

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS

**“IMPACTO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS EN *CYP450*
EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA EN
PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS”**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS QUE PARA OBTENER
EL GRADODE MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

QFB YERYE GIBRÁN MAYÉN LOBO

Matrícula: 2181800806

COMITÉ TUTORIAL:

TUTORA: DRA. MARISOL LÓPEZ LÓPEZ
ASESORA: DRA. NANCY MONROY JARAMILLO
ASESOR: DR. LUIS CAMILO RÍOS CASTAÑEDA

“IMPACTO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS EN CYP450 EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS”

Vo. Bo. Del comité tutorial

Tutora: Dra. Marisol López López



Asesora: Dra. Nancy Monroy Jaramillo



Asesor: Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda



QFB Yerye Gibrán Mayén Lobo
(Matrícula: 2181800806)



“IMPACTO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS EN CYP450 EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS”

Jurado de examen de grado

Presidente: Dr. Miguel Ángel Ramírez
García



Vocal: Dr. Luis Antonio Tristán López



Secretario: Dra. Marisol López López



Resumen:

Los trastornos psiquiátricos son un problema de salud pública que generan grandes cargas económicas, sociales y personales; en México, contribuyen con 19.4% de la carga global de enfermedad. Los trastornos psicóticos primarios (TPP) son aquellos trastornos de la función mental y del comportamiento, de naturaleza severa y caracterizados por distorsiones en el pensamiento, percepción, emociones, lenguaje, sentido de sí mismo y comportamiento. Los TPP principales son la esquizofrenia (ESQ) y el trastorno bipolar (TBP); y el trastorno esquizoafectivo (TEA), que es una especie de puente entre estos dos. El tratamiento de los TPP es variable e incluye tratamiento psicológico, farmacológico con antipsicóticos en mono o politerapia. El tratamiento antipsicótico está clasificado en dos grandes grupos: los antipsicóticos típicos (APG) y los antipsicóticos atípicos (ASG). Los ASG son utilizados regularmente cuando los pacientes presentan resistencia y/o poco efecto terapéutico a los APG y presentan menores efectos secundarios extrapiramidales. Los principales fármacos de esta categoría son: clozapina (CLZ), olanzapina y quetiapina. La CLZ presenta una eficacia única en pacientes con síntomas de resistencia al tratamiento, ya que aumenta 2.5 veces la probabilidad de respuesta comparado con aquellos tratados con antipsicóticos típicos; sin embargo, cerca de 40% de los pacientes no responden de manera eficiente a CLZ.

La CLZ es metabolizada en el hígado, a *N*-desmetilclozapina (dmCLZ) y a *N*-óxido de clozapina, en ambos casos, este proceso se lleva a cabo por las enzimas CYP3A4, CYP1A2, CYP3A5, CYP2D6 y CYP2C19. pertenecientes a las enzimas metabolizadoras de fase I de los citocromos P450 (CYP), que catalizan biotransformaciones como oxidación, reducción e hidroxilación.

Los genes que codifican estas enzimas son polimórficos, lo que se asocia con cambios en la actividad catalítica de las enzimas que, a su vez, pueden influir en el metabolismo de los fármacos antipsicóticos. Es a través de la farmacogenética, estudio de variantes genéticas que afectan la respuesta individual a fármacos, que se han encontrado variantes genéticas en *CYP1A2* y *CYP2D6* que parecen influir en los niveles plasmáticos de CLZ y que se asocian con la presencia de algunas RAM. Sin embargo, la participación de la heredabilidad genética en la respuesta a fármacos ha sido poco implementada en la práctica clínica.

Objetivo: Evaluar el impacto de variantes funcionales en los genes *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* en la farmacocinética de CLZ en 50 pacientes con TPP atendidos en el INNMMVS. En este estudio no se encontró una asociación directa entre los niveles plasmáticos de CLZ ni los radios metabólicos con las variantes estudiadas de *CYP1A2* (rs2069514, rs35694136,

rs762551, rs72547516, rs72547517), *CYP2D6* (rs1065852, rs28371706, rs3892097, rs35742686) y *CYP3A4* (rs4646438); sin embargo, se encontró una asociación entre el genotipo rs1065852 de *CYP2D6* ($p=0.039$) y el genotipo GG de la variante rs2069514 de *CYP1A2* ($p=0.035$) con presencia de RAM neurológicas; y del genotipo GG de la variante rs2069514 de *CYP1A2* con la presencia de RAM totales ($p=0.012$). El consumo de alcohol se asoció con la presencia en general de RAM, así como con la presencia de RAM generales ($p=0.004$ y $p=0.031$). También se obtuvieron dos modelos estadísticos: el primero de ellos sugieren que pacientes con la variante rs2069514 de *CYP1A2* son más propensos a presentar RAM en general en comparación con aquellos portadores del genotipo silvestre ($OR=3.547$, $p=0.043$). El segundo modelo deja en claro que el riesgo de presentar RAM es mucho mayor en pacientes que consumen alcohol ($OR=13.269$, $p=0.004$). En este mismo modelo, al compararlo con el primero, se puede apreciar la influencia del consumo de alcohol en la presencia de la variante rs2069514, pues el riesgo de presentar RAM aumenta a casi el doble ($OR=7.898$, $p=0.016$).

En conclusión, si bien en el presente estudio no se encontró un modelo que relacionara los niveles plasmáticos de CLZ ni los radios metabólicos con la presencia de RAM, se propone un modelo que considera a la presencia de RAM en la lista de los factores que disminuyen el abuso de alcohol en pacientes con TPP tratados con CLZ, y estas a su vez con las variantes en enzimas metabolizadoras, particularmente con *CYP1A2* y la variante rs2069514. La variante rs2069514 podría ser un marcador potencial para predecir RAM a CLZ en pacientes mexicanos con psicosis refractaria y consumo concomitante de alcohol.

Agradecimientos Institucionales:

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, por permitirme formar parte de su distinguida comunidad

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención No. 705045 otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al CONACyT por facilitar los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación mediante el proyecto #233695.

A la coordinación de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

Al laboratorio de Genética Molecular de la UAM-X, por permitirme ser parte del equipo de trabajo, por el conocimiento compartido, y por los recursos facilitados que, sin los cuales, esta investigación no hubiera sido posible.

Al Departamento de Neurogenética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velazco Suárez, por el apoyo, el espacio y los recursos que hicieron posible la realización de este proyecto; así como permitirme ser parte del equipo de trabajo durante mi estadía.

A los departamentos de Neuroquímica y Psiquiatría, que, sin su valioso apoyo y tiempo, este trabajo no hubiera sido posible.

Agradecimientos Personales

A mis padres y mi hermano, cuyo apoyo incondicional me ha permitido recorrer este camino educativo. Llevaré siempre conmigo sus palabras de aliento y el esfuerzo realizado que han permitido mi formación y han hecho de mi gran parte de lo que soy. Los quiero.

A mi comité tutorial:

A la Dra. Marisol, a quien admiro desde la licenciatura, quien despertó en mí el interés por una de las ramas de la ciencia más hermosa: la genética humana.

A la Dra. Nancy, cuya dedicación a todos y cada uno de sus proyectos inspiraron en mi la curiosidad por la genética y las ciencias en general.

Al Dr. Camilo, cuyos conocimientos me permitieron consolidar lo plasmado en esta investigación.

Al Dr. David Dávila, el Dr. Carlos Aviña y el Dr. Luis Tristán, sin su valioso tiempo y apoyo este proyecto no hubiera sido posible. Agradezco el conocimiento compartido y su dedicación no solo a este proyecto, sino a la ciencia en general.

A Ingridcita y Beto, profesores de aula y de vida, por su invaluable amistad y por ser siempre guías en lo académico y en lo personal. Agradezco infinitamente el tiempo que hemos compartido.

A mis amigos del laboratorio de genética molecular, Blanquita, Pablo y Karencita, por su apoyo y por su contagioso humor que hicieron de mi paso por el lab ameno y divertido. En especial a Blanquita, de quién aprendí muchas cosas, incluyendo las bases en el laboratorio de genética y que eventualmente permitirían que realizara esta investigación.

A mis compañeros de la maestría, con quienes compartí momentos de estrés y nervios, así como de risas y diversión. No olvidaré lo que aprendí de ustedes y con ustedes. En particular a Karlita y Mich, compañeros de equipo e invaluable amigos: porque gracias a sus palabras centradas y a sus contrastantes puntos de vista logramos sortear muchos retos en esta etapa académica.

A mis amigos del laboratorio de Neurogenética, Isa, Xavi, Eva, Ale, Mayumi, Erandi, Dr. Migue, Yosh y David, su amistad es probablemente de lo más valioso que me llevo de esta experiencia. Convivir con ustedes ha hecho de estos años algo maravilloso. Agradezco especialmente por ser parte de este proyecto a Mayumi, Génesis y en particular a Ale, cuyo apoyo en las consultas permitió que el entusiasmo por este proyecto venciera a las inseguridades y estigmas.

Contenido

Índice de tablas.....	1
Índice de figuras	2
Lista de abreviaturas.....	3
1. Antecedentes	4
2. Marco teórico.....	5
2.1. Trastornos psicóticos	5
2.1.1. Esquizofrenia.....	5
2.1.2. Trastorno esquizoafectivo.....	6
2.1.3. Trastorno bipolar	6
2.2. Farmacoterapia de los TPP	7
2.2.1. Antipsicóticos típicos	7
2.2.2. Antipsicóticos atípicos	8
2.2.2.1. Clozapina	8
2.3. Farmacogenética.....	11
2.3.1. Farmacogenética de CLZ	12
3. Planteamiento del Problema.....	14
4. Justificación	15
5. Hipótesis	16
6. Objetivos	17
7. Metodología.....	18
7.1. Diseño del estudio.....	18
7.2. Sujetos.....	18
7.2.1. Criterios de inclusión:	18
7.2.2. Criterios de exclusión:	18
7.3. Métodos.....	18
7.3.1. Análisis molecular.....	18
7.3.1.1. Toma de muestra	18
7.3.1.2. Extracción de ADN de sangre periférica	19
7.3.1.3. Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN	20
7.3.1.4. Genotipificación	21
7.3.1.5. Determinación del número de copias.....	22
7.3.2. Determinación de concentraciones plasmáticas de CLZ y dmCLZ por CLAR	24

7.3.3.	Reacciones adversas medicamentosas.....	24
7.3.4.	Análisis estadístico	25
8.	Resultados y discusión	26
8.1.	Descripción de la población de estudio.....	26
8.2.	Cuantificación de niveles plasmáticos de CLZ y dmCLZ	26
8.3.	Estudio de asociación de las variantes de los genes CYP1A2, CYP2D6 y CYP3A4 y los niveles plasmáticos de CLZ y los radios metabólicos.....	35
8.3.1.	CYP1A2.....	35
8.3.2.	CYP2D6	37
8.3.3.	CYP3A4.....	39
8.4.	Efecto de las variantes en los genes CYP1A2 y CYP2D6 en la presencia de RAM.....	39
9.	Conclusiones.....	47
10.	Referencias bibliográficas	49
11.	Anexos.....	56
11.1.	Anexo I. Carta de consentimiento informado.....	56
11.2.	Anexo II. Cuestionario de consulta genética y RAM.....	59
11.3.	Anexo III. Resumen y constancia del 6to. Simposio Iberoamericano en farmacia social “Dra. Marina Altagracia Martínez” Farmacia comunitaria: necesidades y perspectivas en México	64
11.4.	Anexo IV. Resumen y constancia de XLIV congreso nacional de genética humana “El impacto de la genética y la genómica en las enfermedades neurológicas y del desarrollo”.....	66
11.5.	Anexo V. Artículo: “Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis”	68

Índice de tablas

Tabla 1. Variantes de un solo nucleótido analizadas mediante sondas alelo específicas y claves de los ensayos comerciales ocupados.	21
Tabla 2. Reactivos utilizados para la amplificación por PCR en tiempo real.	22
Tabla 3. Reactivos utilizados para reacción de MLPA.....	23
Tabla 4. Características demográficas y farmacológicas de los pacientes con TPP bajo tratamiento con CLZ.....	27
Tabla 5. Datos farmacológicos de los 48 pacientes con trastornos psicóticos bajo tratamiento con CLZ.....	28
Tabla 6. Frecuencia alélica de variantes de <i>CYP1A2</i> , <i>CYP2D6</i> y <i>CYP3A4</i> en voluntarios mestizo-mexicanos sanos y en pacientes con psicosis refractaria.	29
Tabla 7. Genotipos y frecuencias alélicas de variantes de <i>CYP1A2</i> , <i>CYP2D6</i> y <i>CYP3A4</i> en pacientes con psicosis refractaria (n=48)	30
Tabla 8. Genotipos de variantes de <i>CYP1A2</i> , <i>CYP2D6</i> y <i>CYP3A4</i> y su asociación con las concentraciones plasmáticas de CLZ en pacientes con psicosis refractaria (n=48).	33
Tabla 9. Asociación entre variantes genéticas en <i>CYP1A2</i> , <i>CYP2D6</i> y <i>CYP3A4</i> y la presencia de RAM en pacientes con psicosis refractaria bajo tratamiento con CLZ (n=48).	41
Tabla 10. Modelo de regresión logístico binario para estimar el riesgo de desarrollar RAM a CLZ en 48 pacientes con psicosis refractaria.	42

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química de clozapina. IUPAC: 3-cloro-6-(4-metilpiperazina-1-il)-5H-benzo[b][1,4]benzodiazepina.	9
Figura 2. Esquema de una célula del hígado ilustrando las principales enzimas y transportadores implicados en la vía metabólica de la clozapina. Traducido de PharmGKB.	10
Figura 3. Condiciones de amplificación en el termociclador para la genotipificación de variantes con sondas TaqMan®.	22
Figura 4. Condiciones del termociclador para la genotipificación de CNV por MLPA.	23
Figura 5. Porcentaje de pacientes con TPP bajo tratamiento con CLZ que presentaron distintas RAM. A) generales, B) metabólicas y C) neurológicas.	40

Lista de abreviaturas

APG	Antipsicóticos de primera generación
ASG	Antipsicóticos de segunda generación.
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
CLZ	Clozapina
CNV	Variante de número de copias
CYP	Citocromo P450
dmCLZ	<i>N</i> -desmetilclozapina
DSM-5	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, quinta edición
ESE	Efectos secundarios extrapiramidales
ESQ	Esquizofrenia
MM	Mestizo Mexicano
RAM	Reacciones adversas a medicamentos
TBP	Trastorno bipolar
TEA	Trastorno esquizoafectivo
TPP	Trastornos psicóticos primarios

1. Antecedentes

Los trastornos psiquiátricos son un problema de salud pública que generan grandes cargas económicas, sociales y personales (Bray et al., 2010). En México, contribuyen con 19.4% de la carga global de enfermedad (Organización Mundial de la Salud, 2019). Dentro de la clasificación etiológica de los trastornos mentales, se encuentran los trastornos psicóticos primarios (TPP) que son aquellos trastornos con afección de la función mental y del comportamiento, de naturaleza severa y caracterizados por distorsiones en el pensamiento, percepción, emociones, lenguaje, sentido de sí mismo y comportamiento (Organización Mundial de la Salud, 2019). Los TPP principales son la esquizofrenia (ESQ) y el trastorno bipolar (TBP), cuyas prevalencias estimadas son de: 1.4 - 4.6 /1,000 y 4 - 5 /1,000, respectivamente a nivel global; y de 0.32% y 1.02 - 1.9% en el caso de México (Medina-Mora et al., 2007; Thara et al., 2017). Ambos padecimientos se presentan típicamente en la adolescencia tardía o en la etapa adulta temprana y muestran alta comorbilidad con trastornos metabólicos, cardiovasculares, abuso de sustancias y suicidio que, en conjunto, reducen de manera significativa la esperanza de vida de los pacientes.

En ocasiones, el diagnóstico de los TPP puede ser dificultoso y con frecuencia se presentan cuadros mixtos de difícil clasificación y, aunque la medicación antipsicótica controla los síntomas, no existen marcadores bioquímicos o de gabinete para diagnosticarlos. Su diagnóstico se basa en criterios de síntomas y signos, es decir, en lo que dice el paciente, sus familiares y lo que observa el psiquiatra. Por ello, puede ser difícil hacer el diagnóstico de TBP o ESQ y a veces se requiere tiempo para establecerlo. Aunado a esto, la resistencia al tratamiento es común en estos pacientes, y requiere de la prescripción de diversos fármacos hasta encontrar el óptimo para cada caso. De ahí, la necesidad de identificar marcadores genéticos o bioquímicos que apoyen en el diagnóstico, su subclasificación, respuesta al tratamiento antipsicótico y que permitan una intervención temprana y oportuna.

2. Marco teórico

2.1. Trastornos psicóticos

El manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales en su quinta edición (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2013) considera a los trastornos psicóticos primarios (TPP) como anormalidades en uno o más de los siguientes dominios: delirios, alucinaciones, pensamiento desorganizado, gran desorganización o anormalidades motoras (catatonia) y síntomas negativos; los pacientes también pueden presentar ideas delirantes y comportamientos anormales, como gran excitación o hiperactividad, aislamiento social grave y prolongado no consecuente de depresión o ansiedad, marcada inhibición psicomotriz y manifestaciones catatónicas (Baca-Baldomero, 2010).

El DSM-5 engloba en los TPP, entre otros, a la esquizofrenia (ESQ) y al trastorno esquizoafectivo (TEA), mientras que al TBP lo cataloga como un puente entre el espectro esquizofrénico y la depresión (American Psychiatric Association, 2013).

Es importante resaltar que, a menudo, los diagnósticos psiquiátricos son inestables con el tiempo, y que, los diagnósticos incluidos en este trabajo muestran un traslape genético, por lo que su estudio en conjunto queda justificado (Musliner et al., 2019; Schulze et al., 2014).

2.1.1. Esquizofrenia

La ESQ se caracteriza por la presencia de diversos síntomas positivos (delirios, alucinaciones) (Fletcher & Frith, 2009), negativos (disminución de la expresión emocional, pérdida de interés, disminución del habla y pérdida de la habilidad para sentir placer) (American Psychiatric Association, 2013; Lindemayer & Khan, 2012), y cognitivos (pensamiento disgregado y desorganizado) (American Psychiatric Association, 2013; Arroyo & Garrido-Ocaña, 2012) que afectan casi todos los aspectos de la actividad mental, incluyendo percepción, atención, memoria y emociones. Los síntomas se asocian con distintos grados de discapacidad social y funcional (Lindemayer & Khan, 2012). La ESQ tiene una incidencia de 1% a nivel mundial, estimándose alrededor de 21 millones de casos a nivel mundial

(Organización Mundial de la Salud, 2019; Sriretnakumar et al., 2015) y, de acuerdo con datos de la Secretaría de Salud, es la segunda causa de egresos a hospital con una tasa de 9.7 por 100 mil habitantes, con cerca de 7 a 8 mil casos cada año (Arredondo et al., 2018; Instituto Mexicano del Seguro Social, 2015).

2.1.2. Trastorno esquizoafectivo

El TEA presenta características clínicas similares a la ESQ (alucinaciones, delirios, desorganización del habla, comportamiento catatónico) pero a su vez cursa con episodios con mayores alteraciones del estado de ánimo que en muchos casos pueden evolucionar a depresión o manía. Debido a su estrecha relación y traslape clínico con la ESQ, el TEA es difícil de diagnosticar. La incidencia a nivel global de este TPP es mucho menor que el de la ESQ (alrededor del 0.3%) (American Psychiatric Association, 2013). De hecho, se ha reportado un traslape genético en las tres entidades clínicas (Bora et al., 2009; Chan et al., 2019; Lichtenstein et al., 2009).

2.1.3. Trastorno bipolar

El TBP se caracteriza por cambios inusuales en el estado de ánimo, incluyendo episodios maníacos, hipomaniacos o de depresión mayor. En los episodios maníacos, el individuo presenta estados de ánimo anormales, persistentes, irritables, de exceso de motivación y de forma continua, por una semana. Durante este período, los pacientes presentan una autoestima exagerada, poca necesidad de dormir, hablan más de lo común, se encuentran distraídos y se involucran en actividades que pueden tener consecuencias dolorosas. Los episodios hipomaniacos son muy similares, pero de menor duración y no están asociados a disfunción social. Por último, los episodios de depresión mayor se caracterizan por estado del ánimo deprimido casi diario, disminución del interés, pérdida y modificación del apetito, insomnio o hipersomnia, sentimientos de inutilidad, habilidades disminuidas para pensar o concentrarse y pensamientos recurrentes de muerte. En el TBP tipo I se presenta un episodio maniaco, y posterior a éste se presenta un episodio hipomaniaco o de depresión mayor, mientras que el TBP tipo

II se caracteriza por la presencia de un episodio hipomaniaco y uno o más de depresión mayor (American Psychiatric Association, 2013).

