80	149.15; 228.41, 19.99-986.82	0.085	0.050	0.845
MRT (h)	3.44; 0.70, 2.87-4.65	5.06; 7.53, 1.25-30.40	4.03; 4.13, 1.33-19.75	0.229	0.296	0.915
Vss ((mg/(ug/ml))	96.69; 27.60, 68.95-136.05	126.50; 62.16, 47.06-228.80	134.35; 67.59, 42.36-326.22	0.169	0.234	0.718

Tabla 31. Parámetros farmacocinéticos según los genotipos *UGT1A6* en modelo bicompartimental.

Parámetro	UGT1A6*1/*1 (N = 14) Media; SD, rango	UGT1A6*1/*2 (N=12) Media; SD, rango	UGT1A6*1/*3 (N=5) Media; SD, rango	UGT1A6*1/*otros (N=1) Media; SD, rango	UGT1A6*2/*2 (N=2) Media; SD, rango	UGT1A6*2/*3 (N=1) Media; SD, rango	UGT1A6*2/*4 (N=3) Media; SD, rango	UGT1A6*3/*4 (N=2) Media; SD, rango
K10 (1/h)	0.84; 0.57, 0.27-1.86	0.50; 0.24, 0.18-0.92	0.73; 0.43, 0.37-1.28	2.15; --	0.57; 0.06, 0.52-0.61	0.44; --	0.40; 0.20, 0.23-0.62	0.96; 0.30, 0.75-1.16
K12 (1/h)	0.95; 1.01, 0.04-3.55	1.22; 0.54, 0.25-1.72	0.99; 1.00, 0.13-2.60	3.58; --	0.22; 0.00; 0.22-0.22	0.07; --	0.36; 0.15; 0.19-0.48	1.41; 1.46, 0.38-2.44
K21 (1/h)	1.02; 0.52, 0.28-1.96	0.95; 0.65, 0.18-1.89	1.09; 0.67, 0.32-1.69	1.29; --	0.99; 0.41, 0.69-1.28	0.06; --	0.80; 0.59, 0.13-1.25	1.15; 0.19, 1.01-1.29
t1/2 α (h)	0.46; 0.38, 0.11-1.36	0.73; 0.69, 0.18-2.29	0.47; 0.38, 0.14-0.98	0.10; --	0.51; 0.12, 0.43-0.60	1.34; --	0.58; 0.24, 0.42-0.86	0.28; 0.18, 0.15-0.41
t1/2 β (h)	2.47; 1.20, 1.22-5.78	4.25; 3.53, 1.10-11.18	2.67; 1.18, 1.11-4.04	1.65; --	1.78; 0.16, 1.66-1.89	13.90; --	7.41; 9.20, 1.85-18.03	1.83; 0.40, 1.55-2.11
Vd (mg/(ug/ml))	72.16; 39.88, 26.87-143.43	77.72; 41.11, 20.36-181.78	59.60; 29.40, 21.09-85.39	22.61; --	89.81; 76.54, 35.69-143.93	105.02; --	70.54; 23.05, 47.40-93.50	67.82; 59.72, 25.29-110.05
CL (mg/(ug/ml)/h)	46.89; 19.03, 20.27-83.17	34.77; 19.26, 12.36-71.29	33.39; 6.17, 27.08-41.06	48.71; --	48.50; 37.64, 21.89-75.12	46.04; --	26.34; 8.74, 16.51-33.23	55.94; 36.99, 29.79-82.10
CL2 (mg/(ug/ml)/h)	43.99; 30.41, 4.66-107.72	46.01; 37.72, 0.65-108.43	42.08; 34.42, 9.81-96.19	80.97; --	19.59; 16.55, 7.89-31.30	7.27; --	23.89; 8.86, 17.91-34.07	52.02; 14.84, 41.53-62.52
AUC 0-t (ug/ml*h)	19.92; 8.09, 10.24-37.58	24.41; 13.44, 10.46-61.51	24.73; 5.12, 18.29-32.32	80.97; --	19.59, 16.55, 7.89-31.30	7.27; --	23.89; 8.86, 17.91-34.07	52.02; 14.84, 41.53-62.52
AUC 0-inf (ug/ml*h)	24.60; 10.67, 12.02-49.34	36.08; 19.48, 12.65-80.90	30.75; 5.45, 24.35-36.93	16.94; --	29.50; 22.89, 13.31-45.68	21.72; --	38.07; 10.49, 30.09-49.96	22.87; 15.12, 12.18-33.57
AUMC (ug/ml*h ²)	73.09; 47.51, 20.65-167.87	211.99; 225.28, 19.99-690.02	94.76; 45.03, 34.14-158.83	29.73; --	64.02; 48.33, 29.84-98.18	107.93; --	387.51; 519.11, 78.03-986.82	53.03; 43.31, 22.41-83.65
MRT (h)	2.82; 1.26, 1.25-6.36	5.02; 3.91, 1.42-12.78	3.05; 1.31; 1.33-4.65	1.76; --	2.20; 0.07, 2.15-2.24	4.97; --	8.43; 9.82, 2.28-19.75	2.17; 0.46, 1.84-2.49
Vss ((mg/(ug/ml))	122.64; 53.47, 68.95-249.76	136.75; 65.25, 42.36-227.81	100.93; 46.24, 51.48-157.08	85.50; --	107.73; 85.80, 47.06-168.40	228.80; --	166.99; 139.41, 66.90-326.22	112.64; 54.31, 74.24-151.04

Tabla 32. Parámetros farmacocinéticos según los genotipos *UGT1A6* y sexo en modelo bicompartimental.