2.2. Farmacoterapia de los TPP

El tratamiento de la ESQ y el TEA es variable ya que incluye tratamiento psicológico, farmacológico con antipsicóticos en mono o politerapia y en ocasiones otro tipo de terapias, como la electroconvulsiva. En el caso del TBP, se ha demostrado que los antipsicóticos parecen más efectivos que los anticonvulsivantes para el tratamiento de episodios maniacos (Vieta *et al.*, 2014). El tratamiento antipsicótico de estos trastornos está clasificado en dos grandes grupos: los antipsicóticos típicos y los antipsicóticos atípicos.

Es muy común que se prescriban estos antipsicóticos junto con otras clases de medicamentos tales como antiepilépticos (valproato de magnesio), estabilizadores del estado de ánimo (carbonato de litio), anticolinérgicos, antidepresivos y benzodiazepinas (clonazepam), ya sea para controlar el comportamiento del paciente, tratar las RAM (reacciones adversas a los medicamentos) de los antipsicóticos, para el tratamiento de comorbilidades y/o problemas psiquiátricos secundarios, o bien por la falta de efectividad del antipsicótico en monoterapia (National Collaborating Center for Mental Health, 2010).

2.2.1. Antipsicóticos típicos

Los antipsicóticos típicos o de primera generación (APG) presentan afinidad por los receptores postsinápticos de la dopamina D2. Su efecto antipsicótico trata síntomas como las alucinaciones, los delirios y el habla desorganizada (National Collaborating Center for Mental Health, 2010; Stroup *et al.*, 2010). Algunos ejemplos de APG son: clorpromazina, flufenazina, perfenazina y haloperidol (Cañamares *et al.*, 2001; Solmi *et al.*, 2017; Stroup *et al.*, 2010). Las RAM que suelen presentar los pacientes bajo tratamiento con este tipo de medicamentos incluyen: letargo, sedación, ganancia de peso, disfunción sexual, y desórdenes del movimiento como parkinsonismo, acatisia (sensación de intranquilidad) y distonías. Estas últimas tres reacciones se agrupan en lo que se conoce como efectos secundarios

extrapiramidales agudos (ESE) (National Collaborating Center for Mental Health, 2010; Solmi et al., 2017; Stroup et al., 2010).

2.2.2. Antipsicóticos atípicos

Los antipsicóticos atípicos o de segunda generación (ASG) presentan, al igual que los APG, afinidad por los receptores D2 de dopamina y también por los receptores serotoninérgicos (5-HT_{2A}) lo que puede ayudar a evitar las RAM de ESE (Seeman, 2002). Son utilizados regularmente cuando los pacientes presentan resistencia y/o poco efecto terapéutico a los APG. Los ASG se asocian de manera considerable a RAM metabólicas y, en algunos casos, con reacciones más graves como la agranulocitosis (Stroup et al., 2012). Los principales fármacos de esta categoría son: clozapina (CLZ), olanzapina, quetiapina, ziprasidona y aripiprazol (Stroup et al., 2010).

2.2.2.1. Clozapina

La clozapina (CLZ) es un fármaco con estructura de dibenzodiazepina tricíclica clasificada como un ASG (Fig. 1). Es un antagonista de la serotonina, con fuerte afinidad a receptores 5-HT 2A/2C, receptores dopaminérgicos como D1 (aunque el antagonismo con este receptor no presenta actividad antipsicótica), y afinidad débil por el receptor D2, que se cree modula el efecto antipsicótico (De Fazio et al., 2015; Dziedzicka-Wasylewska et al., 2008; Solmi et al., 2017).

El uso de la CLZ fue aprobado en EUA en 1990 debido a que presentaba una eficacia única en pacientes con síntomas de resistencia al tratamiento, es decir, para pacientes sin respuesta farmacológica a dos APG a dosis terapéuticas en un periodo de seis semanas cada uno, cifra que en la actualidad ronda en un tercio de los pacientes con ESQ (Sriretnakumar et al., 2015; Stroup et al., 2012). Se encuentra comprobado que pacientes con ESQ refractaria bajo tratamiento con CLZ presentan menos ESE en comparación con pacientes tratados con APG (clorpromazina o haloperidol). A esto se suma que los pacientes tratados con este antipsicótico presentan una probabilidad 2.5 veces mayor de respuesta al tratamiento comparado con aquellos tratados con APG; además, el tratamiento con

CLZ parece disminuir la probabilidad de suicidio en pacientes con ESQ y TEA (Solmi et al., 2017; Stroup et al., 2010, 2012). Sin embargo, cerca de 40% de los pacientes no responden de manera eficiente a CLZ (Costa-Dookhan et al., 2020).

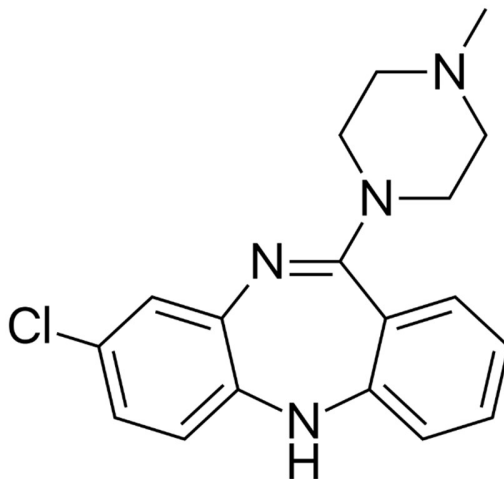


Figura 1. Estructura química de clozapina. IUPAC: 3-cloro-6-(4-metilpiperazina-1-il)-5H-benzo[b][1,4]benzodiazepina (National Center for Biotechnology Information, 2021).

La clozapina es administrada principalmente de manera oral, a través de esta vía presenta una absorción rápida y prácticamente completa, presenta unión a proteína plasmática del 97%, una vida media de 8 horas (que puede variar de individuo a individuo en un rango de 4 a 12 horas), y es eliminada principalmente por metabolismo, aproximadamente un 3% del fármaco inalterado es recuperado en orina, 50% como metabolitos y un 30% de estos en heces (Rostami-Hodjegan et al., 2004). Presenta un efecto de primer paso en el hígado donde es biotransformada a *N*-desmetilclozapina (dmCLZ) y a *N*-óxido de clozapina principalmente (Figura 2) (Nucifora et al., 2017; Rostami-Hodjegan et al., 2004). Muchos de los efectos benéficos y adversos de la CLZ son atribuibles en realidad a dmCLZ (Costa-Dookhan et al., 2020).

Ciertas desventajas se han relacionado al uso de la CLZ, siendo la principal la agranulocitosis (disminución en el número de neutrófilos) en 0.5-1% de los pacientes, que es potencialmente fatal. Además, alrededor del 2% de los pacientes puede presentar crisis convulsivas, y se ha observado un incremento en el riesgo

de miocarditis. Otras RAM, que también se encuentran documentadas son la ganancia de peso, mayor riesgo de padecer diabetes y disfunción sexual (Nucifora et al., 2017; Stroup et al., 2012; Üçok & Gaebel, 2008). Existen otras RAM que se han reportado como muy raras, como colitis isquémica, íleo paralítico, hematemesis, incontinencia urinaria, tromboembolismo pulmonar, entre otras, cuya frecuencia se estima es menor a 1/10,000 (De Fazio et al., 2015).

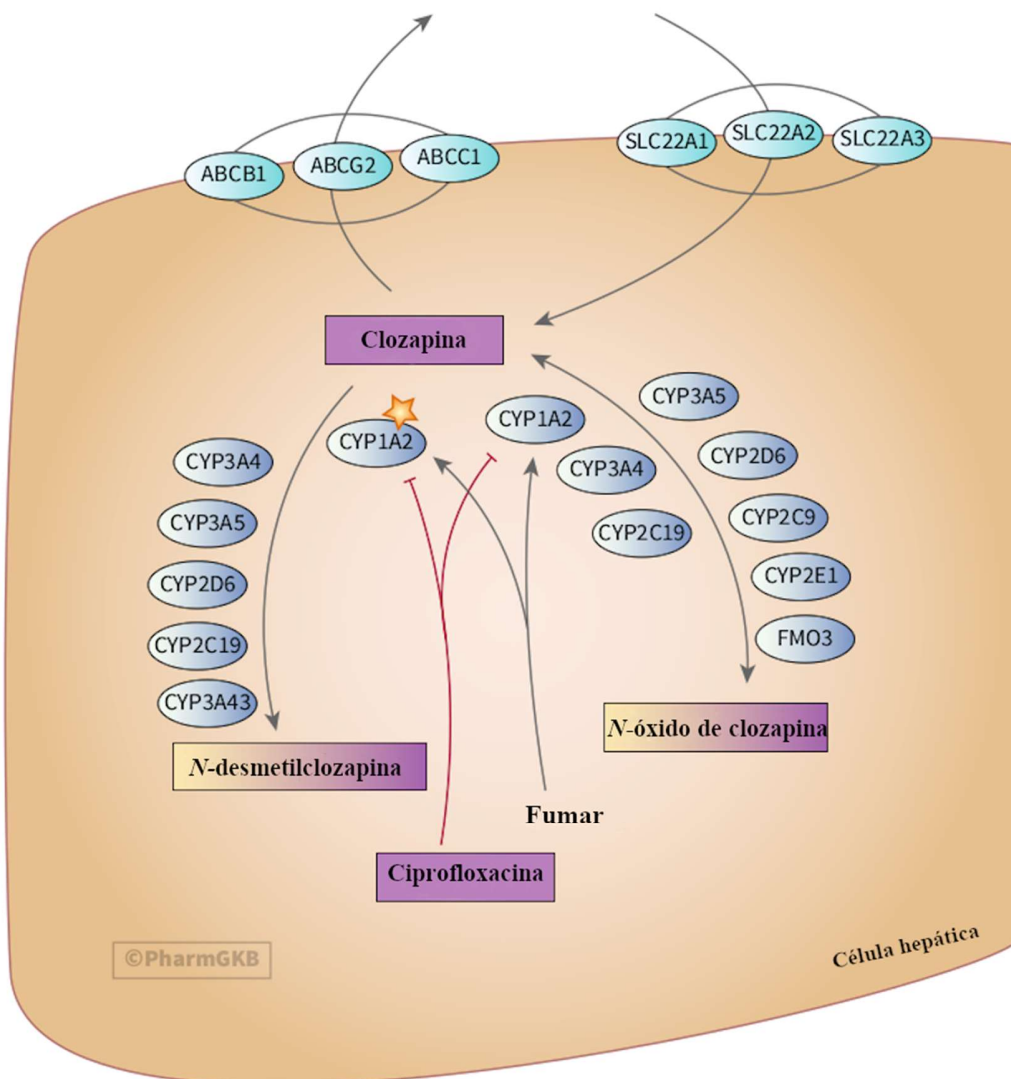


Figura 2. Esquema de una célula del hígado ilustrando las principales enzimas y transportadores implicados en la vía metabólica de la clozapina. Traducido de PharmGKB (Thorn et al., 2012).

2.3. Farmacogenética

La farmacogenética es la disciplina que estudia las variantes genéticas que afectan la respuesta individual a los fármacos. Surge de manera formal en la década de los cincuenta a raíz de observaciones clínicas que demostraron que la eficacia de algunos medicamentos y la presencia de algunas RAM provocadas por deficiencias enzimáticas determinadas genéticamente. Aunque existen diferentes casos donde se asocian variantes genéticas en genes que codifican para receptores y transportadores implicados en las vías de disposición de fármacos con la respuesta y toxicidad de fármacos, la mayoría de las diferencias caracterizadas molecularmente se relaciona con variantes en genes que codifican para enzimas metabolizadoras de fármacos (López-López et al., 2004).

Entre las enzimas metabolizadoras de fármacos con mayor relevancia farmacogenética en humanos se encuentran los citocromos P450 (CYP), pertenecientes a las enzimas metabolizadoras de fase I que catalizan biotransformaciones como oxidación, reducción e hidroxilación. Se estima que existen 57 genes activos que codifican para estas enzimas, de las cuales las más importantes son CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4, debido a que llevan a cabo más del 90% del metabolismo oxidativo de los fármacos (López-López et al., 2004).

El uso de pruebas genéticas predictivas en la práctica clínica se ha adoptado para pesquisa de distintas enfermedades, como la detección y prevención de aquellas con herencia autosómica recesiva, diagnóstico prenatal, o incluso rasgos más complejos que requieren analizar la interacción de más de un gen. Sin embargo, la participación de la variabilidad genéticos en la respuesta a fármacos ha sido poco implementada en dicha práctica, a pesar de los esfuerzos de la administración americana de alimentos y medicamentos (*Food and Drug Administration, FDA*) para incluir información farmacogenética relevante en los insertos de algunos medicamentos, o de los intentos de la comunidad farmacogenética para incrementar los ensayos farmacogenéticos en laboratorios clínicos (Scott, 2011).

Uno de los mayores descubrimientos en el campo de la farmacogenética es que la respuesta a fármacos no solo varía entre individuos, sino también entre poblaciones; en consecuencia, la variabilidad se verá influenciada por factores ambientales y demográficos, y por la frecuencia de los alelos presentes en la población. Es debido a esto que es preciso no perder de vista la importancia de las frecuencias alélicas y la “detectabilidad” de éstas dentro de una población con características específicas (Scott, 2011).

2.3.1. Farmacogenética de CLZ

En el hígado, la CLZ es metabolizada principalmente a dmCLZ, metabolito farmacológicamente activo, y a *N*-óxido de clozapina, el cual es farmacológicamente inactivo (Aitchison et al., 2000; Lesche et al., 2020; Sriretnakumar et al., 2015; Tóth et al., 2017). En ambos casos, este proceso es llevado a cabo por CYP3A4 en un 70%, CYP1A2 un 15%, y por CYP3A5, CYP2D6 y CYP2C19 contribuyendo con un 5% cada uno. Otras enzimas, como CYP2C9 y CYP2E1, también participan pero de manera menos importante (Aitchison et al., 2000; Lesche et al., 2020; Sriretnakumar et al., 2015; Whirl-Carrillo et al., 2012). Los genes que codifican estas enzimas son polimórficos, lo que se asocia con cambios en la actividad catalítica de las enzimas que, a su vez, pueden influir en el metabolismo de los fármacos antipsicóticos (López-López et al., 2004; Scott, 2011).

La concentración plasmática de la CLZ ha sido estudiada con la finalidad de utilizarla como marco de referencia para predecir la respuesta al tratamiento y como auxiliar en la posología, así como para evitar en la medida de lo posible las RAM dependientes de la concentración (Tóth et al., 2017). Sin embargo, las diferencias en las concentraciones plasmáticas de la CLZ entre individuos han dificultado esta tarea y no se tienen resultados concluyentes. A su vez, se ha intentado correlacionar estas diferencias con la variabilidad genética de las enzimas implicadas en su metabolismo.

En relación con esto, se han estudiado variantes genéticas en *CYP1A2* y *CYP2D6* que parecen influir en los niveles plasmáticos de CLZ (Thorn et al., 2012). Se han descrito variantes en *CYP2D6* que influyen en la depuración de diversos

antipsicóticos (incluyendo CLZ) y que se asocian con la presencia de algunas RAM; sin embargo, no reportan asociación con la eficacia y las concentraciones plasmáticas de los antipsicóticos, debido principalmente a la variabilidad en las curvas de dosis-respuesta entre cada paciente (Pouget et al., 2014).

Otros estudios no encontraron asociación significativa entre alelos de *CYP1A2* y *CYP2D6* con niveles de CLZ, sin embargo, sugieren que los alelos de actividad reducida pueden aumentar los niveles del fármaco. La evidencia de esto no es concluyente debido a factores ambientales o idiosincráticos del paciente que afectan la actividad de estas enzimas (Lee et al., 2012). En estos casos, se ha propuesto el fenómeno de la fenocversión que implica una corrección de la actividad predictiva de los genotipos en las enzimas metabolizadoras con los datos de inhibidores e inductores de las mismas (Lesche et al., 2020).

De manera particular, el alelo *CYP1A2*1F* (rs762551) se encuentra asociado con niveles altos de dmCLZ, y con presencia de convulsiones como RAM (Kohlrausch et al., 2013). Previamente se había reportado la posible contribución de este alelo, junto con *CYP1A2*1C* (rs2069514) en la intolerancia a CLZ (Bolla et al., 2011).

CYP3A4 participa ampliamente en la farmacocinética de CLZ, pero el estudio de sus alelos al respecto es escaso, por lo que es necesario ampliar su estudio para conocer la relación que guarda con la respuesta al tratamiento y la presencia de RAM.

Las investigaciones farmacogenéticas son controversiales con relación a una asociación entre variantes funcionales de los CYP y la respuesta al tratamiento con antipsicóticos. Sin embargo, existe fuerte evidencia que apoya su influencia en el desarrollo de las RAM (Arranz et al., 2019). En un estudio reciente, se hizo una intervención farmacogenética para mejorar el perfil de seguridad del tratamiento con antipsicóticos, incluyendo a la CLZ. Los resultados demostraron que a los pacientes que les ajustaron las dosis de antipsicóticos de acuerdo a las variantes genéticas de los CYP presentaron una reducción en los efectos secundarios en comparación con los pacientes tratados de manera usual (Arranz et al., 2019).

3. Planteamiento del Problema

En el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (INNNMVS), la CLZ es prescrita principalmente cuando no hay mejoría clínica satisfactoria en el paciente con TPP pese a haber utilizado al menos dos tratamientos diferentes con antipsicóticos, incluyendo uno atípico, en dosis terapéuticas en un período de seis semanas cada uno, cuando el paciente presenta riesgo suicida, para disminuir el comportamiento violento y en otros TPP crónicos ya que CLZ presenta menos ESE; es decir, en casos refractarios y para evitar ciertas RAM. Sin embargo, el uso de este medicamento presenta riesgos intrínsecos, siendo incluso algunos mortales (agranulocitosis) o que bien pueden afectar la calidad de vida del paciente (metabólicos, neurológicos, gastrointestinales, entre otros) (De Fazio et al., 2015). Por ello, se requieren estudios que proporcionen biomarcadores para la predicción de la respuesta farmacológica de los pacientes y para prevenir RAM. Estos biomarcadores podrían ser los farmacogenéticos y las concentraciones plasmáticas del fármaco y su metabolito.

4. Justificación

Los TPP son enfermedades crónicas que afectan alrededor de 21 millones de personas en el mundo, y entre 500 mil y 1 millón de personas en México. Estas enfermedades son incapacitantes en diferentes aspectos como el educativo y laboral; además de esto, los pacientes viven en un ambiente de estigmatización y discriminación, lo cual perjudica su calidad de vida. A pesar de todo, estos trastornos pueden ser controlables, lo que implica considerar la terapia adecuada en caso de que los pacientes presenten resistencia al tratamiento. La única alternativa en TPP refractarios es la CLZ; sin embargo, su uso debe ser estrictamente vigilado para monitorear presencia de RAM. En este contexto, la farmacogenética podría ayudar a predecir la respuesta al tratamiento y evitar la presencia de RAM.

Las frecuencias de las variantes en farmacogenes de interés varían en las poblaciones alrededor del mundo. En México, no existen estudios farmacogenéticos que brinden un beneficio clínico y reducción de costos en el tratamiento farmacológico de estos pacientes. Por ello, es importante el estudio farmacogenético de variantes en genes que codifican para enzimas de CYP450, y su asociación con la dosis y respuesta a CLZ en el tratamiento de pacientes con TPP refractarios se realice en nuestra población, para posteriormente llevar a cabo un análisis en un contexto farmacogenómico, donde se puedan relacionar variantes en otros genes implicados tanto en el metabolismo como en el mecanismo de acción en la misma población y el impacto que tienen en la respuesta y en la presencia de RAM; así como la influencia de otros factores biológicos, labor que se lleva a cabo conjuntamente entre la UAM-X y el INNNMVS.

5. Hipótesis

Las variantes genéticas en *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* tendrán un impacto en las concentraciones plasmáticas de CLZ y dmCLZ en pacientes con TPP, lo cual influirá directamente en la respuesta al tratamiento y la presencia de RAM.

6. Objetivos

- **General:**

- Evaluar el impacto de variantes funcionales en los genes *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* en la farmacocinética de CLZ en 50 pacientes con TPP atendidos en el INNNMVS.

- **Específicos**

1. Colectar muestras sanguíneas de 50 pacientes con TPP (ESQ, TBP, TEA) atendidos en el INNNMVS y recopilar información demográfica, clínica y de las RAM de los mismos.
2. Analizar los datos recabados mediante estrategias y herramientas estadísticas para caracterizar a la población de pacientes con TPP tratados con CLZ.
3. Genotipar las variantes de *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* de pacientes con TPP bajo tratamiento con CLZ.
4. Determinar las concentraciones plasmáticas de CLZ y de su principal metabolito activo, *N*-desmetilclozapina, en el estado estacionario por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) de 50 pacientes con TPP y evaluar si existe relación con las variantes de *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4*.
5. Caracterizar las RAM que presentan los pacientes y estudiar si existe relación con las variantes en *CYP*.
6. Contrastar los resultados obtenidos con lo documentado en la literatura.

7. Metodología

7.1. Diseño del estudio

Se llevó a cabo un estudio transversal y observacional en pacientes mestizos mexicanos (MM). El protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (número de registro 104/17, con enmienda en el 2018).

7.2. Sujetos

Se estudiaron pacientes con diagnóstico de trastorno psicótico primario (esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo o con trastorno bipolar).

7.2.1. Criterios de inclusión:

- Pacientes MM que acudan a consulta externa en el INNNMVS que acepten participar en el estudio, lean y firmen la carta de información del estudio y el consentimiento informado (CCI) (Anexo I).
- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes diagnosticados con TPP (ESQ, TEA o TBP).
- Pacientes tratados con CLZ (mínimo 18 semanas previas al estudio).

7.2.2. Criterios de exclusión:

- Pacientes con ascendencia extranjera (2 generaciones).
- Pacientes cuyos familiares no acepten participar en el estudio.

7.3. Métodos

7.3.1. Análisis molecular

7.3.1.1. Toma de muestra

Siguiendo los lineamientos éticos, a los pacientes se les tomó una muestra de 18 mL de sangre periférica en dos tubos BD Vacutainer® ACD (citrato trisódico, ácido cítrico y dextrosa) y un tubo EDTA K2 (ácido etilendiaminotetraacético) de 6mL cada uno posterior a la firma de la CCI. Se obtuvo la información necesaria de los pacientes realizando registro de nombre, edad, género, diagnóstico, edad de inicio

de la enfermedad, lugar de origen, escolaridad, índice de masa corporal, antecedentes familiares (principalmente trastornos psicóticos y mentales), dosis de CLZ, tratamiento concomitante y dosis, historial de consumo de sustancias, alcohol, tabaco y café, sedentarismo y comorbilidades específicas. Posteriormente se asignaron dos claves (ESQ y CLZ) a cada muestra con número consecutivo de acuerdo con la base de datos del Departamento de Genética del INNNMVS para el adecuado manejo anónimo de las muestras y confidencialidad de la información, según los lineamientos éticos. Las muestras se conservaron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.

7.3.1.2. Extracción de ADN de sangre periférica

En todos los casos la extracción de ADN se llevó a cabo a partir de sangre periférica mediante técnicas convencionales, como se explica a continuación:

- a) Los tubos BD Vacutainer® fueron centrifugados a 3,000rpm durante 10min para separar plasma de la muestra y posteriormente alicuotar 3 - 5mL de este para el análisis de concentraciones de CLZ y dmCLZ.
- b) Se fraccionó la muestra de sangre en tubos cónicos de 15 mL, cada uno con 3 mL de sangre y se agregaron 9 mL de amortiguador de lisis de glóbulos rojos (BLGR: cloruro de amonio 0.155M, bicarbonato de potasio 10 nM y EDTA 0.1 mM) a cada tubo.
- c) Se centrifugó a 3,000 rpm durante 6 minutos para la lisis de eritrocitos y la separación de células mononucleares.
- d) Se descartó el sobrenadante conservando únicamente el paquete de leucocitos.
- e) El paquete de leucocitos se transfirió a un tubo de 1.5 mL y se suspendió en 800 µL de BLGR.
- f) Se centrifugó a 3,000 rpm durante 2 minutos para continuar con la eliminación de los restos de eritrocitos.
- g) Se adicionó 1 mL de BLGR, se agitó el tubo para resuspender el botón de leucocitos y se repitió el paso **e)** a manera de lavado. (Se repitió este paso hasta tres veces para obtener un botón blanco).

- h) Se llevó a cabo la solubilización de proteínas por salinización (*salting-in*), adicionando 570 μ L de cloruro de sodio 5 mM. Se agitó por inversión durante 2 minutos.
- i) Se agregaron 40 μ L de SDS (dodecilsulfato sódico) al 10% (m/v). Se agitó por inversión durante 5 minutos.
- j) Se realizó la precipitación salina de proteínas (*salting-out*), agregando 200 μ L de cloruro de sodio 7 M. Se centrifugó a 11,500 rpm durante 20 minutos a 4°C, para la separación del material genético.
- k) Se separó el sobrenadante en un tubo limpio de 1.5 mL (se descartó el paquete proteico).
- l) Se procedió a una extracción orgánica, agregando 600 μ L de cloroformo: alcohol isoamílico (49:1). Se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 min a 4°C, para purificación de ADN.
- m) Se obtuvo la fase acuosa separándola en un tubo de 1.5 mL.
- n) Se llevó a cabo la precipitación de ADN adicionando 600 μ L de etanol absoluto, grado biología molecular. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 minutos.
- o) Únicamente se conservó el ADN (se descartó el sobrenadante).
- p) Se llevó a cabo un lavado del ADN con 700 μ L de etanol al 70% (v/v). Se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 minutos (Se descartó el sobrenadante).
- q) Se secó el ADN al vacío en un concentrador (*Vacufuge plus Eppendorf®*) durante 40 minutos aproximadamente.
- r) Se resuspendió el ADN seco en agua libre de ADNasa, se homogenizó a 60 °C con agitación a 950 rpm en un agitador (*Termomixer Comfort Eppendorf®*) durante 1 hora.

7.3.1.3. Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN

La calidad del ADN genómico fue verificada por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X (Tris base 0.9M, EDTA 0.025M, ácido bórico 0.89M), bajo condiciones de 100 voltios durante 20 minutos, teñido con bromuro de

etidio y visualizado en fotodocumentador marca Biorad, modelo ChemiDoc™ XRS+ System con el Software Image Lab™.

Para determinar la concentración de ADN en solución se utilizó un espectrofotómetro de baja retención (*NanoDrop 2000, Thermo Scientific®*). Así mismo, con este equipo se verificó que las relaciones de longitudes de onda 260/280 nm y 260/230 nm fueran mayores a 1.6 para asegurar la pureza de las muestras. A partir de estos concentrados de ADN se prepararon diluciones a 50ng/μL para su uso en la genotipificación.

7.3.1.4. Genotipificación

Se realizó la genotipificación de las SNV indicadas en la Tabla 1 mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real y el uso de sondas de hidrólisis, Taqman®.

Tabla 1. Variantes de un solo nucleótido analizadas mediante sondas alelo específicas y claves de los ensayos comerciales ocupados.

Gen	SNV (dbSNP)	Variante [†]	Ensayo (Thermofisher)	Alelo [‡]
CYP1A2	rs2069514	c.-3860G>A	C_15859191_30	*1C
	rs35694136	c.-2467delT	C_60142977_10	*1D
	rs762551	c.-163C>A	C_8881221_40	*1F
	rs72547516	c.2499A>T	C_30634246_10	*4
	rs72547517	c.5166G>A	C_72649745_10	*8
CYP2D6	rs1065852	c.100C>T	C_11484460_40	*10
	rs28371706	c.320C>T	C_2222771_A0	*17
	rs3892097	c.506-1G>A	C_27102431_D0	*4
	rs35742686	c.775delA	C_32407232_50	*3A
CYP3A4	rs4646438	c.830_831insA	C_32787140_40	*6

[†]Posiciones tomadas de la base de datos *Single Nucleotide Polymorphisms* (dbSNP) del *National Center for Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). [‡]Principal alelo al que pertenece la variante de acuerdo con <https://www.pharmvar.org>.

Para la genotipificación se utilizaron placas MicroAmp® de 96 pozos, en cada uno de ellos se preparó una reacción con el volumen de los reactivos descritos en la Tabla 2 y bajo las condiciones de amplificación especificadas en la Fig. 3.

Tabla 2. Reactivos utilizados para la amplificación por PCR en tiempo real.

Reactivo	Volumen (μL)
<i>TaqMan Fast Universal PCR Master Mix</i>	2.5
Sonda TaqMan®	0.25
ADN (50 ng/μL)	1.0
H2O c.b.p 5 μL	1.25

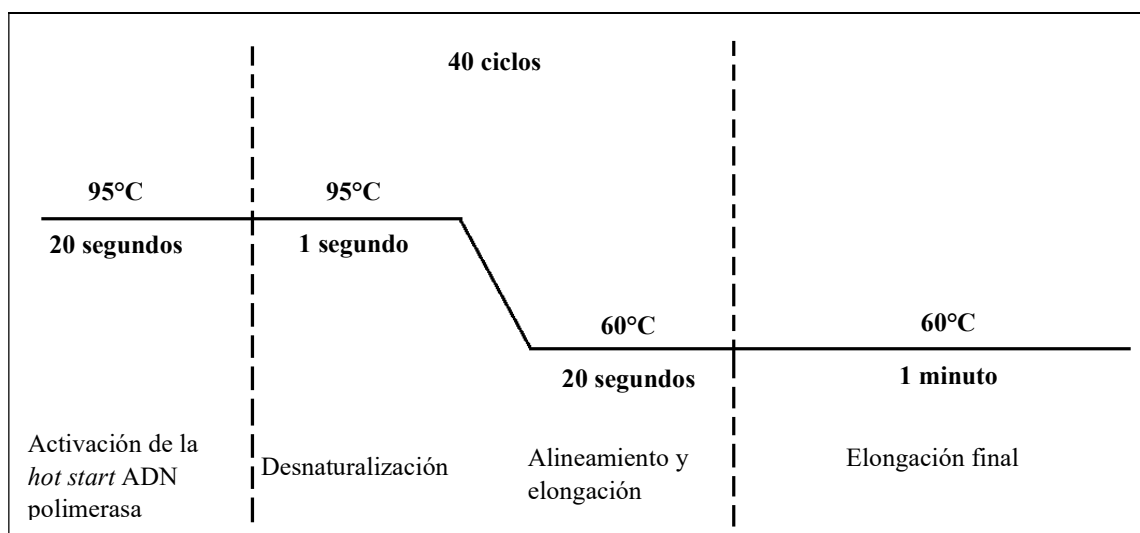


Figura 3. Condiciones de amplificación en el termociclador para la genotipificación de variantes con sondas TaqMan®.

7.3.1.5. Determinación del número de copias

Se realizó la genotipificación de variantes en el número de copias del gen *CYP2D6* usando amplificación de múltiples sondas dependientes de ligando (*multiple ligation probe amplification*, MLPA). Para ello, se empleó el panel de MLPA (MRC-Holland) P128 para distintos genes del citocromo P450 (*CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP1B1*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2E1*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2B6*) y de las enzimas glutatión transferasas (*GSTP1*, *GSTT1* y *GSTM1*).

Para la reacción de MLPA se utilizaron los reactivos y las condiciones descritas en la Tabla 3 y la Fig. 4.

Tabla 3. Reactivos utilizados para reacción de MLPA.

Reactivo	Volumen (µL)
<i>Reacción de hibridación</i>	
• ADN (25 ng/ µL)	5.0
• Amortiguador de MLPA	1.5
• Mezcla de sondas (panel P128)	1.5
<i>Reacción de ligación</i>	
• Agua libre de nucleasas	25.0
• Amortiguador de ligasas A	3.0
• Amortiguador de ligasas B	3.0
• Ligasa-65	1.0
<i>Reacción de PCR</i>	
• Agua libre de nucleasas	7.5
• Mezcla de oligonucleótidos SALSAS PCR	2.0
• ADN polimerasas de SALSAS	0.5

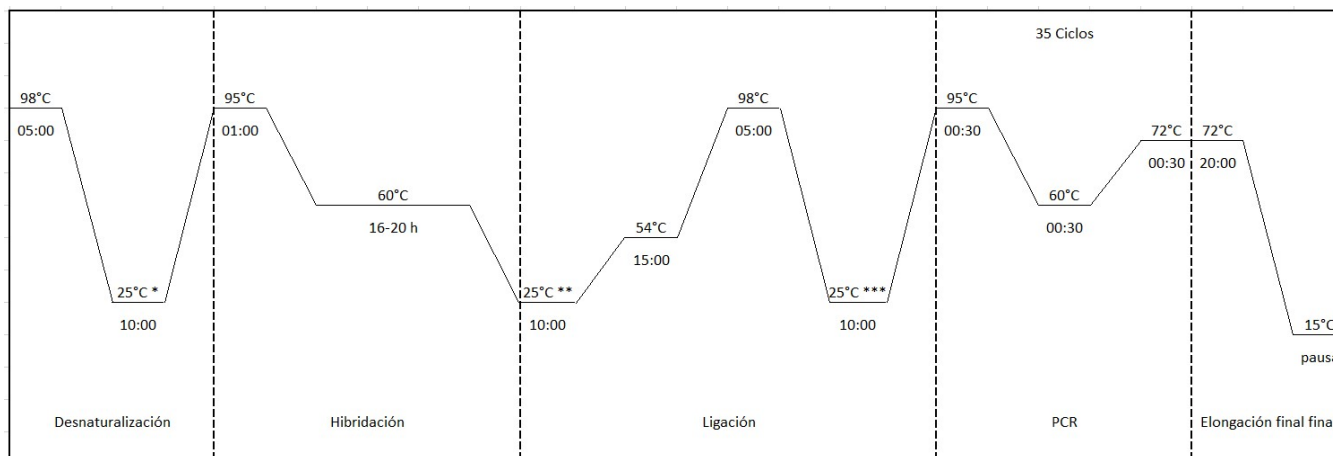


Figura 4. Condiciones del termociclador para la genotipificación de CNV por MLPA. *Adición de *reacción* de hibridación. **Adición de *reacción* de ligación. ***Adición de *reacción* de PCR.

Las frecuencias alélicas de las variantes analizadas fueron comparadas con las reportadas en distintos estudios y bases de datos, y se analizó si se encontraron en equilibrio de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg.

7.3.2. Determinación de concentraciones plasmáticas de CLZ y dmCLZ por CLAR

Las concentraciones de CLZ y dmCLZ en plasma fueron cuantificadas utilizando el método descrito y validado anteriormente (Vaquero-Baez et al., 2019) por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) acoplado a un espectrofotómetro de luz ultravioleta Agilent 1100. Se utilizó una columna Zorbax SB-CN de 150x4.6mm y 3.5µm de tamaño de partícula, usando como fase móvil una solución de acetonitrilo:amortiguador de acetatos pH 5.7 (50:50 v/v), con una de flujo de 1 mL/min durante 13 minutos, detectando las señales a una longitud de onda de 245 nm. Las curvas de calibración se realizaron con disoluciones de CLZ y dmCLZ en plasma en un intervalo de 31.25-1,000ng/mL y 12.5-400ng/mL, respectivamente. El método de extracción utilizado fue el siguiente:

- a) Se descongeló una alícuota de 300µL de plasma almacenada a -20°C y se colocó en un tubo de 5mL.
- b) Se le adicionaron 30µL de una solución de protriptilina de concentración 1,000ng/µL (estándar interno) y 3.5mL de acetato de etilo.
- c) Se agitó durante 30 segundos en vórtex y posteriormente se centrifugó a 5,000 rpm durante 10 minutos. Se separó la fase orgánica (fase superior) y esta se transfirió a otro tubo de 5mL.
- d) A esta fase se le adicionaron 150µL de una solución de HCl 0.1M.
- e) La mezcla se agitó durante 30 segundos en vórtex y posteriormente se centrifugó a 5,000 rpm durante 10 minutos. Se recuperó la fase acuosa (fase inferior) y se colocó en los viales para su análisis en el cromatógrafo.

7.3.3. Reacciones adversas medicamentosas

Después de 18 semanas de tratamiento con CLZ se realizó un cuestionario para evaluar la presencia de RAM probables o definitivas a CLZ el cual le fue interrogado al paciente o, en su caso, al familiar acompañante (Anexo II) por un médico genetista y, cuando fuese necesario, completado con información proporcionada por el neuropsiquiatra. Las RAM fueron clasificadas en generales, neurológicas y

metabólicas. La frecuencia de las RAM se contabilizó por estas categorías, la suma como RAM totales; para el análisis estadístico de los resultados, se determinó como presencia de RAM en aquellos que presentaran una frecuencia mayor a la mediana estadística y como ausencia en aquellos con una frecuencia menor a ésta.

7.3.4. Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizaron los programas IBM ®SPSS® *Statistics 20.0* (IBM) y "R" v.4.0.4. Se evaluó la diferencia entre las concentraciones plasmáticas de CLZ entre los grupos con distintos genotipos para las variantes genéticas de *CYP* analizadas utilizando las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney-Wilcoxon; mientras que para evaluar las diferencias entre los radios metabólicos (relación CLZ/dmCLZ) se utilizaron las pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y t de *Student*. Se estableció como valor de significancia $p < 0.05$.

Para el análisis del efecto de las variantes en la presencia de RAM se realizó una prueba de chi-cuadrada, con la finalidad de seleccionar las variables que influyeran de manera significativa o marginalmente significativa ($p < 0.1$) en la presencia de RAM, las cuales se incluyeron posteriormente en un análisis de regresión logística binaria. El poder estadístico del modelo se calculó con el programa G*Power v.3.1.9.7 (Faul et al., 2009).

8. Resultados y discusión

8.1. Descripción de la población de estudio

Se reclutaron un total de 48 pacientes MM con TPP bajo tratamiento con CLZ, las características demográficas y farmacológicas se muestran en la Tabla 4. El 93.75% de los pacientes presentaron medicación adicional concomitante (ansiolítico, antidepresivo, anticonvulsivo y/o anticolinérgico). Identificamos que el 14.58% de los pacientes tomaban algún fármaco inductor de las enzimas CYP1A2, CYP2D6 o CYP3A4; 47.92% algún inhibidor de estas mismas y 14.58% una combinación de inhibidor e inductor (Tabla 4). No hubo diferencias significativas entre hombres y mujeres en relación con datos de edad, peso y dosis diaria de CLZ (t de Student $p=0.271, 0.471, 0.072$, respectivamente)

8.2. Cuantificación de niveles plasmáticos de CLZ y dmCLZ

Las medias de las concentraciones plasmáticas de CLZ y dmCLZ obtenidas se muestran en la Tabla 5, así como las concentraciones plasmáticas ajustadas por dosis/peso y la relación CLZ/dmCLZ o radio metabólico. Los pacientes fueron clasificados en tres categorías con base en los niveles plasmáticos de CLZ en pacientes con niveles subterapéuticos, terapéuticos y supraterapéuticos. Se ha considerado que el umbral de concentración plasmática de CLZ para presentar una respuesta clínica se encuentra entre 250-400 ng/mL (Brigatti et al., 2012; Spina et al., 2000); sin embargo, algunas guías consideran que puede encontrarse en hasta entre 200-700ng/mL, debido a la gran variabilidad que existe entre pacientes y a la terapia concomitante (Costa-Dookhan et al., 2020; The National Council, 2020). Por otra parte, el radio metabólico para CLZ se considera ideal cuando se aproxima a 2.0 (Couchman et al., 2010). En ninguno de los casos se vio una diferencia significativa entre pacientes masculinos y femeninos ($p>0.05$).

Tabla 4. Características demográficas y farmacológicas de los pacientes con TPP bajo tratamiento con CLZ.