Parámetro	UGT1A6*1/*1 P-valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*1/*2 P- valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*1/*3 P- valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*1/*otros P-valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*2/*2 P- valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*2/*3 P- valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*2/*4 P-valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*3/*4 P- valor (crudo; ajustado por sexo)
K10 (1/h)	Valor de referencia	0.165; 0.062	0.711; 0.749	--	0.751; 0.944	--	0.131; 0.567	0.341; 0.381
K12 (1/h)	Valor de referencia	0.152; 0.481	0.853; 0.856	--	0.341; 0.686	--	0.529; 0.805	0.634; 0.257
K21 (1/h)	Valor de referencia	0.784; 0.844	0.800; 0.771	--	0.937; 0.856	--	0.523; 0.761	0.737; 0.561
t1/2 α (h)	Valor de referencia	0.572; 0.248	0.781; 0.975	--	0.341; 0.837	--	0.257; 0.990	0.634; 0.318
t1/2 β (h)	Valor de referencia	0.150; 0.087	0.643; 0.707	--	0.266; 0.431	--	0.529; 0.054	0.525; 0.466
Vd (mg/(ug/ml))	Valor de referencia	0.758; 0.730	0.531; 0.536	--	0.600; 0.757	--	0.948; 0.760	0.892; 0.749
CL (mg/(ug/ml)/h)	Valor de referencia	0.100; 0.127	0.144; 0.150	--	0.920; 0.744	--	0.093; 0.187	0.574; 0.444
CL2 (mg/(ug/ml)/h)	Valor de referencia	0.959; 0.790	0.908; 0.949	--	0.295; 0.638	--	0.285; 0.741	0.725; 0.303
AUC 0-t (ug/ml*h)	Valor de referencia	0.355; 0.341	0.235; 0.255	--	0.738; 0.592	--	0.410; 0.700	0.980; 0.735
AUC 0-inf (ug/ml*h)	Valor de referencia	0.123; 0.070	0.240; 0.261	--	0.597; 0.823	--	0.065; 0.145	0.839; 0.617
AUMC (ug/ml*h ²)	Valor de referencia	0.072; 0.030	0.388; 0.394	--	0.805; 0.631	--	0.131; 0.028	0.583; 0.441
MRT (h)	Valor de referencia	0.057; 0.055	0.517; 0.690	--	0.427; 0.458	--	0.257; 0.040	0.341; 0.469
Vss ((mg/(ug/ml))	Valor de referencia	0.572; 0.534	0.517; 0.477	--	0.751; 0.806	--	0.900; 0.347	0.751; 0.882

Tabla 33. Parámetros farmacocinéticos según el número de alelos *UGT1A6* mutados.

Parámetro	UGT1A6*1/*1 (N = 14) Media; SD, rango	UGT1A6*1/mut (N = 18) Media; SD, rango	UGT1A6*1/mut P-valor (crudo; ajustado por sexo)	UGT1A6*mut/*mut (N = 8) Media; SD, rango	UGT1A6*mut/*mut P-valor (crudo; ajustado por sexo)
K10 (1/h)	0.84; 0.57, 0.27-1.86	0.66; 0.48, 0.18-2.15	0.362; 0.350	0.59; 0.28, 0.23-1.16	0.173; 0.588
K12 (1/h)	0.95; 1.01, 0.04-3.55	1.31; 0.95, 0.13-3.58	0.168; 0.330	0.55; 0.78, 0.07-2.44	0.339; 0.685
K21 (1/h)	1.02; 0.52, 0.28-1.96	1.01; 0.62, 0.18-1.89	0.974; 0.965	0.84; 0.50, 0.06-1.29	0.444; 0.475
t1/2 α (h)	0.46; 0.38, 0.11-1.36	0.62; 0.61, 0.10-2.29	0.970; 0.433	0.58; 0.36, 0.15-1.34	0.473; 0.519
t1/2 β (h)	2.47; 1.20, 1.22-5.78	3.66; 3.02, 1.01-11.18	0.271; 0.167	5.42; 6.61, 1.55-18.03	0.946; 0.059
Vd (mg/(ug/ml))	72.16; 39.88, 26.87-143.43	69.63; 38.77, 20.36-181.87	0.879; 0.915	78.99; 41.17, 25.59-143.93	0.707; 0.796
CL (mg/(ug/ml)/h)	46.89; 19.03, 20.27-83.17	35.16; 16.15, 12.36-71.29	0.069; 0.076	41.75; 24.38, 16.51-82.10	0.588; 0.814
CL2	43.99; 30.41, 4.66-107.72	46.86; 35.71, 0.65-108.43	0.812; 0.682	27.77; 18.62, 7.27-62.52	0.189; 0.450
AUC 0-t (ug/ml*h)	19.92; 8.09, 10.24-37.58	23.96; 11.33, 10.46-61.51	0.269; 0.327	22.73; 9.97, 11.19-40.59	0.480; 0.797
AUC 0-inf (ug/ml*h)	24.60; 10.67, 12.02-49.34	33.54; 16.60, 12.65-80.90	0.090; 0.106	30.08; 13.83, 12.18-49.96	0.310; 0.580
AUMC (ug/ml*h ²)	73.09; 47.51, 20.65-167.87	169.30; 193.35, 19.99-690.02	0.056; 0.082	188.07; 324.29, 22.41-986.82	0.453; 0.284
MRT (h)	2.82; 1.26, 1.25-6.36	4.29; 3.39, 1.33-12.78	0.129; 0.127	4.87; 6.09, 1.84-19.75	0.785; 0.273
Vss ((mg/(ug/ml))	122.64; 53.47, 68.95-249.76	123.95; 60.13, 42.36-227.81	0.970; 0.860	146.31; 94.50, 47.06-326.22	0.458; 0.338

5. DISCUSIÓN:

El paracetamol presenta grandes diferencias interindividuales en su metabolismo (26). Se inicia con una conjugación con ácido glucurónico catalizada por diversas enzimas de la familia UGT y, entre ellas, la más relevante es la UGT1A6 (22). De hecho, los glucurónidos de paracetamol constituyen más del 50% de los metabolitos recuperados en orina, por lo que se estima que las variaciones en la capacidad de llevar a cabo la glucuronidación de paracetamol pueden constituir uno de los factores más relevantes en su farmacocinética (21). El paracetamol causa frecuentes efectos adversos que comparte con los AINEs y otros inhibidores COX, como el metamizol. Entre ellos se encuentran las reacciones de hipersensibilidad selectivas y cruzadas, las reacciones de hepatotoxicidad idiosincrática (DILI) [53-91].

Pero además el paracetamol presenta también reacciones dosis-dependientes que son muy frecuentes (85) y por lo tanto es probable que en el caso de que se identificase algún factor capaz de predecir la farmacocinética o el fenotipo metabólico del paracetamol de un paciente, y particularmente si se identificase algún factor genético, el tratamiento con paracetamol se convertiría en un objetivo de primer orden para estudios farmacogenéticos. Sin embargo, hasta el momento no se han aportado evidencias concluyentes de que exista alguna variación farmacogenómica que se relacione con la farmacocinética del paracetamol.