Característica	Pacientes (n=48) Promedio ± DE
Género (masculino/femenino)	28 / 20
Edad (años)	38.65±10.53
• Hombres	37.03±41.00 (20-55)
• Mujeres	41.00±13.04 (21-73)
Edad de inicio (años)	21.41±7.19
Peso (rango) (kg)	78.74±14.83 (48.5-129)
Dosis diaria de CLZ (rango) (mg)	188.75±141.71 (10-700)
<i>Diagnóstico</i>	
ESQ	29
TEA	13
TBP	6
Duración de la enfermedad (años)	16.57±10.00
Pacientes sin comedicación adicional	3
Pacientes con comedicación adicional	45
<i>Medicación concomitante adicional, n (%)</i>	
Ansiolítico	24 (50.0)
Antidepresivo	34 (70.8)
Anticonvulsivo	14 (29.2)
Anticolinérgico	2 (4.2)
<i>Influencia sobre enzimas CYP450 por medicación concomitante</i>	
Inductor	7 (14.58%)
Inhibidor	23 (47.92%)
Inhibidor + Inductor	7 (14.58%)
Sin alteración por concomitancia	8 (16.67%)
Sin concomitancia	3 (6.25%)
<i>Número de pacientes que (%)</i>	
Consumen alcohol	20 (41.7)
Fuman	22 (45.8)
Beben café	34 (70.8)
Son sedentarios	26 (54.2)
<i>Escalas de sintomatología en pacientes</i>	
<i>Línea base (semana 0)</i>	
PANSS positivo	31.65±5.27
PANSS negativo	28.88±5.83
PANSS general	52.71±4.43
PANSS total	113.24±11.53
CGI-S	5.91±0.54
<i>Semana 18</i>	
PANSS positivo	18.53±3.89
PANSS negativo	23.80±5.51
PANSS general	39.87±3.91
PANSS total	82.20±8.02
CGI-C	2.91±0.94

CLZ: clozapina; ESQ: esquizofrenia; TEA: Trastorno esquizoafectivo; TBP: trastorno bipolar. DE: Desviación Estándar. PANSS, Escala de síndromes positivos y negativos. CGI, Impresión clínica global. CGI-S, Severidad de la enfermedad. CGI-C, mejora y respuesta terapéutica.

De acuerdo con la literatura, los pacientes mexicanos con ESQ requieren dosis menores de CLZ para alcanzar concentraciones plasmáticas similares a las presentadas por pacientes caucásicos. En dicho reporte, también identificaron que factores como la dosis de CLZ y la comedición contribuyen a la variabilidad en las concentraciones plasmáticas del fármaco (González-Esquivel et al., 2011). Los resultados presentados concuerdan con este estudio respecto a la variabilidad en las concentraciones plasmáticas de CLZ en pacientes mexicanos con TPP en estado estacionario.

Tabla 5. Datos farmacológicos de los 48 pacientes con trastornos psicóticos bajo tratamiento con CLZ

	Total (48)	Hombres (28)	Mujeres (20)	p*
Concentraciones plasmáticas de CLZ (ng/mL) ± DE	155.516±181.348 (7.635-865.683)	167.189±181.868 (9.992-838.795)	139.174±179.064 (7.635-865.683)	0.580
Concentraciones de dmCLZ (ng/mL) ± DE	68.624±60.435 (7.721-289.824)	71.073±58.239 (7.271-284.545)	65.196±64.760 (16.949-289.824)	0.527
Concentraciones plasmáticas de CLZ ajustadas por dosis/peso (ng mL ⁻¹ /mgkg ⁻¹)	62.420±46.218 (0.00-216.42)	53.810±37.936 (0.00-144.48)	74.480±54.558 (4.81-216.42)	0.154
Radios metabólicos (CLZ/dmCLZ) ± DE	1.959 ±1.041 (0.338-4.733)	1.948±1.090 (1.015-4.733)	1.974±0.994 (0.338-4.469)	0.794
Pacientes clasificados en grupos terapéuticos según concentraciones plasmáticas de CLZ,				
Subterapéutico (<200ng/mL)	37 (77%)	19	18	NA
Terapéutico (≥ 200ng/mL y < 400ng/mL)	9 (18.8%)	8	1	NA
Supraterapéutico (≥400ng/mL)	2 (4.2%)	1	1	NA

CLZ: clozapina. dmCLZ: N- desmetilclozapina. DE: Desviación Estándar. p: probabilidad.

Tabla 6. Frecuencia alélica de variantes de *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* en voluntarios mestizo-mexicanos y pacientes con diabetes mellitus tipo 2 refractaria.

Gen	Variante de CYP (dbSNP)	Alelo	Pacientes			Voluntarios sanos		
			n	Frecuencia	IC 95%	n	Frecuencia	IC 95%
<i>CYP1A2</i>	rs2069514 c.-3860G>A	A	35	0.365	0.275-0.465	63	0.455	0.376-0.540
	rs35694136 c.-2467Tdel	delT	46	0.479	0.382-0.578	62	0.461 [‡]	0.381-0.547
	rs762551 c.-9-154C>A	A	71	0.740	0.643-0.818	597	0.666	0.635-0.696
	rs72547516 c.1156A>T	T	0	0.000	0.000-0.046	0	0.000 [‡]	0.000-0.034
	rs72547517 c.1367G>A	A	0	0.000	0.000-0.046	1	0.000	ND
<i>CYP2D6</i>	rs1065852 c.100C>T	T	9	0.094	0.048-0.171	55	0.110	0.086-0.141
	rs28371706 c.320C>T	T	2	0.021	0.001-0.077	3	0.006	0.001-0.018
	rs3892097 c.506-1G>A	A	10	0.104	0.056-0.183	45	0.090	0.068-0.119
	rs35742686 c.775A del	del	0	0.000	0.000-0.046	0	0.000	0.000-0.009
	*5 Delección completa del gen	*5	1	0.010	0.000-0.062	15	0.030	0.018-0.050
	CNV Duplicación completa del gen	dup	3	0.031	0.007-0.092	18	0.036	0.023-0.057
<i>CYP3A4</i>	rs4646438 c.830dupA	dup	0	0.000	0.000-0.046	1	0.000	ND

n, número de sujetos. IC, intervalo de confianza. ND, no determinado debido a que se encontró fuera del IC. p: probabilidad de Fisher $\alpha=0.05$. [‡]gnomAD Latino, rs35694136= 0.653 (n=8864), p=0.117; rs72547516=0.917

Tabla 7. Genotipos y frecuencias alélicas de variantes de *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* en pacientes con psicosis

Gen	Variante de CYP (dbSNP)	Genotipo/Alelo*	n	Frecuencia Observada	IC 95%	‡Frecuencia
<i>CYP1A2</i>	rs2069514 c.-3860G>A	GG	20	0.417	0.288-0.557	
		GA	21	0.438	0.307-0.577	
		AA	7	0.146	0.069-0.275	
		G	61	0.635	0.536-0.725	
		A	35	0.365	0.275-0.465	
	rs35694136 c.-2467Tdel	TT	12	0.250	0.148-0.389	
		Tdel	26	0.542	0.403-0.674	
		deldel	10	0.208	0.115-0.345	
		T	50	0.521	0.422-0.618	
		delT	46	0.479	0.382-0.578	
	rs762551 c.-9-154C>A	CC	4	0.083	0.028-0.201	
		CA	17	0.354	0.234-0.496	
		AA	27	0.563	0.423-0.693	
		C	25	0.260	0.187-0.357	
		A	71	0.740	0.643-0.818	
	rs72547516 c.1156A>T	AA	48	1.000	0.912-1.000	
		A	96	1.000	0.954-1.000	
	rs72547517 c.1367G>A	GG	48	1.000	0.912-1.000	
		G	96	1.000	0.954-1.000	
	‡Diplotipos	<i>CYP1A2</i>	*1/*1	4	0.083	0.028-0.201
*1/*1F			2	0.042	0.004-0.148	
*1/*1L			10	0.208	0.115-0.345	
*1/*1V			4	0.083	0.028-0.201	
*1/*CF			1	0.021	0.000-0.119	
*1F/*1F			2	0.042	0.004-0.148	
*1F/*1L			6	0.125	0.055-0.251	
*1F/*1V			6	0.125	0.055-0.251	

		*1F/*CF	1	0.021	0.000-0.119
		*1L/*1L	5	0.104	0.041-0.226
		*1L/*1V	3	0.063	0.0152-0.175
		*1L/*CF	0	0.000	0.000-0.089
		*1V/*1V	2	0.042	0.004-0.148
		*1V/*CF	0	0.000	0.000-0.089
		*CF/*CF	2	0.042	0.004-0.148
		*1	25	0.260	0.183-0.357
	<i>CYP1A2</i> ††Haplotipos	*1F	19	0.198	0.130-0.289
		*1L	29	0.302	0.219-0.400
		*1V	17	0.177	0.113-0.266
		*CF	6	0.063	0.026-0.132
	rs1065852 c.100C>T	CC	40	0.833	0.702-0.916
		CT	7	0.146	0.069-0.275
		TT	1	0.021	0.000-0.120
		C	87	0.906	0.829-0.952
		T	9	0.094	0.0482-0.171
<i>CYP2D6</i>	rs28371706 c.320C>T	CC	47	0.979	0.881-1.000
		CT	0	0.000	0.000-0.086
		TT	1	0.021	0.000-0.120
		C	94	0.979	0.923-1.000
		T	2	0.021	0.001-0.077
	rs3892097 c.506-1G>A	GG	38	0.792	0.656-0.885
		GA	10	0.208	0.115-0.345
		AA	0	0.000	0.000-0.086
		G	86	0.896	0.817-0.944
		A	10	0.104	0.056-0.183
		AA	48	1.000	0.912-1.000

	rs35742686 c.775A del	A	96	1.000	0.954-1.000
		*1*1	47	0.979	0.881-1.000
	*5	*1*5	1	0.021	0.000-0.086
	Delección completa del gen	*5*5	0	0.000	0.000-0.120
		*1	95	0.990	0.938-1.000
		*5	1	0.010	0.000-0.062
		*1*1	46	0.958	0.852-0.996
	CNV Duplicación completa del gen	*1dup	1	0.021	0.000-0.086
		dupdup	1	0.021	0.000-0.086
		*1	93	0.969	0.908-0.993
		dup	3	0.031	0.007-0.092
<i>CYP3A4</i>	rs4646438 c.830dupA	-/-	48	1.000	0.912-1.000
		A	96	1.000	0.954-1.000

n, número de sujetos. p: probabilidad. ‡Calculado con la ley de Hardy-Weinberg, ND, No determinado porque solo se determinó el genotipo. §No determinado porque no se encontró el genotipo. ¶Diplotipos que se predicen como combinaciones de †††haplotipos, *1 (Silvestre), *1F (c.-9-154C>A, rs2069514+ c.-2467delT, rs35694136+ c.-163CA, rs762551), *1V (c.-2467delT, rs35694136+ c.-163CA, rs762551), *154C>A, rs762551) y de acuerdo con <https://www.pharmvar.org/>

Tabla 8. Genotipos de variantes de *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* y su asociación con las concentraciones plasmáticas de clozapina en pacientes con psicosis refractaria (n=48).

Gen	Variante de CYP (dbSNP)	Genotipo	n	Concentración plasmática de CLZ (ng/mL) (media ± DE)	p ^a	Concentración de CLZ ajustada por dosis/peso (ng mL ⁻¹ /mgkg ⁻¹) (media ± DE)
CYP1A2	rs2069514	GG	20	142.330±177.515	0.765	58.132±40.120
		GA	21	151.996±130.214		60.910±40.064
		AA	7	203.754±313.007		79.224±76.725
	rs35694136	TT	12	177.11±230.116	0.632	65.477±42.968
		Tdel	26	143.649±112.413		57.830±36.754
		deldel	10	160.462±266.189		70.702±70.689
	rs762551	CC	4	141.234±184.298	0.285	58.642±53.960
		CA	17	188.841±192.797		67.515±38.907
		AA	27	112.090±110.168		59.778±50.671
	rs72547516	AA	48	155.516±181.348	---	62.42±46.218
	rs72547517	GG	48	155.516±181.348	---	62.42±46.218
	Diplotipo ^c	*1/*1	4	112.090±110.170	0.714	58.640±53.930
		*1/*1F	2	464.000±529.973		49.201±24.810
		*1/*1L	10	149.340±100.879		65.839±38.876
		*1/*1V	4	109.800±47.0039		76.238±53.519
		*1/*CF	1	342.400		86.006
		*1F/*1F	2	67.960±42.583		33.804±9.267
		*1F/*1L	6	187.322±177.3957		48.848±32.795
		*1F/*1V	6	113.050±177.3957		41.190±19.968
		*1F/*CF	1	143.100		144.484
*1L/*1L		5	259.760±363.7183	79.981±92.339		
*1L/*1V		3	29.714±26.76946	32.380±31.237		
*1V/*1V		2	108.340±33.096	104.985±41.566		
*CF/*CF		2	63.740±61.515	77.330±34.709		

CYP2D6	rs1065852	CC	40	161.519±193.547	0.884	65.660±46.164	0
		CT	7	124.067±112.525		47.830±49.384	
		TT	1	135.600±0.000		35.150±0.000	
	rs28371706	CC	47	154.308±183.114	---	62.529±46.712	0
		TT	1	212.287		57.459	
	rs3892097	GG	38	169.846±200.383	0.639	65.083±47.159	0
		GA	10	101.064±50.086		52.316±43.233	
	rs35742686	AA	48	155.516±181.348	---	62.420±46.218	0
	*5	*1*1	47	157.720±182.658	0.470	63.011±46.537	0
		*1*5	1	51.950		34.807	
	CNV	*1*1	46	156.233±185.099	0.747	60.934±45.118	0
		*1dup	1	179.999		152.999	
dupdup		1	98.071	40.356			
CYP3A4	rs4646438	-/-	48	155.516±181.348	---	62.42±46.218	0

CLZ, Clozapina. dbSNP, base de datos de variantes de un solo nucleótido en *National Center of Biotechnology*, NCBI. n: número de copias. p: probabilidad. ^aPrueba de Kruskal-Wallis. ^bPrueba ANOVA. ---: No aplica. ^cDiplo tipos que se predicen con *1 (Silvestre), *1F (c.-9-154C>A, rs762551), *1L (c.-3860C>A, rs2069514+ c.-2467delT, rs35694136+ c.-163C>A, rs35694136+ c.-163C>A, rs762551), *CF (c.-3860C>A, rs2069514+ c.-9-154C>A, rs762551) y de acuerdo con <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>

8.3. Estudio de asociación de las variantes de los genes *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* y los niveles plasmáticos de CLZ y los radios metabólicos

A continuación, se presentan los resultados de los análisis de asociación ordenados por cada gen analizado. En la Tabla 6 se presentan de manera general las frecuencias alélicas encontradas en la población de estudio, y se comparan con la de voluntarios MM sanos reportados en la literatura y las bases de datos. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas ($p > 0.05$).

8.3.1. *CYP1A2*

En la Tabla 7 se pueden observar las frecuencias genotípicas y alélicas para las variantes estudiadas del gen *CYP1A2*. Para las variantes rs2069514, rs35694136, rs762551, rs72547516 y rs72547517 las frecuencias alélicas son similares a las reportadas previamente (Tabla 6). Se observaron altas frecuencias alélicas de las variantes rs2069514, rs35694136 y rs762551 (35%, 46% y 71%, respectivamente) en los pacientes estudiados, en contraste con la ausencia de las variantes rs72547516 y rs72547517. Todas las variantes analizadas, incluyendo los diplotipos, se encontraron en equilibrio según la ley de Hardy-Weinberg (Tabla 7).

Se realizó el análisis de asociación de los niveles plasmáticos de CLZ, concentraciones plasmáticas corregidas por dosis/peso y normalizados a modo de radios metabólicos (Tabla 8) con los distintos genotipos para las variantes analizadas. No se encontró una diferencia entre las concentraciones de CLZ corregidas por la prueba de Kruskal-Wallis, ni con los radios metabólicos por prueba de ANOVA ($p > 0.05$) entre los genotipos de *CYP1A2*, lo que podría indicar que estas variantes no están influyendo directamente en las concentraciones de CLZ en los pacientes con TPP.

En la literatura, los individuos portadores de la variante rs2069514 para *CYP1A2* (genotipos GA y AA) se asocian con una menor actividad metabólica en comparación con los portadores del alelo silvestre (Nakajima et al., 1999); mientras que los sujetos fumadores, portadores de la variante se relacionan con una actividad

disminuida de esta enzima (Djordjevic et al., 2010). Se ha propuesto que esto ocurre, posiblemente, por alteraciones en el sitio de unión de un factor de transcripción en la región promotora del gen (Dean, 2012). La frecuencia alélica de esta variante presenta una gran divergencia entre población europea y nativos americanos (Bonifaz-Peña et al., 2014; Szalai et al., 2014) ($f=0.0129$ y $f=0.266$, respectivamente en la base de datos gnomAD). La frecuencia encontrada en este estudio es similar a la reportada en *1000 Genomes project* para población de ascendencia mexicana en Los Ángeles, CA ($f=0.383$), y a la reportada por González-Covarrubias (2016).

El alelo rs762551 de *CYP1A2* es relevante en la farmacogenética pues presenta una actividad aumentada en comparación con el alelo silvestre, y es altamente inducible, por ejemplo, por el consumo de tabaco (Laika et al., 2010; Pavanello et al., 2010). En un estudio que incluyó 58 pacientes caucásicos tratados con CLZ, se analizó la participación de variantes de *CYP1A2* sobre los niveles plasmáticos de este ASG, donde al igual que, en el presente estudio, se incluyeron las variantes rs2069514, rs35694136 y rs762551. Las frecuencias que se detectaron en los pacientes de dicho estudio fueron 66.8%, 1.3% y 5.6%, respectivamente; contrastando con lo observado en nuestra serie de pacientes, donde las frecuencias que se obtuvieron para los alelos rs2069514 y rs35694136 fueron del 36.5% y 47.9%, respectivamente; mientras que para el alelo rs762551 fue de 74.0%. Sin embargo, al intentar asociar estas variantes con la concentración plasmática de CLZ/dosis y concentración plasmática de CLZ/dosis/peso, sus resultados fueron similares a los nuestros al no encontrar una asociación directa. Uno de sus hallazgos fue una tendencia a presentar una relación concentración CLZ/dosis menor en pacientes portadores del alelo rs762551 y mayor en pacientes con el alelo rs35694136 (Kootstra-Ros et al., 2005).

En un meta-análisis reciente se incluyeron 19 estudios (872 pacientes tratados con CLZ) (Na Takuathung et al., 2019) y se exploró la relación de las variantes rs2069514, rs35694136 y rs762551 de *CYP1A2* en la variación de los parámetros farmacocinéticos de olanzapina, haloperidol y CLZ. El meta-análisis no encontró

evidencia de que las variantes mencionadas tuvieran una relación significativa con los niveles plasmáticos de CLZ u olanzapina.

Diversos estudios y meta-análisis (en población europea y del sureste de Asia) concuerdan en que la presencia de estas tres variantes no afecta de manera directa los niveles plasmáticos de CLZ y, por lo tanto, el uso de estas variantes en tamices farmacogenéticos para la dosificación de CLZ, son limitados, y en la mayoría de los casos se sugiere considerar no solo la influencia genética, sino también las variables de confusión (polifarmacia, duración del tratamiento, edad de inicio) que normalmente no se incluyen en el diseño de los estudios y que influyen en los perfiles farmacocinéticos de CLZ (Srirenakumar et al., 2015).

Los hallazgos en un reporte reciente de un paciente caucásico con ESQ refractaria, fumador, bajo tratamiento con CLZ sin respuesta clínica apoyan esta hipótesis (Sangüesa et al., 2019). Este paciente presentaba un radio metabólico bajo, indicador de metabolismo acelerado, sus genotipos para distintas enzimas metabolizadoras demostraron que el paciente era portador homocigoto de la variante rs762551 de *CYP1A2* y de una variante en *SLC6A4* (gen que codifica para un transportador de serotonina), cuya consecuencia es una delección de 43 pb que se asocia con falta de respuesta al tratamiento. En consecuencia, se tomó la decisión de aumentar la dosis de CLZ, y ello resultó en una mejoría considerable del paciente. Esto es un ejemplo de cómo la farmacogenética puede ser de ayuda aún en casos individuales, a pesar de que la evidencia en una población no demuestre resultados tan claros.

8.3.2. CYP2D6

En la Tabla 7 se pueden observar las frecuencias genotípicas y alélicas para las variantes estudiadas de *CYP2D6*. Las frecuencias alélicas encontradas fueron similares a las descritas recientemente en población MM (Tabla 6). En la Tabla 7 se recopilan los resultados de la genotipificación por MLPA para las variantes de número de copias para el mismo gen. Las comparaciones de las concentraciones plasmáticas de CLZ. Las concentraciones corregidas por dosis/peso y los radios

metabólicos para los distintos genotipos de *CYP2D6* no mostraron diferencias significativas en la muestra estudiada (Tabla 8).

Las variantes rs3892097 y rs1065852 son parte del alelo *CYP2D6**4, el cual es de actividad enzimática nula. Se encontraron catorce pacientes heterocigotos para esta variante (diez para la variante rs3892097 y siete para la variante rs1065852); la variante rs35742686 no fue detectada en la muestra analizada.

También se detectó mediante MLPA un paciente portador de una delección homocigota de *CYP2D6* (alelo *5), y dos pacientes con duplicaciones del gen, uno de manera heterocigota y el otro en estado homocigoto (*CYP2D6X3* y *CYP2D6X4*, respectivamente). A pesar de la capacidad del panel de MPLA empleado para detectar otras CNV, no se encontraron variantes en otros genes que intervengan de manera directa en el metabolismo de CLZ.

El paciente homocigoto para la duplicación completa de *CYP2D6* presentó concordancia genotipo-fenotipo, que, además del CNV mencionado, tiene un genotipo heterocigoto para las variantes rs1065852 (c.100CT) y rs3892097 (c.506-1GA), y es homocigoto silvestre para la variante c.320CC. Este paciente presentó menores concentraciones plasmáticas de CLZ al igual que los radios metabólicos en comparación con la media del resto de los pacientes (Tabla 8), Este paciente requerirá ajuste de dosis, según las recomendaciones de la FDA (FDA, 2020).

En contraste, otros investigadores consideran que las variantes en *CYP2D6* no están significativamente asociadas con la respuesta a CLZ o con la presencia de RAM (Arranz et al., 1995; Melkersson et al., 2007; Thorn et al., 2012; Zhang & Malhotra, 2011). A partir de esta controversia se puede interpretar que el genotipo como predictor del fenotipo no refleja el fenotipo metabolizador observado debido a la presencia de factores específicos no genéticos, como puede ser el tabaquismo o la comedicación; esta inconsistencia en la predicción del fenotipo por el genotipo se conoce como fenoconversión (Lesche et al., 2020; Mostafa et al., 2019; Preskorn et al., 2013; Shah & Smith, 2015).

Respecto a la comedición en la muestra de pacientes estudiada, la prescripción de anticonvulsivos y antidepresivos fue la más común, siendo parte de estos grupos los inhibidores e inductores de CYP más comunes, respectivamente. En la clínica, estos pacientes son monitoreados de manera estrecha respecto a la eficacia del tratamiento y para presencia de RAM.

8.3.3. CYP3A4

Ya que todos los pacientes fueron homocigotos silvestres para la variante rs4646438 de *CYP3A4*, se decidió no incluirla en los análisis estadísticos posteriores. Al consultar las bases de datos públicas, se confirmó que esta variante es muy rara en la población latina ($f=0.0000289$, gnomAD).

8.4. Efecto de las variantes en los genes *CYP1A2* y *CYP2D6* en la presencia de RAM.

En este estudio también se tomó en cuenta la presencia de RAM en los pacientes y se investigó su asociación con las variantes genéticas de las enzimas metabolizadoras analizadas. Las RAM fueron clasificadas en totales, generales, neurológicas y metabólicas, siendo estas últimas tres las más comunes entre las recopiladas en el cuestionario de RAM (Anexo II). Las RAM generales más comunes fueron sedación (62.5%), somnolencia (56.25%) y fatiga (47.92%). De las RAM metabólicas: aumento de peso (54.17%); y dificultad para concentrarse (54.17%) y falla en la memoria (54.17%), en el caso de RAM neurológicas (Fig. 5).

Para el análisis se consideró la mediana de la frecuencia de las RAM por categoría como punto de corte, registrando valores por encima de este como presencia de RAM y por debajo como ausencia. Posteriormente, se realizó un análisis de asociación de esta clasificación con las variantes estudiadas, sexo, y otras variables de estilo de vida como consumo de alcohol, tabaco y sedentarismo, mediante prueba de chi-cuadrada (Tabla 9). Aquellas variables que fueran cercanas a una significancia después de ajuste por comparaciones múltiples ($p<0.1$) fueron seleccionadas para un análisis de asociación en un modelo de regresión logístico

binario, al igual que las variables continuas como los niveles plasmáticos de CLZ y los radios metabólicos.

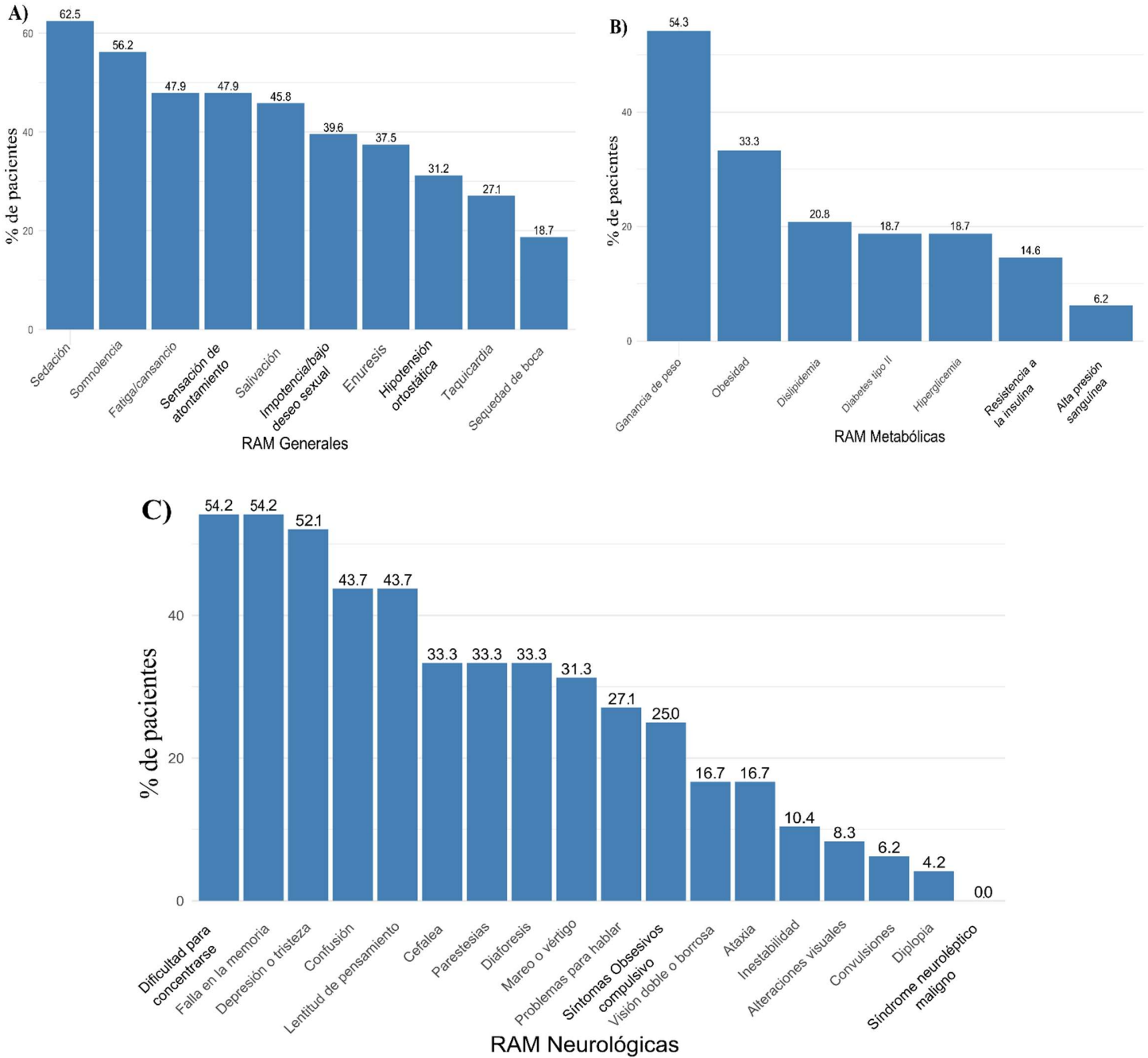


Figura 5. Porcentaje de pacientes con TPP bajo tratamiento con CLZ que presentaron distintas RAM. A) generales, B) metabólicas y C) neurológicas.

Tabla 9. Asociación entre variantes genéticas en CYP1A2, CYP2D6 y CYP3A4 y la presencia de RAM en pacientes con CLZ (n=48).

Variable	p	RAM totales			RAM generales			RAM neurológicas		
		OR	IC	p	OR	IC	p	OR	IC	
CYP1A2, rs2069514 (GG vs. AG.AA)	0.025 (0.012)*	0.259	0.077-0.867	0.383 (0.125)	0.600	0.190-1.895	0.087 (0.035)*	0.362	0.112-	
CYP1A2, rs35694136 (TT vs. Tdel.deldel)	0.401 (0.141)	1.789	0.456-7.021	1.000 (0.242)	1.000	0.271-3.694	0.868 (0.230)	0.895	0.242-	
CYP1A2, rs762551 (CC vs. AC.AA)	0.858 (0.227)	1.188	0.180-7.843	0.637 (0.191)	0.636	0.096-4.197	0.708 (0.207)	1.432	0.217-	
CYP2D6, rs1065852 (CC vs. CT.TT)	0.696 (0.203)	1.353	0.296-6.193	0.330 (0.105)	0.526	0.143-1.932	0.424 (0.148)	0.590	0.161-	
CYP2D6, rs28371706 (CC vs. TT)	0.252 (0.078)	1.050	0.954-1.155	0.312 (0.098)	1.043	0.960-1.134	0.292 (0.094)	1.045	0.958-	
CYP2D6, rs3892097 (GG vs. AG)	0.244 (0.070)	2.300	0.555-9.540	0.477 (0.156)	0.600	0.146-2.473	0.390 (0.129)	1.853	0.449-	
Sedentarismo (Sí vs. No)	0.422 (0.144)	1.600	0.507-5.054	0.562 (0.172)	1.400	0.448-4.376	0.398 (0.137)	1.636	0.521-	
Consumo de alcohol (Sí vs. No)	0.005 (0.004)*	6.182	1.631-23.433	0.079 (0.031)*	2.870	0.872-9.448	0.007 (0.08)	5.400	1.511-	
CYP1A2, rs2069514 (AA vs. AG.GG)	0.089 (0.043)*	5.714	0.631-51.767	0.683 (0.199)	1.400	0.278-7.056	0.268 (0.086)	2.625	0.456-	
CYP1A2, rs35694136 (deldel vs. TT.Tdel)	0.373 (0.121)	0.963	0.894-1.037	0.155 (0.063)	2.882	0.646-12.867	0.047 (0.020)*	4.941	0.924-	
CYP1A2, rs762551 (AA vs. AC.CC)	0.288 (0.090)	1.870	0.587-5.960	0.771 (0.215)	1.185	0.378-3.710	0.585 (0.180)	1.375	0.438-	
CYP2D6, rs1065852 (TT vs. CT.CC)	0.149 (0.059)	3.325	0.612-18.061	0.712 (0.211)	1.316	0.306-5.649	0.087 (0.039)*	4.083	0.751-	
Sexo (Hombre vs. mujer)	0.105 (0.047)*	0.371	0.111-1.247	0.558 (0.168)	0.709	0.224-2.244	0.130 (0.051)	0.404	0.123-	
Tabaquismo (Sí vs. No)	0.315 (0.102)	0.550	0.170-1.776	0.140 (0.055)	0.412	0.125-1.353	0.263 (0.083)	0.513	0.159-	

Valor p de prueba Chi cuadrada y (valor p ajustado por el método de Benjamini Hochberg de comparaciones múltiples). intervalo de confianza al 95%. OR, *odds ratio*. p: probabilidad.

Tabla 10. Modelo de regresión logístico binario para estimar el riesgo de desarrollar RAM a CLZ en 48 pac

	Modelo sin consumo de alcohol			Modelo co
	OR	IC	p	OR
<i>CYP1A2</i> , rs2069514 (GG vs. AG.AA)	3.547	1.041-12.269	0.043*	7.898
<i>CYP1A2</i> , rs762551 (AA vs. AC.CC)	1.438	0.417-4.951	0.565	1.621
Consumo de alcohol	---	---	ND	13.269

IC, Intervalo de confianza al 95%. ND, No determinado. OR: *odds ratio*. p: probabilidad. *Valor de p significativo. Valores de p para prueba de Hosmer & Lemeshow: modelo sin consumo de alcohol, p=0.547; y con consumo de alcohol, p=0.001.

Algunas asociaciones observadas fueron entre el genotipo c.100TT de *CYP2D6* ($p=0.039$) y el genotipo GG de la variante rs2069514 de *CYP1A2* ($p=0.035$) con presencia de RAM neurológicas; a su vez, el genotipo GG de la variante rs2069514 de *CYP1A2* presentó una asociación con la presencia de RAM totales ($p=0.012$). El consumo de alcohol se asoció con la presencia en general de RAM, así como con la presencia de RAM generales ($p=0.004$ y $p=0.031$, respectivamente); en consumo de tabaco se asoció con la presencia de RAM metabólicas ($p=0.027$).

Haciendo uso de los datos de asociación por prueba de chi-cuadrada, se obtuvieron dos modelos estadísticos (los de mejor ajuste). El primero de ellos sugieren que pacientes con la variante rs2069514 de *CYP1A2* son más propensos a presentar RAM en general en comparación con aquellos portadores del genotipo silvestre ($OR=3.547$, $p=0.043$). El segundo modelo deja en claro que el riesgo de presentar RAM es mucho mayor en pacientes que consumen alcohol ($OR=13.269$, $p=0.004$). En este mismo modelo, al compararlo con el primero, se puede apreciar la influencia del consumo de alcohol en la presencia de la variante rs2069514, pues el riesgo de presentar RAM aumenta a casi el doble ($OR=7.898$, $p=0.016$) Tabla 10. De acuerdo con el cálculo de poder estadístico ($P=88.62\%$) esta aseveración y las variables incluidas en el modelo son robustas.

Los estudios de asociación de RAM por CLZ y de variantes en enzimas metabolizadoras de fármacos son escasos. Uno de ellos (Ferrari et al., 2012) con una cohorte de 12 pacientes reporta que la frecuencia de RAM no está asociada con los alelos rs2069514 y rs762551 de *CYP1A2* por sí solos. Sin embargo, la presencia de RAM fue significativamente mayor en pacientes clasificados como de actividad reducida, los cuales eran portadores de una combinación de alelos que excluyen mayormente a la variante rs762551. En nuestro caso, no se apreció la interacción entre las variantes rs2069514 y rs762551 en el modelo propuesto, y la variante rs2069514 por sí sola sugiere ser suficiente para la presencia de RAM a CLZ. También se ha documentado que no existe asociación entre las variantes de un solo nucleótido y los niveles linfocíticos de mRNA de *CYP1A2*; sin embargo,

aquellos pacientes con niveles bajos de este ARN presentaron mayor número de RAM (Ferrari et al., 2012).

En un estudio realizado por Arranz y colaboradores, los pacientes a los que se les ajustó la dosis de antipsicóticos de acuerdo con las variantes de *CYP2D6*, *CYP1A2*, y *CYP2C19*, presentaron una reducción de RAM no significativa, aunque bastante importante, en comparación con pacientes tratados de manera usual (Arranz et al., 2019). Por lo tanto, los pacientes homocigotos para las variantes rs2069514 de *CYP1A2* y rs1065852 de *CYP2D6* presentaron más RAM neurológicas, y aquellos homocigotos para la variante rs35694136 de *CYP1A2* presentaron más RAM generales (Tabla 9). Estas variantes han sido asociadas previamente con presencia de RAM al exponerse a CLZ (Basile et al., 2000; Flockhart et al., 2009; Siretnakumar et al., 2015; Tiwari et al., 2005).

En otro estudio realizado por Cendrós et al., se evaluó la influencia de distintos genes relacionados al metabolismo y transporte de CLZ y otros antipsicóticos en los niveles plasmáticos de estos fármacos y la presencia de RAM. En dicho reporte se encontró que la variante rs762551 de *CYP1A2*, con actividad aumentada, está relacionada con una presencia menor de RAM psicológicas de acuerdo con la escala del Comité de Exámenes Clínicos de la Sociedad Escandinava de Psicofarmacología (UKU, por sus siglas en danés, *Udvalg for kliniske undersøgelser*) para el registro de efectos no deseados de psicotrópicos (tales como: dificultad para concentrarse, fatiga, sedación) debido a la naturaleza dosis-dependiente de estas RAM. Adicionalmente, encontraron que en la mayoría de los casos había asociación entre distintos tipos de RAM, como neurológicas y autonómicas, y la dosis, sin embargo, esto no fue así con las RAM psicológicas. A partir de este acercamiento, los autores hacen una interesante observación al considerar el papel que juega el metabolismo localizado en el cerebro por parte de *CYP1A2*, el cual no se verá reflejado en las concentraciones plasmáticas de CLZ pero si puede tener consecuencias en la exposición del fármaco a nivel local (Cendrós et al., 2020; Lingjaerde et al., 1987).

Los pacientes con ESQ a menudo presentan desórdenes de abuso de sustancias, de estos, el abuso de alcohol es de los más comunes (entre 20-60% de los pacientes) (Arranz et al., 2018). En la práctica clínica es bien reconocido que el consumo de alcohol en pacientes bajo tratamiento de CLZ aumenta la presencia de RAM neurológicas (Cheng et al., 2018)

El estudio de los efectos de los antipsicóticos, incluyendo la CLZ, en el consumo de alcohol en distintos modelos animales ha demostrado que la CLZ disminuye la ingesta de esta sustancia en comparación con el haloperidol, uno de los principales APG. En uno de estos estudios (Chau et al., 2013) se demostró que la CLZ reduce el consumo de alcohol en ratas con preferencia por alcohol en etapas tempranas del desarrollo del alcoholismo a una dosis de $12\text{mg/kg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ en comparación con ratas bajo tratamiento con haloperidol o vehículo ($p < 0.05$), aunque dichos resultados aplican a un periodo limitado de tiempo en el que posteriormente, probablemente se desarrolla un mecanismo de tolerancia al efecto atenuante al consumo de alcohol producido por la CLZ. En este mismo estudio, ambos antipsicóticos demostraron ser ineficaces en disminuir el consumo en una etapa crónica.

Estos resultados han sido sustentados por otros estudios en modelos con hámsters sirios. Aquellos hámsteres tratados con CLZ presentaron una disminución en el consumo de alcohol en comparación con los que fueron tratados con haloperidol (Green et al., 2004). Un acercamiento similar se realizó con un tratamiento concomitante de haloperidol con moduladores noradrenérgicos como la disipramina o el idazoxan, imitando aspectos farmacológicos de la CLZ. Con ello se sugiere que el receptor D2 dopaminérgico (con el que CLZ interactúa de manera débil y haloperidol de manera más fuerte), la modulación de la recaptura de norepinefrina y el antagonismo con receptores Alfa-2, intervienen en el mecanismo atenuante al consumo de alcohol producido por CLZ (Khokhar et al., 2015). En otros modelos, el efecto de la CLZ sobre el abuso de alcohol no es igual de evidente. Ingman y Korpi mostraron que en un modelo de rata con preferencia por el alcohol no presentaron

esta disminución en su consumo con dosis agudas de CLZ, pero si con dosis agudas de olanzapina, otro importante ASG (Ingman & Korpi, 2006).

Los estudios que analizan este fenómeno en humanos son escasos, uno de ellos (Drake et al., 2000) investigó de manera prospectiva por tres años a 151 pacientes con ESQ o TEA y el trastorno de uso de sustancias bajo tratamiento farmacológico, rehabilitación para trastornos mentales severos y asesoramiento sobre abuso de sustancias, de los cuales 36 fueron tratados con CLZ. Estos últimos presentaron una importante reducción en severidad de abuso de alcohol y en el número de días que lo consumieron con respecto a los pacientes que no recibieron CLZ como parte de la terapia farmacológica. Aunque en este estudio los autores proponen que quizás la modificación de la conducta hacia el alcohol puede ser influenciada por la propia decisión de los sujetos a abandonar el consumo, no se exploran las razones detrás de esta posible decisión, podría suponerse que esta conducta esté influenciada por el malestar provocado por la interacción entre la CLZ y el alcohol.