Dado que a dosis terapéuticas las principales enzimas implicadas en el metabolismo del paracetamol son las enzimas UGT1A6, seguida de UGT1A9 y UGT1A1 (86), se han llevado a cabo numerosos estudios buscando asociaciones de los polimorfismos con repercusión funcional en esos genes y la farmacocinética y/o los efectos adversos del paracetamol.

Desafortunadamente hasta la fecha no se han identificado asociaciones concluyentes. Respecto a UGT1A1, un reciente estudio llevado a cabo en población japonesa analizó dos variaciones de UGT1A1, una de ellas era una variación no sinónima, rs4148323 que causa la sustitución del aminoácido Gly71Arg, que está clasificada como deletérea en SIFT (*sort intolerance from tolerance*) y como probablemente deletérea en

Polyphen, y que define la variante alélica *UGT1A1*6*. La otra variación analizada define la variante *UGT1A1*28* y se trata de un polimorfismo de microsatélites en el promotor del gen. Este estudio sugirió que los portadores de esas variantes mostraban una susceptibilidad alta a daño hepático con alteraciones de los niveles de alanina aminotransferasa (87)

Este estudio no analizaba la farmacocinética, pero planteaba la hipótesis de que el daño hepático pudiese estar relacionado con una mayor exposición del organismo al paracetamol en los portadores de esas variantes genéticas. Sin embargo, y aunque la variante *UGT1A1*6* está claramente relacionada con una disminución funcional de la enzima (33), el efecto de esta variante no se ha podido analizar en nuestro estudio porque es extremadamente infrecuente en nuestra población, como se muestra en el apartado de resultados, y no pudimos identificar a ningún portador de ésta. Respecto a la variante que define el alelo *UGT1A1*28*, no ha sido analizado en el estudio porque se ha demostrado que no tienen efecto en el metabolismo de paracetamol (27). Si que hemos incluido la mutación rs35350960 que define variante *UGT1A1*27*, que causa la sustitución del aminoácido Pro229Gln, y que está clasificada como probablemente deletérea en Polyphen y como tolerada en SIFT.

Aunque la frecuencia esperada en nuestra población es muy baja de acuerdo con las bases de datos de acceso público, la incluimos para evitar que algún individuo aislado que fuese portador de la misma pudiese distorsionar los resultados. No obstante, no se encontró ningún portador, como se muestra en el apartado de resultados. Respecto a *UGT1A9*, hemos analizado la variante que define el alelo *UGT1A9*3*, que tiene efecto funcional y se relaciona con una alta exposición del organismo a otros sustratos de esta enzima, como el raltegravir (88).

Nuestros resultados, sin embargo, no permiten un estudio detallado del efecto de esta variante en la farmacocinética del paracetamol porque la frecuencia de esta variante es baja en nuestra población. Respecto a *UGT1A6*, y aunque se han descrito un buen número de variantes alélicas, existe poca información sobre su posible efecto en el metabolismo de paracetamol. Estudios *in vitro* indican que la variante *UGT1A6*2* codifica una enzima con actividad incrementada hacia paracetamol y otros sustratos, comparada con la codificada por el gen no mutado (37). Ese efecto está respaldado por

un estudio independiente que indica que en los portadores de la variante UGT1A6*2 hay menores niveles de paracetamol en orina que en los no portadores, aunque la significación estadística que alcanza es marginal (38) .

En este sentido hay que hacer notar que los niveles de paracetamol en orina no son un buen reflejo de su farmacocinética, y que la hipótesis que sugiere el estudio (es decir que menores niveles en orina indican un menor metabolismo del fármaco) no permite concluir que la farmacocinética del paracetamol resulte alterada en uno u otro sentido. Hay muy pocos estudios en los que realmente se haya analizado la farmacocinética del paracetamol. En uno de ellos se demostró que los portadores de UGT1A6*2 tenían disminuida la glucuronoconjugación del paracetamol, observándose además un efecto de dosis génica, ya que los heterocigotos mostraban un 15% de reducción y los homocigotos un 22% de reducción. Sin embargo, debido al escaso tamaño muestral de ese estudio, los resultados no alcanzaron significación estadística (26). Cuando se publicaron, esos resultados fueron polémicos porque apuntaban en dirección contraria a la hipótesis establecida por estudios *in vitro* de que UGT1A6*2 incrementaba la actividad enzimática. De hecho, en el estudio mencionado los portadores de UGT1A6*2 tenían menores ratios del glucurónido versus paracetamol sin metabolizar que los no portadores, con una disminución de 17% en los heterocigotos y del 27% en los homocigotos.

El estudio llevado a cabo en esta tesis apunta en la misma dirección, pero tiene una mayor significación estadística, un mayor tamaño muestral y el efecto que se observa es superior al previamente descrito. Las diferencias que existen entre el estudio llevado a cabo en esta tesis y el estudio farmacocinético previo (26) son las siguientes: tamaño muestral muy superior (186 pacientes frente a 94), que permite identificar asociaciones significativas que no eran detectables en el estudio previo de acuerdo con su poder estadístico. Administración intravenosa en nuestro estudio y oral en el estudio previo. La administración oral introduce muchos factores difíciles de controlar que influyen la capacidad de absorción. De hecho, el rango de valores medios en las concentraciones de paracetamol cuando se utiliza la vía oral en lugar de la vía intravenosa se incrementa en más del doble (89) lo que puede atribuirse a los

numerosos factores que modifican la absorción (90). Por ese motivo, en nuestro estudio se pueden evaluar los parámetros farmacocinéticos con mucha más exactitud. Otro factor relevante es que en el estudio previo solamente se analizaba la variante *UGT1A6*2*. De hecho, los SNPs que analizaron fueron rs6759892, rs2070959 y rs1105879. No se aportan detalles de cómo se hizo la desambiguación de haplotipos, pero hay que tener en cuenta que esos SNPs aparecen en más variantes alélicas además de la variante *UGT1A6*2*.

Nuestro estudio, en cambio, permite identificar y discriminar entre las principales variantes alélicas. Otro punto fuerte de esta tesis es el análisis del efecto de los tratamientos previos y los tratamientos concomitantes y haber tenido tamaño muestral suficiente para eliminar la influencia del posible efecto en la farmacocinética de las mutaciones del gen *UGT1A9* en el estudio del efecto de *UGT1A6* y viceversa.