Aunque se desconoce el mecanismo por el cual la CLZ auxilia en el tratamiento del trastorno de abuso de sustancias, principalmente de alcohol, es posible que intervengan factores únicos de la CLZ, como es su principal metabolito, dmCLZ, el cual exhibe un fuerte agonismo con receptores muscarínicos y está involucrado en la eficacia de la CLZ en el tratamiento de pacientes refractarios, todo ello contribuyendo a su eficacia en el tratamiento del trastorno de abuso de sustancias (Arranz et al., 2018).

Existe poca información con respecto a la farmacogenética de CLZ en pacientes con psicosis refractaria y consumo de alcohol. Actualmente el uso de sustancias ya sea alcohol u otro tipo de drogas, es un criterio de exclusión para la participación en pruebas clínicas (Price & Brahm, 2011) por lo tanto, se justifican las intervenciones para mejorar el conocimiento sobre este tema. Aunado a esto, es importante considerar que existen interacciones complejas entre el consumo de alcohol, componentes metabólicos, variantes farmacogenéticas, la etnicidad e interacciones fármaco-fármaco en los pacientes con psicosis refractaria tratados con CLZ que requieren mayor investigación.

En este trabajo, las limitaciones fueron: el tamaño de la muestra y la heterogeneidad en términos de diagnóstico clínico. Adicionalmente, la evaluación de los hábitos de consumo de alcohol/tabaco/café no fueron cuantitativos, lo que impidió realizar escalas de consumo. Por lo tanto, se requieren estudios con muestras de mayor tamaño y que consideren estas variables para confirmar los hallazgos presentados. Por último, en este estudio se dedicó a analizar tres de los principales genes involucrados en la farmacocinética de CLZ, sin embargo, es necesario considerar otras variantes de los genes estudiados e incluir más genes implicados en este proceso (es decir, *UGT1A4* y *UGT2B10*), así como genes implicados en la farmacodinámica de CLZ (*ABCB1*, *SLC6A4*, *DRD1*, *SLC6A3*) para obtener resultados de mayor certeza y/o aplicación clínica.

9. Conclusiones

En conclusión, la genotipificación de variantes funcionales en los genes *CYP1A2*, *CYP2D6* y *CYP3A4* de 48 pacientes con TPP atendidos en el INNNMVS no permitieron encontrar una asociación con las concentraciones plasmáticas de CLZ y su metabolito, dmCLZ. Tampoco se pudieron definir estas concentraciones como responsables de la mayor presencia de RAM relacionadas al tratamiento con CLZ en estos pacientes.

Si bien en el presente estudio no se encontró un modelo que relacionara los niveles plasmáticos de CLZ ni los radios metabólicos con la presencia de RAM, se propone un modelo estadístico que considera a la presencia de RAM en la lista de los factores que disminuyen el abuso de alcohol en pacientes con TPP tratados con CLZ. También sugiere que la presencia de RAM depende en buena medida del consumo de alcohol y la presencia de variantes genéticas, en particular la variante rs2069514 de *CYP1A2*, perteneciente al alelo de actividad reducida *1C. El personal clínico debe ser consciente de la presencia, el reconocimiento temprano, la monitorización estrecha y el tratamiento de las RAM relacionadas con CLZ. La variante rs2069514 podría ser un marcador potencial para predecir reacciones adversas a CLZ en pacientes mexicanos con psicosis refractaria y consumo

concomitante de alcohol. Esta asociación puede considerarse preliminar hasta que sea confirmada en estudios futuros.

10. Referencias bibliográficas

- Aitchison, K. J., Jann, M. W., Zhao, J. H., Sakai, T., Zaher, H., Wolff, K., Collier, D. A., Kerwin, R. W., & Gonzalez, F. J. (2000). Clozapine pharmacokinetics and pharmacodynamics studied with CYP1A2-null mice. *Journal of Psychopharmacology*, 14(4), 353–359. <https://doi.org/10.1177/026988110001400403>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-5* (5ta ed.). American Psychiatric Publishing.
- Arranz, B., Garriga, M., García-Rizo, C., & San, L. (2018). Clozapine use in patients with schizophrenia and a comorbid substance use disorder: A systematic review. *European Neuropsychopharmacology*, 28(2), 227–242. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.12.006>
- Arranz, M. J., Dawson, E., Shaikh, S., Sham, P., Sharma, T., Aitchison, K., Crocq, M. A., Gill, M., Kerwin, R., & Collier, D. A. (1995). Cytochrome P4502D6 genotype does not determine response to clozapine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 39(4), 417–420. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1995.tb04471.x>
- Arranz, M. J., Gonzalez-Rodriguez, A., Perez-Blanco, J., Penadés, R., Gutierrez, B., Ibañez, L., Arias, B., Brunet, M., Cervilla, J., Salazar, J., & Catalan, R. (2019). A pharmacogenetic intervention for the improvement of the safety profile of antipsychotic treatments. *Translational Psychiatry*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0511-9>
- Arredondo, A., Díaz-Castro, L., Cabello-Rangel, H., Arredondo, P., Recaman, A. L., Arredondo, A., Díaz-Castro, L., Cabello-Rangel, H., Arredondo, P., & Recaman, A. L. (2018). Análisis de costos de atención médica para esquizofrenia y depresión en México para el periodo 2005-2013. *Cadernos de Saúde Pública*, 34(1). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00165816>
- Arroyo, M. B., & Garrido-Ocaña, J. M. (2012). Síntomas y formas clínicas. En M. Roca-Bennasar, *Trastornos Psicóticos* (1era ed., pp. 127–139). ArsMedico.
- Baca-Baldero, E. (2010). Lo psicótico. Historia Conceptual de la psicosis. En M. Roca-Bennasar, *Trastornos Psicóticos* (1era ed., pp. 3–22). ArsMedico.
- Basile, V. S., Ozdemir, V., Masellis, M., Walker, M. L., Meltzer, H. Y., Lieberman, J. A., Potkin, S. G., Alva, G., Kalow, W., Macciardi, F. M., & Kennedy, J. L. (2000). A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: Association with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 5(4), 410–417. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000736>
- Bolla, E., Bortolaso, P., Ferrari, M., Poloni, N., Callegari, C., Marino, F., Lecchini, S., Vender, S., & Cosentino, M. (2011). Are CYP1A2*1F and *1C associated with clozapine tolerability? A preliminary investigation. *Psychiatry Research*, 189(3), 483. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.03.011>
- Bonifaz-Peña, V., Contreras, A. V., Struchiner, C. J., Roela, R. A., Furuya-Mazzotti, T. K., Chammas, R., Rangel-Escareño, C., Uribe-Figueroa, L., Gómez-Vázquez, M. J., McLeod, H. L., Hidalgo-Miranda, A., Parra, E. J., Fernández-López, J. C., & Suarez-Kurtz, G. (2014). Exploring the distribution of genetic markers of pharmacogenomics relevance in Brazilian and Mexican populations. *PloS One*, 9(11), e112640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112640>
- Bora, E., Yucel, M., & Pantelis, C. (2009). Cognitive functioning in schizophrenia, schizoaffective disorder and affective psychoses: Meta-analytic study. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 195(6), 475–482. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.108.055731>

- Bray, N. J., Leweke, F. M., Kapur, S., & Meyer-Lindenberg, A. (2010). The neurobiology of schizophrenia: New leads and avenues for treatment. *Current Opinion in Neurobiology*, 20(6), 810–815. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.09.008>
- Brigatti, K. W., Deutsch, E. C., Lynch, D. R., & Farmer, J. M. (2012). Novel Diagnostic Paradigms for Friedreich Ataxia. *Journal of child neurology*, 27(9), 1146–1151. <https://doi.org/10.1177/0883073812448440>
- Cañamares, J. M., Castejón, M. A., Florit, A., González, J., Hernández, J. A., & Rodríguez, A. (2001). *Esquizofrenia* (1era ed.). Síntesis.
- Cendrós, M., Arranz, M., Torra, M., Penadés, R., Gonzalez-Rodriguez, A., Brunet, M., Pérez-Blanco, J., Ibanez, L., Serra, A., Catalán, R., & Yu, J. (2020). *The influence of CYP enzymes and ABCB1 on treatment outcomes in schizophrenia: Association of CYP1A2 activity with adverse effects*. <https://doi.org/10.20517/jtgg.2020.21>
- Chan, C. C., Shanahan, M., Ospina, L. H., Larsen, E. M., & Burdick, K. E. (2019). Premorbid adjustment trajectories in schizophrenia and bipolar disorder: A transdiagnostic cluster analysis. *Psychiatry Research*, 272, 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.12.169>
- Chau, D. T., Khokhar, J. Y., Dawson, R., Ahmed, J., Xie, H., & Green, A. I. (2013). The comparative effects of clozapine versus haloperidol on initiation and maintenance of alcohol drinking in male alcohol-preferring P rat. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 47(8), 611–618. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.10.002>
- Cheng, C., Mithoowani, F., Ungar, T., & Lee, M. (2018). Interaction between Psychotropic Medications and Alcohol: Perceptions among Patients Attending an Adult Mental Health Day Hospital Program. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, 71(1), 7–13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5842058/>
- Costa-Dookhan, K. A., Agarwal, S. M., Chintoh, A., Tran, V. N., Stogios, N., Ebdrup, B. H., Sockalingam, S., Rajji, T. K., Remington, G. J., Siskind, D., & Hahn, M. K. (2020). The clozapine to norclozapine ratio: A narrative review of the clinical utility to minimize metabolic risk and enhance clozapine efficacy. *Expert Opin Drug Saf*, 43–57. <https://dx.doi.org/10.1080/14740338.2020.1698545>
- Couchman, L., Morgan, P. E., Spencer, E. P., & Flanagan, R. J. (2010). Plasma Clozapine, Norclozapine, and the Clozapine:Norclozapine Ratio in Relation to Prescribed Dose and Other Factors: Data From a Therapeutic Drug Monitoring Service, 1993–2007. *Therapeutic Drug Monitoring*, 32(4), 438–447. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3181dad1fb>
- de Andrés, F., Sosa-Macías, M., Ramos, B. P. L., Naranjo, M.-E. G., & LLerena, A. (2017). CYP450 Genotype/Phenotype Concordance in Mexican Amerindian Indigenous Populations-Where to from Here for Global Precision Medicine? *Omic: A Journal of Integrative Biology*, 21(9), 509–519. <https://doi.org/10.1089/omi.2017.0101>
- De Fazio, P., Gaetano, R., Caroleo, M., Cerminara, G., Maida, F., Bruno, A., Muscatello, M. R., Moreno, M. J. J., Russo, E., & Segura-García, C. (2015). Rare and very rare adverse effects of clozapine. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 1995–2003. <https://doi.org/10.2147/NDT.S83989>
- Dean, L. (2012). Clozapine Therapy and CYP2D6, CYP1A2, and CYP3A4 Genotypes. En V. M. Pratt, S. A. Scott, M. Pirmohamed, B. Esquivel, M. S. Kane, B. L. Kattman, & A. J. Malheiro (Eds.), *Medical Genetics Summaries*. National Center for Biotechnology Information (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK367795/>
- Djordjevic, N., Ghotbi, R., Jankovic, S., & Aklillu, E. (2010). Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>A polymorphism. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66(7), 697–703. <https://doi.org/10.1007/s00228-010-0823-4>

- Drake, R. E., Xie, H., McHugo, G. J., & Green, A. I. (2000). The effects of clozapine on alcohol and drug use disorders among patients with schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, *26*(2), 441–449. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.schbul.a033464>
- Dziedzicka-Wasylewska, M., Faron-Gorecka, A., Górecki, A., & Kuśemider, M. (2008). *Mechanism of action of clozapine in the context of dopamine D1-D2 receptor heterodimerization—A working hypothesis* (Vol. 60).
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A.-G. (2009). Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods*, *41*(4), 1149–1160. <https://doi.org/10.3758/BRM.41.4.1149>
- FDA. (2020). Table of Pharmacogenetic Associations. *FDA*. <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>
- Ferrari, M., Bolla, E., Bortolaso, P., Callegari, C., Poloni, N., Lecchini, S., Vender, S., Marino, F., & Cosentino, M. (2012). Association between CYP1A2 polymorphisms and clozapine-induced adverse reactions in patients with schizophrenia. *Psychiatry Research*, *200*(2), 1014–1017. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.07.002>
- Fletcher, P. C., & Frith, C. D. (2009). Perceiving is believing: A Bayesian approach to explaining the positive symptoms of schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(1), 48–58. <https://doi.org/10.1038/nrn2536>
- Flockhart, D. A., Skaar, T., Berlin, D. S., Klein, T. E., & Nguyen, A. T. (2009). Clinically available pharmacogenomics tests. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *86*(1), 109–113. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.39>
- Gonzalez-Covarrubias, V., Martínez-Magaña, J. J., Coronado-Sosa, R., Villegas-Torres, B., Genis-Mendoza, A. D., Canales-Herrerias, P., Nicolini, H., & Soberón, X. (2016). Exploring Variation in Known Pharmacogenetic Variants and its Association with Drug Response in Different Mexican Populations. *Pharmaceutical Research*, *33*(11), 2644–2652. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1990-5>
- González-Esquivel, D. F., Castro, N., Ramírez-Bermúdez, J., Custodio, V., Rojas-Tomé, S., Castro-Román, R., & Jung-Cook, H. (2011). Plasma levels of clozapine and norclozapine in Mexican schizophrenia patients. *Arzneimittelforschung*, *61*(06), 335–339. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296207>
- Green, A. I., Chau, D. T., Keung, W. M., Dawson, R., Meshulam, R. I., & Schildkraut, J. J. (2004). Clozapine reduces alcohol drinking in Syrian golden hamsters. *Psychiatry Research*, *128*(1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2004.05.005>
- Ingman, K., & Korpi, E. R. (2006). Alcohol drinking of alcohol-preferring AA rats is differentially affected by clozapine and olanzapine. *European Journal of Pharmacology*, *534*(1–3), 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.01.024>
- Instituto Mexicano del Seguro Social, U. de A. M. (2015). *Intervenciones de enfermería para la atención de adultos con esquizofrenia paranoide*. Instituto Mexicano del Seguro Social.
- Khokhar, J. Y., Chau, D. T., Dawson, R., & Green, A. I. (2015). Clozapine reconstructed: Haloperidol's ability to reduce alcohol intake in the Syrian golden hamster can be enhanced through noradrenergic modulation by desipramine and idazoxan. *Drug and Alcohol Dependence*, *152*, 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.04.003>
- Kohlrausch, F. B., Severino-Gama, C., Lobato, M. I., Belmonte-de-Abreu, P., Carracedo, Á., & Hutz, M. H. (2013). The CYP1A2 –163C>A polymorphism is associated with clozapine-induced generalized tonic-clonic seizures in Brazilian schizophrenia patients. *Psychiatry Research*, *209*(2), 242–245. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.02.030>
- Kootstra-Ros, J. E., Smallegoor, W., & van der Weide, J. (2005). The cytochrome P450 CYP1A2 genetic polymorphisms *1F and *1D do not affect clozapine clearance in a group of

- schizophrenic patients. *Annals of Clinical Biochemistry*, 42(Pt 3), 216–219. <https://doi.org/10.1258/0004563053857798>
- Laika, B., Leucht, S., Heres, S., Schneider, H., & Steimer, W. (2010). Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. *The Pharmacogenomics Journal*, 10(1), 20–29. <https://doi.org/10.1038/tpj.2009.32>
- Lee, S.-T., Ryu, S., Kim, S.-R., Kim, M.-J., Kim, S., Kim, J.-W., Lee, S.-Y., & Hong, K. S. (2012). Association study of 27 annotated genes for clozapine pharmacogenetics: Validation of preexisting studies and identification of a new candidate gene, ABCB1, for treatment response. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 32(4), 441–448. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e31825ac35c>
- Lesche, D., Mostafa, S., Everall, I., Pantelis, C., & Bousman, C. A. (2020). Impact of CYP1A2, CYP2C19, and CYP2D6 genotype- and phenoconversion-predicted enzyme activity on clozapine exposure and symptom severity. *The Pharmacogenomics Journal*, 20(2), 192–201. <https://doi.org/10.1038/s41397-019-0108-y>
- Lichtenstein, P., Yip, B. H., Björk, C., Pawitan, Y., Cannon, T. D., Sullivan, P. F., & Hultman, C. M. (2009). Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: A population-based study. *Lancet (London, England)*, 373(9659), 234–239. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60072-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60072-6)
- Lindemayer, J., & Khan, A. (2012). Psychopathology. En J. A. Lieberman, T. S. Stroup, & D. O. Perkins, *Essentials of Schizophrenia* (1era ed., pp. 11–56). American Psychiatric Publishing.
- Lingjaerde, O., Ahlfors, U. G., Bech, P., Dencker, S. J., & Elgen, K. (1987). The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatrica Scandinavica Supplementum*, 334, 1–100. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1987.tb10566.x>
- López-López, M., Guerrero-Camacho, J., Familiar-López, I. M., Jung-Cook, H., Corona-Vázquez, T., & Alonso-Vilatela, M. E. (2004). Farmacogenómica: Búsqueda de la terapia personalizada. *Revista De Neurología*, 39(11), 1063–1071. <http://www.neurologia.com/articulo/2004276>
- Medina-Mora, M. E., Borges, G., Benjet, C., Lara, C., & Berglund, P. (2007). Psychiatric disorders in Mexico: Lifetime prevalence in a nationally representative sample. *The British Journal of Psychiatry*, 190(6), 521–528. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.106.025841>
- Melkersson, K. I., Scordo, M. G., Gunes, A., & Dahl, M.-L. (2007). Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 68(5), 697–704. <https://doi.org/10.4088/jcp.v68n0506>
- Mostafa, S., Kirkpatrick, C. M. J., Byron, K., & Sheffield, L. (2019). An analysis of allele, genotype and phenotype frequencies, actionable pharmacogenomic (PGx) variants and phenoconversion in 5408 Australian patients genotyped for CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and VKORC1 genes. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 126(1), 5–18. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1922-0>
- Musliner, K. L., Mortensen, P. B., McGrath, J. J., Suppli, N. P., Hougaard, D. M., Bybjerg-Grauholm, J., Bækvad-Hansen, M., Andreassen, O., Pedersen, C. B., Pedersen, M. G., Mors, O., Nordentoft, M., Børglum, A. D., Werge, T., Agerbo, E., & Bipolar Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2019). Association of Polygenic Liabilities for Major Depression, Bipolar Disorder, and Schizophrenia With Risk for Depression in the

- Danish Population. *JAMA Psychiatry*, 76(5), 516–525. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.4166>
- Na Takuathung, M., Hanprasertpong, N., Teekachunhatean, S., & Koonrungsesomboon, N. (2019). Impact of CYP1A2 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of antipsychotic drugs: A systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 139(1), 15–25. <https://doi.org/10.1111/acps.12947>
- Nakajima, M., Yokoi, T., Mizutani, M., Kinoshita, M., Funayama, M., & Kamataki, T. (1999). Genetic Polymorphism in the 5'-Flanking Region of Human CYP1A2 Gene: Effect on the CYP1A2 Inducibility in Humans. *The Journal of Biochemistry*, 125(4), 803–808. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022352>
- National Center for Biotechnology Information. (2021). *PubChem Compound Summary for CID 135398737, Clozapine*. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clozapine>
- National Collaborating Center for Mental Health. (2010). *Schizophrenia: Core interventions in the treatment and management of schizophrenia in adults in primary and secondary care (updated edition)* (1era ed.). The British Psychological Society.
- Nucifora, F. C., Mihaljevic, M., Lee, B. J., & Sawa, A. (2017). Clozapine as a Model for Antipsychotic Development. *Neurotherapeutics*, 14(3), 750–761. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0552-9>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Esquizofrenia*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>
- Ortega-Vázquez, A., Mayen-Lobo, Y. G., Dávila-Ortiz de Montellano, D. J., Tristán-López, L., Aviña-Cervantes, C. L., Ríos, C., López-López, M., & Monroy-Jaramillo, N. (2020). Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis. *Drug Development Research*. <https://doi.org/10.1002/ddr.21774>
- Pavanello, S., Mastrangelo, G., Placidi, D., Campagna, M., Pulliero, A., Carta, A., Arici, C., & Porru, S. (2010). CYP1A2 polymorphisms, occupational and environmental exposures and risk of bladder cancer. *European Journal of Epidemiology*, 25(7), 491–500. <https://doi.org/10.1007/s10654-010-9479-8>
- Pouget, J. G., Shams, T. A., Tiwari, A. K., & Müller, D. J. (2014). Pharmacogenetics and outcome with antipsychotic drugs. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 16(4), 555–566. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4336924/>
- Preskorn, S. H., Kane, C. P., Lobello, K., Nichols, A. I., Fayyad, R., Buckley, G., Focht, K., & Guico-Pabia, C. J. (2013). Cytochrome P450 2D6 phenocopy is common in patients being treated for depression: Implications for personalized medicine. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 74(6), 614–621. <https://doi.org/10.4088/JCP.12m07807>
- Price, S. A., & Brahm, N. C. (2011). Antipsychotic treatment of adolescent dual diagnosis patients. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics: JPPT: The Official Journal of PPAG*, 16(4), 226–236. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-16.4.226>
- Rostami-Hodjegan, A., Amin, A. M., Spencer, E. P., Lennard, M. S., Tucker, G. T., & Flanagan, R. J. (2004). Influence of Dose, Cigarette Smoking, Age, Sex, and Metabolic Activity on Plasma Clozapine Concentrations: A Predictive Model and Nomograms to Aid Clozapine Dose Adjustment and to Assess Compliance in Individual Patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 24(1), 70–78. <https://doi.org/10.1097/01.jcp.0000106221.36344.4d>
- Sangüesa, E., Cirujeda, C., Concha, J., Padilla, P. P., Ribate, M. P., & García, C. B. (2019). Implementation of pharmacogenetics in a clozapine treatment resistant patient: A case report. *Pharmacogenomics*, 20(12), 871–877. <https://doi.org/10.2217/pgs-2019-0074>
- Schulze, T. G., Akula, N., Breuer, R., Steele, J., Nalls, M. A., Singleton, A. B., Degenhardt, F. A., Nöthen, M. M., Cichon, S., Rietschel, M., Study, T. B. G., & McMahon, F. J. (2014).

- Molecular genetic overlap in bipolar disorder, schizophrenia, and major depressive disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 15(3), 200–208. <https://doi.org/10.3109/15622975.2012.662282>
- Scott, S. A. (2011). Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics. *Genetics in Medicine*, 13(12), 987–995. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e318238b38c>
- Seeman, P. (2002). Atypical antipsychotics: Mechanism of action. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne De Psychiatrie*, 47(1), 27–38.
- Shah, R. R., & Smith, R. L. (2015). Inflammation-induced phenoconversion of polymorphic drug metabolizing enzymes: Hypothesis with implications for personalized medicine. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 43(3), 400–410. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.061093>
- Solmi, M., Murru, A., Pacchiarotti, I., Undurraga, J., Veronese, N., Fornaro, M., Stubbs, B., Monaco, F., Vieta, E., Seeman, M. V., Correll, C. U., & Carvalho, A. F. (2017). Safety, tolerability, and risks associated with first- and second-generation antipsychotics: A state-of-the-art clinical review. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 13, 757–777. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S117321>
- Spina, E., Avenoso, A., Facciola, G., Scordo, M. G., Ancione, M., Madia, A. G., Ventimiglia, A., & Perucca, E. (2000). Relationship between plasma concentrations of clozapine and norclozapine and therapeutic response in patients with schizophrenia resistant to conventional neuroleptics. *Psychopharmacology*, 148(1), 83–89. <https://doi.org/10.1007/s002130050028>
- Srirenakumar, V., Huang, E., & Müller, D. J. (2015). Pharmacogenetics of clozapine treatment response and side-effects in schizophrenia: An update. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 11(11), 1709–1731. <https://doi.org/10.1517/17425255.2015.1075003>
- Stroup, T. S., Graus, J. E., & Marder, S. R. (2010). Farmacoterapias. En J. A. Lieberman, T. S. Stroup, & D. O. Perkins, *Tratado de esquizofrenia* (1era ed., pp. 301–323). ArsMedico.
- Stroup, T. S., Marder, S. R., & Lieberman, J. A. (2012). Pharmacotherapies. En J. A. Lieberman, T. S. Stroup, & D. O. Perkins, *Essentials of schizophrenia* (1era ed., pp. 173–206). American Psychiatric Publishing.
- Szalai, R., Magyari, L., Matyas, P., Duga, B., Banfai, Z., Szabo, A., Kovsdi, E., & Melegh, B. (2014). Genetic polymorphisms in promoter and intronic regions of CYP1A2 gene in Roma and Hungarian population samples. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 814–820. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.09.012>
- Thara, R., Taj, M., & Tirupati, S. (2017). Specific Mental Health Disorders: Psychotic Disorders. En *International Encyclopedia of Public Health* (2da ed., pp. 60–68). ELSEVIER.
- The National Council. (2020). *Resources*. Value-Based Care for Behavioral Health. <https://www.thenationalcouncil.org/value-based-care/>
- Thorn, C. F., Aklillu, E., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012). PharmGKB summary: Very important pharmacogene information for CYP1A2. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(1), 73–77. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834c6efd>
- Tiwari, A. K., Deshpande, S. N., Rao, A. R., Bhatia, T., Mukit, S. R., Shriharsh, V., Lerer, B., Nimagaonkar, V. L., & Thelma, B. K. (2005). Genetic susceptibility to tardive dyskinesia in chronic schizophrenia subjects: I. Association of CYP1A2 gene polymorphism. *The Pharmacogenomics Journal*, 5(1), 60–69. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500282>
- Tóth, K., Csukly, G., Sirok, D., Belic, A., Kiss, Á., Háfra, E., Déri, M., Menus, Á., Bitter, I., & Monostory, K. (2017). Potential Role of Patients' CYP3A-Status in Clozapine Pharmacokinetics. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(7), 529–537. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx019>

- Üçok, A., & Gaebel, W. (2008). Side effects of atypical antipsychotics: A brief overview. *World Psychiatry*, 7(1), 58–62. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2327229/>
- Vaquero-Baez, M., Díaz-Ruíz, A., Tristán-López, L., Aviña-Cervantes, C., Torner, C., Ramírez-Bermúdez, J., Montes, S., & Ríos, C. (2019). Clozapine and desmethylclozapine: Correlation with neutrophils and leucocytes counting in Mexican patients with schizophrenia. *BMC Psychiatry*, 19(1), 295. <https://doi.org/10.1186/s12888-019-2286-1>
- Vieta, E., Torrent, C., Goikolea, J. M., & Murru, A. (2014). Nuevos Tratamientos: Antipsicóticos atípicos. En E. Vieta & I. Pacchiarotti, *Novedades en el Tratamiento del Trastorno Bipolar* (3era ed., pp. 11–38). Medica Panamericana.
- Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2012). Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 92(4), 414–417. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.96>
- Zhang, J.-P., & Malhotra, A. K. (2011). Pharmacogenetics and antipsychotics: Therapeutic efficacy and side effects prediction. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7(1), 9–37. <https://doi.org/10.1517/17425255.2011.532787>

11. Anexos

11.1. Anexo I. Carta de consentimiento informado



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA
 MANUEL VELASCO SUÁREZ
 LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

CONSENTIMIENTO INFORMADO: "IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA Y SU ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA CLÍNICA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS"

NOMBRE DEL PACIENTE		FECHA		HORA	
REGISTRO		FECHA EN LA QUE SE REALIZARÁ EL PROCEDIMIENTO			
NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL					

Yo _____, en pleno uso de mis facultades mentales y en mi calidad de paciente, o representante legal de éste:

DECLARO EN FORMA LIBRE Y VOLUNTARIA LO SIGUIENTE:

- ✓ He sido invitado/a para participar voluntariamente en el protocolo de investigación: "Impacto de la variabilidad genética individual en la farmacocinética de clozapina y su asociación con la respuesta clínica en pacientes con trastornos psicóticos".
- ✓ He sido informado/a que padezco o algún familiar padece (Marque una de las siguientes opciones):
 ESQUIZOFRENIA _____ TRASTORNO ESQUIZOAFECTIVO _____
 TRASTORNO BIPOLAR _____ PSICOSIS INTERICTAL _____
- ✓ He sido informado/a que los trastornos psicóticos (arriba mencionados) son padecimientos psiquiátricos crónicos que puede presentar reactividad emocional alterada, conducta desorganizada y alteraciones cognitivas con respuesta variable al tratamiento y remisión parcial. Actualmente no se conocen los mecanismos que determinan la aparición de estas enfermedades; sin embargo se sabe que los factores genéticos pueden contribuir a la respuesta al tratamiento y a las reacciones adversas asociadas a éste.
- ✓ He sido informado/a que el objetivo general de este estudio es evaluar la asociación entre el perfil genético, las concentraciones plasmáticas del antipsicótico clozapina, junto con la respuesta terapéutica (eficacia, ineficacia y reacciones adversas) en pacientes mestizo mexicanos con diagnóstico clínico de esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar y psicosis interictal). Adicionalmente, se comparará el perfil genético de pacientes con controles sanos. Los resultados de este protocolo de investigación nos permitirán identificar factores asociados a la respuesta terapéutica y factores de riesgo para el desarrollo de reacciones adversas asociadas al tratamiento con clozapina.
- ✓ He sido informado/a que para participar en este estudio, en primera instancia se me realizará una historia clínica completa, la cual incluye la elaboración de árbol genealógico, con la finalidad de identificar a otros familiares que posiblemente estén afectados, acto seguido se me tomará una muestra de sangre periférica de la cual se extraerá el material genético (DNA) y se estudiarán diferentes variantes genéticas asociadas con la farmacocinética de la clozapina.



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ
LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

CONSENTIMIENTO INFORMADO: "IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA Y SU ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA CLÍNICA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS"

- ✓ He sido informado/a que cuando se realiza la toma de muestra de sangre, podré experimentar un leve dolor en el sitio de punción. Raras veces ocurren infecciones o inflamación local.
- ✓ He sido informado/a que mi información clínica recopilada es confidencial. El nombre de los participantes está codificado y nunca aparecerá en ningún reporte o publicación.
- ✓ He sido informado/a que mi participación en este estudio no tendrá ningún costo ni recibiré remuneración económica alguna.
- ✓ He sido informado/a que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento. Entiendo que recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.
- ✓ He sido informado/a que mi tratamiento y la actitud de los doctores hacia mí no se verán afectados en el caso de decidir que no deseo formar parte de este estudio. La negativa a participar no afectará cualquier beneficio para el cual yo de otra forma tenga derecho. También podré retirarme una vez enrolado/a durante el estudio si es que así lo deseo, con las mismas implicaciones mencionadas previamente.
- ✓ He sido informado/a que este estudio es a largo plazo (3 años) y requiere de la participación de un gran número de pacientes con estas enfermedades. Una vez terminado el estudio, sólo si los resultados son de relevancia para mí, se me contactará para comunicármelos y explicármelos.
- ✓ He sido informado/a que mi DNA puede ser usado para esta investigación y otras en las que se están analizando genes de la población mexicana, por tanto acepto que mi muestra sea usada en otros proyectos: SI NO
- ✓ He sido informado/a que si me surgen dudas puedo contactar a la Dra. Alejandra Camacho Molina, al Dr. David J. Dávila Ortiz de Montellano o la Dra. Nancy Monroy Jaramillo del departamento de Neurogenética y Biología Molecular, las puedo localizar en el Tel. (55) 56 06 38 22 Exts. 1071, 2018 y 3041. También puedo comunicarme al Comité de Ética en Investigación, a la ext. 5027.
- ✓ Después de haber leído cuidadosamente este documento acepto **VOLUNTARIAMENTE** participar en el presente estudio.

Domicilio: _____

Teléfono: _____

Correo electrónico: _____



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIROGIA
MANUEL VELASCO SUÁREZ
LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

CONSENTIMIENTO INFORMADO: "IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINÉTICA DE CLOZAPINA Y SU ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA CLÍNICA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS"

NOMBRE, FIRMA Y CEDULA DEL MEDICO	NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE O REPRESENTANTE LEGAL
NOMBRE Y FIRMA TESTIGO	NOMBRE Y FIRMA TESTIGO

11.2. Anexo II. Cuestionario de consulta genética y RAM

Departamento de Genética y Biología Molecular

“IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENETICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINETICA DE LA CLOZAPINA Y SU ASOCIACION CON RESPUESTA CLINICA EN PX CON TP”

NOMBRE Registro

Fecha D M A F. Nacimiento D M A Edad Sexo M F

Consanguinidad S N Edad de inicio

Lugar de nacimiento

Domicilio

Teléfono Correo Electrónico

Escolaridad Ocupación previa

Antecedentes Familiares Ocupación Actual

Estado Civil Red Social

Origen Familiar

Abuelo Paterno Abuelo Materno

Abuela Paterna Abuela Materna

ANTECEDENTES

Tabaco	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Alcohol	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Café	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Cannabis	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Inhalantes	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Cocaína	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
"Tachas"	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Cristal	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Cantidad	<input type="text"/>
Sedentarismo	<input type="text"/>				
Hipertensión Arterial	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
Diabetes Mellitus	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Tx / Glucosa	<input type="text"/>
Hipercolesterolemia	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Tx / Col tot	<input type="text"/>
Hiperlipidemia	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Tx / Lidios	<input type="text"/>
Cardiopatía	<input type="text"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>

congénita Tipo

Otros

<input type="text"/>	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	Tratamiento	<input type="text"/>

“IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENETICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINETICA DE LA CLOZAPINA Y SU ASOCIACION CON RESPUESTA CLINICA EN PX CON TP”

DIAGNOSTICO

DIAGNÓSTICO PSIQUIÁTRICO POR EJE

EJE I EJE III EJE V
 EJE II EJE IV OTROS

I SÍNTOMAS POSITIVOS		Si	No	SINTOMAS NEGATIVOS		Si	No
Alucinaciones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Falta de Interés	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Delirios	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Falta de iniciativa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pensamiento desorganizado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Retraimiento Social	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agitación	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depresión	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
				Apatía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
				Falta de respuesta emocional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Edad de inicio de los síntomas

Tiempo de duracion de los síntomas

ESTUDIO NEUROPSICOLÓGICO: FRECHA

D M A

IQ

NEUROIMAGEN

D M A

Peso

Talla

“IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENETICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINETICA DE LA CLOZAPINA Y SU ASOCIACION CON RESPUESTA CLINICA EN PX CON TP”

Dismorfias asociadas

Características Clínicas	Presente	Ausente	Característica	Presente	Ausente
Microcefalia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Oftalmopatía (especificar)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Facies alargada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Talla baja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Retrognatía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Manos y dedos largos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Asimetría facial (estructural o funcional)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cardiopatía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PH o PHS/ voz nasal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Hipoacusia condu/NS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Puente nasal prominente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pabellones displásicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nariz bulbosa o bífida	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Hipotonía generalizada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipoplasia esmalte	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ataxia cerebelar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agenesia o hipoplasia dental	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Manos y pies pequeños	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Comisura bucal hacia abajo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Artritis Reumatoide Juvenil	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipoplasia malar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ANTECEDENTES FAMILIARES

ENFERMEDAD	SÍ	NO	FAMILIAR AFECTADO
EMBOLIA CEREBRAL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
COLESTEROL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
DIABETES	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
PARKINSON	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
PERDIDA DE MEMORIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
EPILEPSIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
CÁNCER	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
ENFERMEDAD PSIQUIÁTRICA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
Tipo de cáncer:	<input type="text"/>		

GENEALOGÍA

“IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENETICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINETICA DE LA CLOZAPINA Y SU ASOCIACION CON RESPUESTA CLINICA EN PX CON TP”

Efectos adversos Generales:

	Si	No
Fatiga o cansancio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Somnolencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sedación	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sensación de atontamiento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Impotencia o bajo deseo sexual	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Salivación +++	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Taquicardia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipotensión ortostática/postural	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sedación	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enuresis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Xerostomía/ sequedad de boca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Efectos adversos Neurológicos:

Mareo o vértigo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Visión doble o borrosa o nistagmus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dificultad para concentración	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Confusión	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Inestabilidad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diplopía +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lentitud de pensamiento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cefalea +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Falla en la memoria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Efectos adversos Sistémicos:

Retención hídrica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Daño hepático o falla hepática	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Miocarditis*	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*RAM letales; +, síntoma poco frecuente; +++ , síntoma muy frecuente.

Efectos adversos Gastrointestinales:

	Si	No
Estreñimiento +++	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dolor abdominal o gastritis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Efectos adversos Cutáneos:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alergia (<i>rash</i> leve)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Efectos adversos metabólicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aumento de peso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dislipidemia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diabetes tipo II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Obesidad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Presión arterial alta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Niveles elevados de glucosa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Resistencia a la insulina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dificultad para caminar (ataxia)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parestesias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Problemas para hablar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Síndrome neuroléptico maligno +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Depresión o tristeza +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Convulsiones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Síntomas obsesivos compulsivos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diaforesis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alteraciones visuales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Efectos adversos, Alteraciones Analíticas:

Anemia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eosinofilia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neutropenia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agranulocitosis*	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipogluceemia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leucopenia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Observaciones

“IMPACTO DE LA VARIABILIDAD GENETICA INDIVIDUAL EN LA FARMACOCINETICA DE LA CLOZAPINA Y SU ASOCIACION CON RESPUESTA CLINICA EN PX CON TP”

TRATAMIENTO ACTUAL			APEGO
FARMACO ANTIPSICO	DOSIS (mg/d)	FX SECUNDARIOS	SI NO
1. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

TRATAMIENTO ACTUAL			APEGO
FARMACO ANSIOLITICO	DOSIS (mg/d)	FX SECUNDARIOS	SI NO
1. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

TRATAMIENTO ACTUAL			APEGO
FARMACO ANTIDEPRESIVO	DOSIS (mg/d)	FX SECUNDARIOS	SI NO
1. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

TRATAMIENTO ACTUAL			APEGO
FARMACO ANTICOLINERGICO	DOSIS (mg/d)	FX SECUNDARIOS	SI NO
1. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

TRATAMIENTO ACTUAL			APEGO
FARMACO ANTICOMISIAL	DOSIS (mg/d)	FX SECUNDARIOS	SI NO
1. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5. <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

	Si	No	
TERAPIA ELECTROCONVULSIVA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	SESIONES TOTALES <input type="text"/>
RESPUESTA FAVORABLE	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
RESPUESTA NO FAVORABLE	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
SIN RESPUESTA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

11.3. Anexo III. Resumen y constancia del 6to. Simposio Iberoamericano en farmacia social “Dra. Marina Altagracia Martínez” Farmacia comunitaria: necesidades y perspectivas en México

Influencia de las variantes genéticas en CYP1A2 y CYP2D6 en el metabolismo de clozapina en pacientes con trastornos psicóticos

Eje temático (FGX)

Expositor: Mayén Lobo Yerye Gibrán^{1,4,5}, Responsable: López López Marisol⁴. Dávila Ortiz de Montellano David J.¹, Tristán López Luis Antonio², Aviña Cervantes Carlos L.³, Motilla Frías Blanca Alejandra¹, Ortega Vázquez Alberto⁴, Ríos Castañeda Luis Camilo², Monroy Jaramillo Nancy¹.

Departamentos de ¹Neurogenética, ²Neuroquímica y ³Neuropsiquiatría del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suarez” (INNNMVS). ⁴Dpto. de Sistemas Biológicos y ⁵Maestría en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.
marisollopezlopez@gmail.com

1.Introducción

El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, quinta edición (DSM-5) considera a la esquizofrenia (ESQ) y al trastorno esquizoafectivo (TEA) como parte de los trastornos psicóticos (TP). Los TP se caracterizan por delirios, alucinaciones, pensamiento desorganizado, aislamiento social y manifestaciones catatónicas. El trastorno bipolar (TBP) está catalogado como un puente entre el espectro esquizofrénico y la depresión. El manejo clínico de la ESQ y el TEA incluye tratamiento psicológico y farmacológico con antipsicóticos (AP). En el TBP se ha demostrado que los AP son efectivos en el tratamiento de los episodios maníacos. La clozapina (CLZ) es uno de los fármacos más eficaces para los pacientes con TP resistentes al tratamiento. Sin embargo, su uso se ha limitado debido a efectos secundarios como la desregulación metabólica y el riesgo de agranulocitosis en 1% de los pacientes. La farmacogenética es una herramienta que permite la predicción de la respuesta al tratamiento farmacológico y el riesgo de efectos adversos. En este contexto es importante el estudio de variantes en genes codificantes para enzimas metabolizadoras de la CLZ, en particular CYP1A2 y CYP2D6 que tienen el mayor impacto en los niveles plasmáticos de CLZ.