Todos esos factores pueden explicar que en nuestro grupo de estudio los efectos observados sean mayores y estén mejor definidos.

Entre los resultados más relevantes de esta tesis destaca el hecho de que algunas variantes del gen *UGT1A6* se relacionan de forma estrecha con la farmacocinética del paracetamol. Particularmente son las variantes *UGT1A6*2* y *UGT1A6*4* las que muestran una relación más estrecha, y apuntan a que estas variantes podrían codificar una enzima con una capacidad disminuida de metabolizar paracetamol in vivo. Estas variantes comparten dos SNPs (rs6759892 y rs1105879), mientras que otras variantes como *UGT1A6*3* o *UGT1A6*9* parecen tener un efecto menor. Si comparamos los SNPs que forman parte de estas variantes alélicas observamos la siguiente distribución:

Tabla 34. Distribución de los SNPs

Variante	rs6759892	rs2070959	rs1105879	rs1105880	Efecto en la farmacocinética de paracetamol
<i>UGT1A6*2</i>	+	+	+	+	+
<i>UGT1A6*3</i>	+			+	-
<i>UGT1A6*4</i>	+		+	+	+
<i>UGT1A6*9</i>			+		-

A la vista de la distribución de SNPs, no se observa un SNP específico que solamente esté en las variantes que causan efecto, por lo que el efecto parece estar más relacionado con el haplotipo que con un SNP en particular. Si bien esta observación debe interpretarse con cautela debido a que el número de portadores de las variantes

(excepto *UGT1A6*2*) es relativamente reducido a pesar del tamaño muestral en este estudio. Por lo tanto, para extrapolar los resultados de esta Tesis a guías farmacogenéticas, deberían en principio analizarse todos los SNPs mencionados.

Nuestro estudio ha sido llevado a cabo, tras una sola administración de paracetamol, pero los efectos que se observan en los portadores de las variantes de *UGT1A6* podrían ser superiores en una administración múltiple y también cuando el paracetamol se utiliza a dosis muy altas. Este trabajo proporciona una base para plantear el desarrollo de test encaminados a predecir la farmacocinética y/o la probabilidad de desarrollar reacciones adversas con paracetamol, especialmente las que son dosis- o concentración-dependientes. Sin embargo, para refinar más la capacidad predictiva, es necesario considerar otros factores que condicionan el metabolismo de paracetamol. Entre ellos el sexo parece uno de los factores más relevantes como se muestra en este estudio y en un estudio previo en el que se observaba que los valores de $t_{1/2}$ eran ligeramente menores en mujeres que en hombres, una observación que es consistente con los datos que se muestran en nuestro estudio. (26). Se han descrito algunos miRNAs como el miR-375 que, entre otros miRNAs se han encontrado sobre expresados en hígados con escasa capacidad de conjugar el paracetamol. Los niveles elevados de miR-375 disminuyen la expresión del receptor AhR, que regula la expresión entre otros genes, de *UGT1A1* y *UGT1A6* (91). Estos factores contribuyen a que la asociación genotipo/fenotipo se vea modificada y disminuyen la capacidad predictiva de los test farmacogenéticos.

Otros factores que se han descrito son los tratamientos concomitantes (92), por ejemplo, con AINEs. Nuestros resultados sin embargo, no muestran ningún efecto relevante de tratamientos previos o concomitantes en la farmacocinética del paracetamol (ver el capítulo de resultados), aunque esto no excluye la existencia de interacciones con otros fármacos o los mismos con diferentes dosis o pautas. Podemos concluir que, en este estudio *in vivo*, los genotipos de *UGT1A6* son mucho más predictivos de la farmacocinética del paracetamol que las interacciones farmacológicas.

El estudio de la asociación potencial de las variantes genéticas de *UGT1A6* o de los parámetros farmacocinéticos con la necesidad de un tratamiento adicional para el

dolor no tuvo resultados significativos. Esta ausencia de asociación no excluye completamente que pueda haber alguna relación porque la necesidad de tratamiento adicional está muy influenciada por el motivo de ingreso, o la sensibilidad al dolor entre otros. Para confirmar o descartar esta hipótesis serían necesarios estudios adicionales y especialmente diseñados para estudiar esta hipótesis.

La asociación potencial de las variantes genéticas de *UGT1A6* con los efectos adversos al paracetamol no pudo ser analizada en este estudio porque ninguno de los participantes tuvo efectos adversos. Hay estudios previos de pacientes con fallo hepático agudo secundario al uso de paracetamol en los que no se ha observado asociación con las variaciones en los genes *UGT1A1*, *UGT1A6* y *UGT1A9*, si bien el tamaño muestral es pequeño y por lo tanto se requieren estudios adicionales (93).

6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se pueden extraer de esta tesis doctoral son las siguientes:

1. Existe una amplia variabilidad interindividual en la biodisposición del paracetamol cuando se administra 1 gramo por vía intravenosa. Los rangos de aclaramiento entre los participantes son superiores a un orden de magnitud.
2. En un 25% de los pacientes la farmacocinética del paracetamol puede ajustarse a un modelo monocompartimental y a uno bicompartmental. La presentación de una cinética bicompartmental no muestra relación con la edad, el sexo o el índice de masa corporal de los pacientes.
3. El sexo es un factor determinante en la farmacocinética del paracetamol, las mujeres muestran un menor aclaramiento y valores mayores de AUC que los varones. El índice de masa corporal no muestra relación con la farmacocinética.
4. Los tratamientos previos al inicio del estudio y los tratamientos concomitantes a la administración de paracetamol, a pesar de incluir fármacos considerados como sustratos, inhibidores y/o inductores de las enzimas UGT1A1, UGT1A6 y UGT1A9, no modificaron los parámetros farmacocinéticos.
5. Las frecuencias alélicas de las principales variantes de *UGT1A1*, *UGT1A6* y *UGT1A9* en nuestra población de estudio son similares a las descritas en bases de datos de acceso público. No se ha identificado ningún portador de variantes del gen *UGT1A1*.
6. No se ha observado una asociación significativa de la variante *UGT1A9*3* con la farmacocinética del paracetamol.
7. Las variantes mutadas de *UGT1A6* se relacionan con una alteración en la farmacocinética monocompartimental del paracetamol que en homocigotos o doble heterocigotos causa un aumento en los valores de $t_{1/2}$ de un 22.5%

y un aumento en la exposición al paracetamol del 22.8%. Este efecto se debe principalmente a las variantes *UGT1A6*2* y *UGT1A6*4*.

8. El mismo efecto de los genotipos *UGT1A6* descrito anteriormente, se observa en las cinéticas bicompartimentales, aunque en este caso no alcanza significación estadística debido al tamaño del grupo.
9. La capacidad predictiva de los genotipos *UGT1A6* en la farmacocinética del paracetamol es superior a las interacciones con otros fármacos en el contexto de este estudio, y permite plantear el diseño de test farmacogenéticos para el uso de paracetamol.

7. BIBLIOGRAFÍA:

1. Scott Obach R. Pharmacologically active drug metabolites: impact on drug discovery and pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2013 [cited 2022 Sep 6];65(2):578–640. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23406671/>
2. Casey Laizure S, Herring V, Hu Z, Witbrodt K, Parker RB. The role of human carboxylesterases in drug metabolism: have we overlooked their importance? *Pharmacotherapy* [Internet]. 2013 Feb [cited 2022 Sep 6];33(2):210–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23386599/>
3. Gustavsson L. Pharmacogenomics in Drug Development. 2014 [cited 2022 Sep 6];225–41. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-017-9202-8_11
4. Evans WE, Relling M V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* [Internet]. 1999 Oct 15 [cited 2022 Sep 6];286(5439):487–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10521338/>
5. Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Sep 6];40:581–616. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10836148/>
6. Mackenzie PI, Bock KW, Burchell B, Guillemette C, Ikushiro SI, Iyanagi T, et al. Nomenclature update for the mammalian UDP glycosyltransferase (UGT) gene superfamily. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 6];15(10):677–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16141793/>
7. Burchell B. Genetic variation of human UDP-glucuronosyltransferase: implications in disease and drug glucuronidation. *Am J Pharmacogenomics* [Internet]. 2003 [cited 2022 Sep 6];3(1):37–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12562215/>
8. Tukey RH, Strassburg CP. Genetic Multiplicity of the Human UDP-Glucuronosyltransferases and Regulation in the Gastrointestinal Tract. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2001 Mar 1 [cited 2022 Oct 5];59(3):405–14. Available from: <https://molpharm.aspetjournals.org/content/59/3/405>

9. Yang N, Sun R, Liao X, Aa J, Wang G. UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) and their related metabolic cross-talk with internal homeostasis: A systematic review of UGT isoforms for precision medicine. *Pharmacol Res.* 2017 Jul 1;121:169–83.
10. Kaplan M, Hammerman C, Maisels MJ. Bilirubin genetics for the nongeneticist: hereditary defects of neonatal bilirubin conjugation. *Pediatrics* [Internet]. 2003 Apr 1 [cited 2022 Sep 6];111(4 Pt 1):886–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12671128/>
11. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* [Internet]. 1995 Nov 2 [cited 2022 Sep 6];333(18):1171–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7565971/>
12. Ouzzine M, Barré L, Netter P, Magdalou J, Fournel-Gigleux S. The human UDP-glucuronosyltransferases: structural aspects and drug glucuronidation. *Drug Metab Rev* [Internet]. 2003 [cited 2022 Sep 6];35(4):287–303. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14705862/>
13. Coffman BL, Rios GR, King CD, Tephly TR. Human UGT2B7 Catalyzes Morphine Glucuronidation. *Drug Metabolism and Disposition.* 1997;25(1).
14. Formelli F, Barua AB, Olson JA. Bioactivities of N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and retinoyl β -glucuronide. *The FASEB Journal.* 1996 Jul;10(9):1014–24.
15. Bosma PJ. Inherited disorders of bilirubin metabolism. *J Hepatol* [Internet]. 2003 Jan 1 [cited 2022 Sep 6];38(1):107–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12480568/>
16. Jiunn H. Lin BSP, Bradley K. Wong BSP. Complexities of glucuronidation affecting in vitro in vivo extrapolation. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2002 Mar 25 [cited 2022 Sep 6];3(6):623–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12369890/>
17. Court MH, Zhang X, Ding X, Yee KK, Hesse LM, Finel M. Quantitative distribution of mRNAs encoding the 19 human UDP-glucuronosyltransferase enzymes in 26 adult and 3 fetal tissues. *Xenobiotica* [Internet]. 2012 Mar [cited

- 2022 Sep 6];42(3):266–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21995321/>
18. Rowland A, Miners JO, Mackenzie PI. The UDP-glucuronosyltransferases: their role in drug metabolism and detoxification. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2022 Sep 6];45(6):1121–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23500526/>
 19. Mazerska Z, Mróz A, Pawłowska M, Augustin E. The role of glucuronidation in drug resistance. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2022 Sep 6];159:35–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26808161/>
 20. Ohno S, Nakajin S. Determination of mRNA expression of human UDP-glucuronosyltransferases and application for localization in various human tissues by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Drug Metab Dispos* [Internet]. 2009 Jan [cited 2022 Sep 6];37(1):32–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18838504/>
 21. Agúndez JAG, Gómez-Tabales J, Ruano F, García-Martin E. The potential role of pharmacogenomics and biotransformation in hypersensitivity reactions to paracetamol. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2022 Sep 6];18(4):302–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29794806/>
 22. Mazaleuskaya LL, Sangkuhl K, Thorn CF, Fitzgerald GA, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2015 Jul 22 [cited 2022 Sep 6];25(8):416. Available from: [/pmc/articles/PMC4498995/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/264498995/)
 23. Forrest JAH, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 1982 [cited 2022 Sep 6];7(2):93–107. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7039926/>
 24. Walker V, Mills GA, Anderson ME, Ingle BL, Jackson JM, Moss CL, et al. The acetaminophen metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) inhibits glutathione synthetase in vitro; a clue to the mechanism of 5-oxoprolinuric acidosis? *Xenobiotica* [Internet]. 2017 [cited 2022 Sep 6];47(2):164–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27086508/>

25. Leeming MG, Donald WA, O'Hair RAJ. Nontargeted Identification of Reactive Metabolite Protein Adducts. *Anal Chem* [Internet]. 2017 Jun 6 [cited 2022 Sep 6];89(11):5748–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28481086/>
26. Court MH, Zhu Z, Masse G, Duan SX, James LP, Harmatz JS, et al. Race, Gender, and Genetic Polymorphism Contribute to Variability in Acetaminophen Pharmacokinetics, Metabolism, and Protein-Adduct Concentrations in Healthy African-American and European-American Volunteers. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 Sep 18];362(3):431–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28663312/>
27. Rauchschalbe SK, Zühlsdorf MT, Wensing G, Kuhlmann J. Glucuronidation of acetaminophen is independent of UGT1A1 promotor genotype. *Int J Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2004 [cited 2022 Sep 18];42(2):73–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15180166/>
28. Court MH, Freytsis M, Wang X, Peter I, Guillemette C, Hazarika S, et al. The UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A polymorphism c.2042C>G (rs8330) is associated with increased human liver acetaminophen glucuronidation, increased UGT1A exon 5a/5b splice variant mRNA ratio, and decreased risk of unintentional acetaminophen-induced acute liver failure. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2013 May [cited 2022 Sep 6];345(2):297–307. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23408116/>
29. Tankaniltert J, Morales NP, Howard TA, Fucharoen P, Ware RE, Fucharoen S, et al. Effects of combined UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1*28 and 1A6*2 on paracetamol pharmacokinetics in beta-thalassemia/HbE. *Pharmacology* [Internet]. 2007 Apr [cited 2022 Sep 6];79(2):97–103. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17164591/>
30. Obradovic M, Mrhar A, Kos M. Cost-effectiveness of UGT1A1 genotyping in second-line, high-dose, once every 3 weeks irinotecan monotherapy treatment of colorectal cancer. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2008 May [cited 2022 Sep 6];9(5):539–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18466101/>
31. Kemp DC, Fan PW, Stevens JC. Characterization of raloxifene glucuronidation in vitro: contribution of intestinal metabolism to presystemic clearance. *Drug Metab*

- Dispos [Internet]. 2002 [cited 2022 Sep 6];30(6):694–700. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12019197/>
32. Kishi S, Yang W, Boureau B, Morand S, Das S, Chen P, et al. Effects of prednisone and genetic polymorphisms on etoposide disposition in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* [Internet]. 2004 Jan 1 [cited 2022 Sep 6];103(1):67–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12969965/>
33. Yamamoto K, Sato H, Fujiyama Y, Doida Y, Bamba T. Contribution of two missense mutations (G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase (UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 1998 Apr 28 [cited 2022 Sep 18];1406(3):267–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9630669/>
34. Tukey RH, Strassburg CP, Mackenzie PI. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferases and irinotecan toxicity. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2022 Sep 6];62(3):446–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12181419/>
35. Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1998 Jul 7 [cited 2022 Sep 6];95(14):8170–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9653159/>
36. (TA)8 allele in the UGT1A1 gene promoter of a Caucasian with Gilbert's syndrome - PubMed [Internet]. [cited 2022 Sep 6]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10091406/>
37. Krishnaswamy S, Hao Q, Al-Rohaimi A, Hesse LM, Von Moltke LL, Greenblatt DJ, et al. UDP glucuronosyltransferase (UGT) 1A6 pharmacogenetics: II. Functional impact of the three most common nonsynonymous UGT1A6 polymorphisms (S7A, T181A, and R184S). *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2005 Jun [cited 2022 Sep 18];313(3):1340–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15761113/>

38. Navarro SL, Chen Y, Li L, Li SS, Chang JL, Schwarz Y, et al. UGT1A6 and UGT2B15 polymorphisms and acetaminophen conjugation in response to a randomized, controlled diet of select fruits and vegetables. *Drug Metab Dispos* [Internet]. 2011 Sep [cited 2022 Sep 18];39(9):1650–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21666065/>
39. Toce MS, Kim H, Chung S, Krauss BS. Prolonged central apnoea after intravenous morphine administration in a 12-year-old male with a UGT1A1 loss-of-function polymorphism. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Sep 6];85(1):258–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30421550/>
40. Aono S, Yamada Y, Keino H, Hanada N, Nakagawa T, Sasaoka Y, et al. Identification of defect in the genes for bilirubin UDP-glucuronosyl-transferase in a patient with Crigler-Najjar syndrome type II. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1993 Dec 30 [cited 2022 Sep 6];197(3):1239–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8280139/>
41. Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Kaniwa N, Ozawa S, et al. Genetic polymorphisms of UGT1A6 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 6];20(1):85–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15770079/>
42. Nagar S, Zalatoris JJ, Blanchard RL. Human UGT1A6 pharmacogenetics: identification of a novel SNP, characterization of allele frequencies and functional analysis of recombinant allozymes in human liver tissue and in cultured cells. *Pharmacogenetics* [Internet]. 2004 Aug [cited 2022 Sep 6];14(8):487–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15284531/>
43. Ciotti M, Marrone A, Potter C, Owens IS. Genetic polymorphism in the human UGT1A6 (planar phenol) UDP-glucuronosyltransferase: pharmacological implications. *Pharmacogenetics* [Internet]. 1997 [cited 2022 Sep 6];7(6):485–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9429234/>
44. Villeneuve L, Girard H, Fortier LC, Gagné JF, Guillemette C. Novel functional polymorphisms in the UGT1A7 and UGT1A9 glucuronidating enzymes in Caucasian and African-American subjects and their impact on the metabolism of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin and flavopiridol anticancer drugs. *J Pharmacol*

- Exp Ther [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2022 Sep 6];307(1):117–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12944498/>
45. Sugatani J, Yamakawa K, Tonda E, Nishitani S, Yoshinari K, Degawa M, et al. The induction of human UDP-glucuronosyltransferase 1A1 mediated through a distal enhancer module by flavonoids and xenobiotics. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2004 Mar 1 [cited 2022 Sep 6];67(5):989–1000. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15104253/>
46. di Masi A, Marinis E De, Ascenzi P, Marino M. Nuclear receptors CAR and PXR: Molecular, functional, and biomedical aspects. *Mol Aspects Med* [Internet]. 2009 Oct [cited 2022 Oct 5];30(5):297–343. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19427329/>
47. Zucker K, Tsaroucha A, Olson L, Esquenazi V, Tzakis A, Miller J. Evidence that tacrolimus augments the bioavailability of mycophenolate mofetil through the inhibition of mycophenolic acid glucuronidation. *Ther Drug Monit* [Internet]. 1999 Feb [cited 2022 Sep 6];21(1):35–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10051052/>
48. Ethell BT, Anderson GD, Burchell B. The effect of valproic acid on drug and steroid glucuronidation by expressed human UDP-glucuronosyltransferases. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2022 Sep 6];65(9):1441–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12732356/>
49. (PDF) Goodman y Gilman Las bases farmacologicas de la Terapeutica 12a edicion español | Karla Rodríguez - Academia.edu [Internet]. [cited 2022 Sep 6]. Available from: https://www.academia.edu/42336442/Goodman_y_Gilman_Las_bases_farmacologicas_de_la_Terapeutica_12a_edicion_espa%C3%B1ol
50. Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 6];76(5):887–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15789306/>

51. [Pharmacologic basis for using paracetamol: pharmacokinetic and pharmacodynamic issues] - PubMed [Internet]. [cited 2023 Feb 9]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14758786/>
52. Theken KN, Lee CR, Gong L, Caudle KE, Formea CM, Gaedigk A, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIC) for CYP2C9 and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2022 Sep 18];108(2):191–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32189324/>
53. Agúndez JAG, García-Martín E, Martínez C. Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? *Expert Opin Drug Metab Toxicol* [Internet]. 2009 Jun [cited 2022 Sep 18];5(6):607–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19422321/>
54. Jurado-Escobar R, Doña I, Triano-Cornejo J, Perkins JR, Pérez-Sánchez N, Testera-Montes A, et al. Genetic Variants in Cytosolic Phospholipase A2 Associated With Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Acute Urticaria/Angioedema. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 Apr 30 [cited 2022 Sep 18];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33995098/>
55. Pérez-Alzate D, Cornejo-García JA, Pérez-Sánchez N, Andreu I, García-Moral A, Agúndez JA, et al. Immediate Reactions to More Than 1 NSAID Must Not Be Considered Cross-Hypersensitivity Unless Tolerance to ASA Is Verified. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2017 [cited 2022 Sep 18];27(1):32–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28211343/>
56. Macías Y, García-Menaya JM, Martí M, Cordobés C, Jurado-Escobar R, Cornejo-García JA, et al. Lack of Major Involvement of Common CYP2C Gene Polymorphisms in the Risk of Developing Cross-Hypersensitivity to NSAIDs. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 Sep 21 [cited 2022 Sep 18];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34621165/>
57. García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JAG. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy

- individuals. *Mol Diagn Ther* [Internet]. 2006 [cited 2022 Sep 18];10(1):29–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16646575/>
58. Lucena MI, García-Martín E, Daly AK, Blanca M, Andrade RJ, Agúndez JAG. Next-Generation Sequencing of PTGS Genes Reveals an Increased Frequency of Non-synonymous Variants Among Patients With NSAID-Induced Liver Injury. *Front Genet* [Internet]. 2019 [cited 2022 Sep 18];10(FEB). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30873208/>
59. Doña I, Barrionuevo E, Salas M, Laguna JJ, Agúndez J, García-Martín E, et al. NSAIDs-hypersensitivity often induces a blended reaction pattern involving multiple organs. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 Sep 18];8(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30420763/>
60. Martínez C, Blanco G, García-Martín E, José JA. [Clinical pharmacogenomics for CYP2C8 and CYP2C9: general concepts and application to the use of NSAIDs]. *Farm Hosp* [Internet]. 2006 [cited 2022 Sep 18];30(4):240–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17022718/>
61. Blanca-López N, Pérez-Sánchez N, Agúndez JA, García-Martín E, Torres MJ, Cornejo-García JA, et al. Allergic Reactions to Metamizole: Immediate and Delayed Responses. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2016 Jun 15 [cited 2022 Sep 18];169(4):223–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27224978/>
62. Ariza A, García-Martín E, Salas M, Montañez MI, Mayorga C, Blanca-Lopez N, et al. Pyrazolones metabolites are relevant for identifying selective anaphylaxis to metamizole. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Mar 31 [cited 2022 Sep 18];6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27030298/>
63. Blanca-López N, Pérez-Alzate D, Andreu I, Doña I, Agúndez JA, García-Martín E, et al. Immediate hypersensitivity reactions to ibuprofen and other arylpropionic acid derivatives. *Allergy* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 Sep 18];71(7):1048–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26841325/>
64. García-Martín E, Esguevillas G, Blanca-López N, García-Menaya J, Blanca M, Amo G, et al. Genetic determinants of metamizole metabolism modify the risk of

- developing anaphylaxis. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2015 Aug 19 [cited 2022 Sep 18];25(9):462–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26111152/>
65. Amo G, Cornejo-García JA, García-Menaya JM, Cordobes C, Torres MJ, Esguevillas G, et al. FCERI and Histamine Metabolism Gene Variability in Selective Responders to NSAIDS. *Front Pharmacol* [Internet]. 2016 Sep 29 [cited 2022 Sep 18];7(SEP). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27746735/>
66. Blanco G, Martínez C, Ladero JM, Garcia-Martin E, Taxonera C, Gamito FG, et al. Interaction of CYP2C8 and CYP2C9 genotypes modifies the risk for nonsteroidal anti-inflammatory drugs-related acute gastrointestinal bleeding. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2008 Jan [cited 2022 Sep 18];18(1):37–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18216720/>
67. Ayuso P, Blanca M, Cornejo-García JA, Torres MJ, Doña I, Salas M, et al. Variability in histamine receptor genes HRH1, HRH2 and HRH4 in patients with hypersensitivity to NSAIDs. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2013 Nov [cited 2022 Sep 18];14(15):1871–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24236486/>
68. Agúndez JAG, Ayuso P, Cornejo-García JA, Blanca M, Torres MJ, Doña I, et al. The diamine oxidase gene is associated with hypersensitivity response to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *PLoS One* [Internet]. 2012 Nov 12 [cited 2022 Sep 18];7(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23152756/>
69. Amo G, Martí M, García-Menaya JM, Cordobés C, Cornejo-García JA, Blanca-López N, et al. Identification of Novel Biomarkers for Drug Hypersensitivity After Sequencing of the Promoter Area in 16 Genes of the Vitamin D Pathway and the High-Affinity IgE Receptor. *Front Genet* [Internet]. 2019 [cited 2022 Sep 18];10(JUN). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31293618/>
70. Agúndez JAG, Martínez C, García-Martín E, Ladero JM. Cytochrome P450 CYP2C9 polymorphism and NSAID-related acute gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* [Internet]. 2007 [cited 2022 Sep 18];133(6):2071–2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18054585/>

71. Martínez C, Blanco G, Ladero JM, García-Martín E, Taxonera C, Gamito FG, et al. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2004 Jan [cited 2022 Sep 18];141(2):205–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14707031/>
72. Lucena MI, Andrade RJ, Martínez C, Ulzurrun E, García-Martín E, Borraz Y, et al. Glutathione S-transferase m1 and t1 null genotypes increase susceptibility to idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology* [Internet]. 2008 Aug [cited 2022 Sep 18];48(2):588–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18666253/>
73. Pérez-Alzate D, Blanca-López N, Doña I, Agúndez JA, García-Martín E, Cornejo-García JA, et al. Asthma and Rhinitis Induced by Selective Immediate Reactions to Paracetamol and Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs in Aspirin Tolerant Subjects. *Front Pharmacol* [Internet]. 2016 Jul 20 [cited 2022 Sep 18];7(JUL). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27489545/>
74. Lucena MI, García-Martín E, Andrade RJ, Martínez C, Stephens C, Ruiz JD, et al. Mitochondrial superoxide dismutase and glutathione peroxidase in idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology* [Internet]. 2010 Jul [cited 2022 Sep 18];52(1):303–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20578157/>
75. Andrade R, Agundez J, Lucena M, Martinez C, Cueto R, Garcia-Martin E. Pharmacogenomics in drug induced liver injury. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2009 Feb 11 [cited 2022 Sep 18];10(9):956–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20214588/>
76. Agundez J, Martinez C, Perez-Sala D, Carballo M, Torres M, Garcia-Martin E. Pharmacogenomics in aspirin intolerance. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2009 Feb 11 [cited 2022 Sep 18];10(9):998–1008. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20214591/>
77. Cornejo-García JA, Jurado-Escobar R, Doña I, Perkins JR, Agúndez JA, García-Martín E, et al. The Genetics of Drug Hypersensitivity Reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 18];26(4):222–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27375032/>

78. Plaza-Serón MDC, García-Martín E, Agúndez JA, Ayuso P. Hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an update on pharmacogenetics studies. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2018 [cited 2022 Sep 18];19(13):1069–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30081739/>
79. Cornejo-García J, Blanca-Lopez N, Dona I, Andreu I, Agundez J, Carballo M, et al. Hypersensitivity reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2009 Feb 11 [cited 2022 Sep 18];10(9):971–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20214589/>
80. Agundez J. Recent advances in drug intolerance. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2009 Feb 11 [cited 2022 Sep 18];10(9):946–946. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20214586/>
81. Plaza-Serón MDC, Ayuso P, Pérez-Sánchez N, Doña I, Blanca-Lopez N, Flores C, et al. Copy number variation in ALOX5 and PTGER1 is associated with NSAIDs-induced urticaria and/or angioedema. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 18];26(6):280–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26959713/>
82. Cornejo-García JA, Flores C, Plaza-Serón MC, Acosta-Herrera M, Blanca-López N, Doña I, et al. Variants of CEP68 gene are associated with acute urticaria/angioedema induced by multiple non-steroidal anti-inflammatory drugs. *PLoS One* [Internet]. 2014 Mar 11 [cited 2022 Sep 18];9(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24618698/>
83. Cornejo-García JA, Jagemann LR, Blanca-López N, Doña I, Flores C, Guéant-Rodríguez RM, et al. Genetic variants of the arachidonic acid pathway in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced acute urticaria. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2012 Dec [cited 2022 Sep 18];42(12):1772–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23181793/>
84. Doña I, Blanca-López N, Cornejo-García JA, Torres MJ, Laguna JJ, Fernández J, et al. Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs: patterns of response. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2011 Jan [cited 2022 Sep 18];41(1):86–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21155908/>

85. Fisher ES, Curry SC. Evaluation and treatment of acetaminophen toxicity. *Adv Pharmacol* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Sep 18];85:263–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31307590/>
86. Interindividual variability in acetaminophen glucuronidation by human liver microsomes: identification of relevant acetaminophen UDP-glucuronosyltransferase isoforms - PubMed [Internet]. [cited 2022 Sep 18]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11714888/>
87. Maeda M, Tanaka R, Aso M, Sakamoto Y, Song I, Ochiai M, et al. Hepatic Adaptation to Therapeutic Doses of Acetaminophen: An Exploratory Study in Healthy Individuals. *Clin Ther* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Sep 18];42(7):1276-1291.e1. Available from: <http://www.clinicaltherapeutics.com/article/S014929182030237X/fulltext>
88. Arab-Alameddine M, Fayet-Mello A, Lubomirov R, Neely M, Di Iulio J, Owen A, et al. Population pharmacokinetic analysis and pharmacogenetics of raltegravir in HIV-positive and healthy individuals. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2012 Jun [cited 2022 Sep 18];56(6):2959–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22371894/>
89. Langford RA, Hogg M, Bjorksten AR, Williams DL, Leslie K, Jansen K, et al. Comparative Plasma and Cerebrospinal Fluid Pharmacokinetics of Paracetamol After Intravenous and Oral Administration. *Anesth Analg* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2023 Mar 7];123(3):610–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27537754/>
90. Vinarov Z, Abdallah M, Agundez JAG, Allegaert K, Basit AW, Braeckmans M, et al. Impact of gastrointestinal tract variability on oral drug absorption and pharmacokinetics: An UNGAP review. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Sep 18];162. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33753215/>
91. Papageorgiou I, Freytsis M, Court MH. Transcriptome association analysis identifies miR-375 as a major determinant of variable acetaminophen glucuronidation by human liver. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited

- 2022 Sep 26];117:78–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27531059/>
92. Joo J, Kim YW, Wu Z, Shin JH, Lee B, Shon JC, et al. Screening of non-steroidal anti-inflammatory drugs for inhibitory effects on the activities of six UDP-glucuronosyltransferases (UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9 and 2B7) using LC-MS/MS. *Biopharm Drug Dispos* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2022 Sep 26];36(4):258–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25522350/>
93. Court MH, Peter I, Hazarika S, Vasiadi M, Greenblatt DJ, Lee WM. Candidate gene polymorphisms in patients with acetaminophen-induced acute liver failure. *Drug Metab Dispos* [Internet]. 2014 Jan [cited 2022 Sep 26];42(1):28–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24104197/>