2.Objetivos

Evaluar el impacto de las variantes en CYP1A2 y CYP2D6 sobre los niveles plasmáticos de CLZ en pacientes mestizos mexicanos con TP del INNNMVS.

3 Metodología

Siguiendo los requerimientos éticos se incluyeron 48 pacientes del INNNMVS con diagnóstico de ESQ, TAE o TBP a participar en el protocolo aprobado 140/17. A partir de muestra de sangre periférica se analizó la concentración plasmática de CLZ mediante cromatografía

líquida de alta resolución (HPLC), y se extrajo ADN para el análisis de las variantes genéticas propuestas. Las variantes de CYP1A2 y CYP2D6 se analizaron mediante qPCR con sondas alelo específicas tipo TaqMan®. Las concentraciones de CLZ fueron ajustadas por dosis/peso, y analizadas por genotipo con la prueba de Kruskal-Wallis en R.

4.Resultados

En la Tabla 1 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes analizadas, las concentraciones plasmáticas netas y corregidas de CLZ, así como el valor p de la prueba Kruskal-Wallis. Las medias de las concentraciones plasmáticas de CLZ corregidas por dosis/peso no mostraron diferencias significativas entre los genotipos de cada una de las variantes analizadas.

Tabla 1. Genotipos y frecuencias alélicas de variantes en CYP1A2 y CYP2D6, concentraciones plasmáticas promedio (±desviación estándar) netas y corregidas de CLZ, y valor p de prueba Kruskal-Wallis.						
Gen	Variante genética	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica	Concentración plasmática promedio de CLZ (µg/mL)	Concentración de CLZ corregida por dosis/peso (µg/mL)/(mg/kg)	Valor p prueba Kruskal-Wallis
CYP1A2	*1F/ c.-163C>A	C=0.729	CC=0.563	141.234±184.298	59.778±50.671	0.410
		CA=0.333	CA=0.104	192.804±198.242	68.705±39.862	
		A=0.271	AA=0.104	113.318±95.447	56.608±46.951	
	*1C/ c.-3860G>A	G=0.635	GG=0.438	148.744±176.110	54.248±35.046	0.697
		GA=0.396	GA=0.167	146.481±132.957	61.482±42.124	
		A=0.365	AA=0.167	194.752±290.905	86.118±73.662	
CYP2D6	*17/ g.1023C>T	C=0.979	CC=0.979	154.308±183.114	62.529±46.712	0.914
		T=0.021	CT=0.000	-----	-----	
		TT=0.021	TT=0.021	212.287±0	57.459±0	
	*10/ g.100C>T	C=0.771	CC=0.729	165.660±204.338	64.088±47.863	0.285
		CT=0.083	CT=0.083	94.288±30.846	33.496±13.424	
		T=0.229	TT=0.188	143.280±113.616	68.803±47.642	

5.Conclusiones

Los resultados obtenidos no proporcionan datos concluyentes sobre el impacto que pueden tener las variantes genéticas en el metabolismo de CLZ. Para futuros análisis se considerarán otras variantes genéticas y alelos de número de copias de CYP2D6, los radios metabólicos y la sinergia que puede existir con otras variables, como el género, consumo de tabaco, etc.



6to Simposio Iberoamericano
en farmacia social

FARMACIA COMUN
NECESIDADES Y PE
EN MÉXICO



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

Otorga la presente constancia a:

Mayén Lobo Yerye Gibrán, López López Marisol, Dávila Ortiz de Montellano David J., Tristán López
Cervantes Carlos L., Motilla Frías Blanca Alejandra, Ortega Vázquez Alberto, Ríos Castañeda L
Jaramillo Nancy

Por su participación como **Expositor** del cartel titulado **Influencia de las Var**
en CYP1A2 y CYP2D6 en el Metabolismo de Clozapina en Pacientes
Psicóticos con en el eje temático **Farmacogenómica**

En el 6to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social, Dra. Marina Altag
Farmacia comunitaria: necesidades y perspectivas en Méxi
Realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xoch
En la Ciudad de México los días 3 y 4 de octubre de 2019.

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas
y de la Salud

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos

Dra. Ka
Coordinad



11.4. Anexo IV. Resumen y constancia de XLIV congreso nacional de genética humana “El impacto de la genética y la genómica en las enfermedades neurológicas y del desarrollo”

IMPACTO DE LAS VARIANTES EN *CYP1A2* Y *CYP2D6* EN EL METABOLISMO DE CLOZAPINA EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS

^{1, 4, 5}Yerye Gibrán Mayén Lobo, ¹David J. Dávila Ortiz de Montellano, ²Luis Antonio Tristán López, ³Carlos L. Aviña Cervantes, ¹Blanca Alejandra Motilla Frías, ⁴Alberto Ortega Vázquez, ²Luis Camilo Ríos Castañeda, ⁴Marisol López López, ¹Nancy Monroy Jaramillo.

Departamentos de ¹Neurogenética, ²Neuroquímica y ³Neuropsiquiatría del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suarez” (INNNMVS). ⁴Dpto. de Sistemas Biológicos y ⁵Maestría en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

veryegibran@hotmail.com, nancy97@unam.mx

2 se muestran los resultados del análisis por la prueba de Kruskal-Wallis.

Introducción: El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, quinta edición (DSM-5) considera a la esquizofrenia (ESQ) y al trastorno esquizoafectivo (TEA) como parte de los trastornos psicóticos (TP). Los TP se caracterizan por delirios, alucinaciones, pensamiento desorganizado, aislamiento social y manifestaciones catatónicas. El trastorno bipolar (TBP) está catalogado como un puente entre el espectro esquizofrénico y la depresión (1). El manejo clínico de la ESQ y el TEA incluye tratamiento psicológico y farmacológico con antipsicóticos (AP). En el TBP se ha demostrado que los AP son efectivos en el tratamiento de los episodios maníacos. La clozapina (CLZ) es uno de los fármacos más eficaces para los pacientes con TP resistentes al tratamiento. Sin embargo, su uso se ha limitado debido a efectos secundarios como la desregulación metabólica y el riesgo de agranulocitosis en 1% de los pacientes (3). La farmacogenética es una herramienta que permite la predicción de la respuesta al tratamiento farmacológico y el riesgo de efectos adversos (4). En este contexto es importante el estudio de variantes en genes codificantes para enzimas metabolizadoras de la CLZ, en particular *CYP1A2* y *CYP2D6* que tienen el mayor impacto en los niveles plasmáticos de CLZ (5).

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de las variantes en *CYP1A2* y *CYP2D6* sobre los niveles plasmáticos de CLZ en pacientes mestizos mexicanos con TP del INNNMVS.

Sujetos y métodos: Siguiendo los requerimientos éticos se incluyeron 48 pacientes del INNNMVS con diagnóstico de ESQ, TAE o TBP a participar en el protocolo aprobado 140/17. A partir de muestra de sangre periférica se analizó la concentración plasmática de CLZ mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), y se extrajo ADN para el análisis de las variantes genéticas propuestas. Las variantes de *CYP1A2* y *CYP2D6* se analizaron mediante qPCR con sondas alelo específicas tipo TaqMan®. Las concentraciones de CLZ fueron ajustadas por dosis/peso, y analizadas por genotipo con la prueba de Kruskal-Wallis en R.

Resultados: En la Tabla 1 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes analizadas. En la Tabla

Gen	Variante genética	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica
<i>CYP1A2</i>	*1F/ c.-163C>A	C=0.729	CC=0.563
		A=0.271	CA=0.333
	*1C/ c.-3860G>A	G=0.635	AA=0.104
		A=0.365	GA=0.438
<i>CYP2D6</i>	*17/ g.1023C>T	C=0.979	CC=0.979
		T=0.021	CT=0.000
		T=0.021	TT=0.021
	*10/ g.100C>T	C=0.771	CC=0.729
		T=0.229	CT=0.083
		T=0.229	TT=0.188

Alelo	Chi ²	Grados de libertad	Valor p
<i>CYP1A2</i> *1F	1.785	2	0.410
<i>CYP1A2</i> *1C	0.721	2	0.697
<i>CYP2D6</i> *17	0.012	1	0.914
<i>CYP2D6</i> *10	2.513	2	0.285

Discusión: Las medias de las concentraciones plasmáticas de CLZ corregidas por dosis/peso no mostraron diferencias significativas entre los genotipos de cada una de las variantes analizadas.

Conclusiones: Los resultados obtenidos no proporcionan datos concluyentes sobre el impacto que pueden tener las variantes genéticas en el metabolismo de CLZ. Para futuros análisis se considerarán otras variantes genéticas y alelos de número de copias de *CYP2D6*, los radios metabólicos y la sinergia que puede existir con otras variables, como el género, consumo de tabaco, etc.

Agradecimiento: A Conacyt por el apoyo a través de la beca Conacyt nacional 2018, y el proyecto No. 233695.

Bibliografía: 1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-5. 5ta ed. Psychiatric Publishing; 2013. 87–122 p.

2. Mould-Quevedo J, et al. 2009. Rev Psiquiatr Salud Ment. 2(3):108–18.

3. Lally J, et . 2016. Pharmgenomics Pers Med. 9:117–29.

4. Srirretnakumar V, et al. 2015. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 11(11):1709–31.

5. Lee S, et al. 2012. J Clin Psychopharmacol. 32(4):441–8.



XLIV CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA HUMANA



Universidad Autónoma de Chiapas
Asociación Mexicana de Genética Humana A.C.
Otorgan la presente:

CONSTANCIA

a

Yerye Gibrán Mayén Lobo

Por haber participado como Instructor con el tema:

IMPACTO DE LAS VARIANTES EN CYP1A2 Y CYP2D6 EN EL METABOLISMO DE CLOZAPINA EN PACIENTES PSICÓTICOS

Por su presentación de **Trabajos Libres en modalidad Cartel**, realizado el 16 de Noviembre de 2016 en el XLIV Congreso Nacional de Genética Humana en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

“POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR”

Dra. Leticia del Carmen Flores Alfaro
Secretaría Académica
Universidad Autónoma de Chiapas

Dra. en C. Dora Gil
Presidente
Asociación Mexicana de Genética Humana

11.5. Anexo V. Artículo: “Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis”

Received: 26 September 2020 | Revised: 24 November 2020 | Accepted: 3 December 2020

DOI: 10.1002/ddr.21774



RESEARCH ARTICLE

DRUG DEVELOPMENT RESEARCH WILEY

Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis

Alberto Ortega-Vázquez¹ | Yerye G. Mayen-Lobo^{1,2} |
David J. Dávila-Ortiz de Montellano³ | Luis Tristán-López⁴ |
Carlos L. Aviña-Cervantes⁵ | Camilo Ríos^{1,2,4} | Marisol López-López¹ |
Nancy Monroy-Jaramillo³

¹Department of Biological Systems, Metropolitan Autonomous University-Xochimilco, Mexico City, Mexico

²Master's Program in Pharmaceutical Sciences, Metropolitan Autonomous University-Xochimilco, Mexico City, Mexico

³Department of Genetics, National Institute of Neurology and Neurosurgery, “Manuel Velasco Suárez”, Mexico City, Mexico

⁴Department of Neurochemistry, National Institute of Neurology and Neurosurgery, “Manuel Velasco Suárez”, Mexico City, Mexico

⁵Department of Psychiatry, National Institute of Neurology and Neurosurgery, “Manuel Velasco Suárez”, Mexico City, Mexico

Correspondence

Nancy Monroy-Jaramillo, Ph.D., Department of Genetics, National Institute of Neurology and Neurosurgery, “Manuel Velasco Suárez”, Ave. Insurgentes Sur 3877, La Fama, Tlalpan, 14269 Mexico City, Mexico.
Email: nancy97@unam.mx

Funding information

CONACyT, Grant/Award Number: 233695

Abstract

Clozapine (CLZ) is an atypical antipsychotic and the gold standard for refractory psychosis treatment. However, there is little information regarding pharmacogenetics of CLZ in patients with refractory psychosis and its clinical correlation with alcohol intake. Although neurological effects of CLZ in patients with concomitant alcohol intake are documented, its use is very common in patients with psychosis. We explored the impact of *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19*, and *CYP3A4* genetic variants on CLZ pharmacokinetics and side effects, along with coffee/alcohol/tobacco consumption habits and clinical data of 48 adult patients with refractory psychosis on CLZ antipsychotic monotherapy. Relevant *CYP* variants in CLZ metabolism were evaluated by targeted genotyping and multiplex ligation-dependent probe amplification. CLZ and its main metabolite plasma concentrations were determined by high performance liquid chromatography. Biochemical and molecular data, along with other potential confounders, were included in the analysis by linear regression. Overall, *CYP* variants showed no effect on CLZ pharmacokinetics. The rs2069514 variant in homozygous genotype (also known as *CYP1A2*1C/*1C*) was associated with CLZ adverse reactions in Mexican patients with refractory psychosis (OR = 3.55 CI₉₅ = 1.041–12.269, *p* = .043) and demonstrated that this effect is doubled by concomitant alcohol consumption (OR = 7.9 CI₉₅ = 1.473–42.369, *p* = .016). Clinicians should be aware of this information before starting CLZ use, when treating patients with refractory psychosis, who are alcohol drinkers and carriers of this genetic variant in order to prevent CLZ-related adverse reactions. Nevertheless, our findings should be replicated in larger samples.

KEYWORDS

adverse effects, alcohol drinking, clozapine, *CYP* genes, pharmacogenetics, schizophrenia spectrum and other psychotic disorders

Alberto Ortega-Vázquez and Yerye G. Mayen-Lobo contributed equally to this study.

Drug Dev Res. 2020;1–10.

wileyonlinelibrary.com/journal/ddr

© 2020 Wiley Periodicals, LLC. | 1

1 | INTRODUCTION

Clozapine (CLZ) is an antipsychotic indicated for treating and managing psychosis as well as for treatment-resistant schizophrenia (SZ), bipolar disorder (BD), schizoaffective disorder (SD), among other mental illnesses. It is effective in a high proportion of unresponsive psychotic patients to at least two previous neuroleptic treatments, decreasing their suicidality and apparently limiting comorbid alcohol/substance use in these patients, as well (Ameer, 2020). Despite this, about 39% of CLZ-treated patients show poor or refractory response to this treatment (Costa-Dookhan et al., 2020). CLZ has a narrow therapeutic window complicating its clinical use, besides exhibiting a substantial burden of adverse drug reactions (ADRs). These effects range from mild ones like sedation, drowsiness, tachycardia, constipation and hypersalivation to severe ADRs including weight gain, neutropenia and myocarditis (de Fazio et al., 2015; Lesche et al., 2020).

Additionally, CLZ exhibits an extensive interpatient pharmacokinetic variability, owing to genetic and non-genetic factors (sex, age, smoking status, among others) (Bersani et al., 2011; Bowskill et al., 2012). In this regard, CLZ is mainly metabolized to its principal plasma metabolite N-desmethylclozapine (N-dmCLZ or norclozapine) by the cytochrome P450 (CYP) isoenzymes CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19, and to a lesser degree by CYP3A4 (Lesche et al., 2020); thus, functional variants in the genes encoding for these enzymes are considered as a source of variability in CLZ metabolism. Detection of pharmacogenetic variants of CLZ metabolism may improve clinical management and help in predicting response to CLZ and possible side effects; however, so far, this approach has shown controversial results (Na Takuathung et al., 2019). This could be due to several factors, such as sample size, allele frequencies for genetic variants that vary depending on the ethnic group studied, and potential confounding variables not included in the study design and analysis (Srirenakumar et al., 2015).

To explore the impact of functional CYP450 genetic variants on CLZ pharmacokinetics and ADRs, herein, we studied biochemical, clinical and molecular data, along with other potential confounders in 48 Mexican patients with refractory psychosis on CLZ monotherapy.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Patients

This is a cross-sectional study that was approved by the Ethics and Research Committees of the National Institute of Neurology and Neurosurgery "Manuel Velasco Suárez" of Mexico City (NINN, protocol_104/17). Written informed consent was obtained from all the participants.

Forty-eight unrelated pharmacological treatment-resistant Mexican outpatients with SZ, SD or BD treated with CLZ (tablets of same brand, dose-range: 10–700 mg) at least 6-months prior to the study, were consecutively admitted for the study.

The clinical diagnosis of patients was established by a neuropsychiatrist using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) of the American Psychiatric Association (American Psychiatric Association, 2014) at the NINN.

2.2 | Clinical evaluation of patients

Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) was applied to each patient in order to evaluate the clinical severity of the disease. Clinical response was defined as the percentage of patients showing a reduction of 30% or more in the PANSS total score at week 6 (Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. CADTH, 2011). Clinical Global Impression (CGI) for illness severity and global change were also evaluated at baseline and at week 18. Both scales were applied by a neuropsychiatrist.

After 18 weeks of CLZ treatment, Naranjo algorithm (Naranjo et al., 1981) and an ad hoc questionnaire were both used to evaluate probable or definite ADRs to CLZ. These were applied to the patient or to a patient's relative by a geneticist and, when necessary, complemented with the psychiatrist's information. ADRs were classified as general, neurological and metabolic reactions.

Regular alcohol/tobacco/coffee consumption was assessed by a geneticist using "yes/no" questions and asking about average weekly consumption during the last 12 months.

2.3 | Plasma concentrations of clozapine and N-desmethylclozapine

Blood samples were taken at steady state. Plasma concentrations of CLZ and its metabolite N-dmCLZ were quantified by high performance liquid chromatography coupled to a diode-array ultraviolet light detector (Agilent 1100), using methodological conditions previously validated and reported by (Vaquero-Baez et al., 2019) using protriptyline ($250 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$) as internal standard.

CLZ and N-dmCLZ from plasma samples were extracted with ethyl acetate and recovered with HCL 0.1 M for analysis as previously reported (Volpicelli et al., 1993) with minor modifications.

Recovery, selectivity and the stability tests for the samples after 90 days were performed (FDA, 2017). Metabolic ratios (MR) were calculated as the ratio of unmetabolized drug to metabolite (CLZ:N-dmCLZ) in each plasma sample (González-Esquivel et al., 2011).

2.4 | Genotyping

DNA was isolated by standard procedures from peripheral blood samples drawn after 6-months of CLZ treatment. Five single nucleotide variants (SNV) of CYP1A2 (rs762551, rs2069514, rs35694136, rs72547516, rs72547517), four of CYP2D6 (rs28371706, rs1065852, rs3892097, rs35742686), one of CYP3A4 (rs4646438), and three of CYP2C19 (rs12248560, rs4986893 and rs4244285) genes were

genotyped by TaqMan® probes on a QuantStudio-5™ real-time PCR system (ThermoFisher). The number of copies of several CYP genes (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP1B1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2E1, CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6) was performed by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) using the panel P128 (MRC-Holland) following the manufacturer's instructions, and analyzed on an AB3130 genetic analyzer using the Coffalyser.Net software. Characteristics and functional impact of all the studied genetic variants are found in Supplementary Table 1 (supporting information).

Allele and genotype frequencies of CYP2D6, CYP1A2, CYP3A4 and CYP2C19 variants were calculated, and compared with those reported in the gnomAD database. The obtained frequencies of CYP2D6 and CYP2C19 genetic variants were also compared with our previous data from 250 Mexican Mestizos healthy volunteers (Ortega-Vázquez et al., 2016 for CYP2C19 and unpublished data for CYP2D6) (Supplementary Tables 2 and 3 in supporting information).

2.5 | Statistical analysis

Data for categorical variables are presented as numbers and frequencies, and as the mean for continuous variables. Allelic and genotypic frequencies were analyzed for all the genetic variants studied. Statistical analysis was performed with the IBM SPSS Statistics 20.0 software. The association between CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4 and CYP2C19 variants and CLZ plasma concentrations was evaluated by the Kruskal-Wallis test; and the association between metabolic ratio (CLZ:N-dmCLZ) and genotypes by an analysis of variance (ANOVA) test. Statistical significance was set at $p < .05$.

To explore the effect of genetic variants on the presence of ADR a chi-square test was performed, and then the dependent variables with a significant or marginally significant influence ($p < .1$) on the presence of ADR were selected and included in an analysis of binary logistic regression. The Hosmer–Lemeshow test was applied for goodness of fit for the resulting model (Hosmer & Lemeshow, 2013). In order to reduce the False Discovery Rate (FDR) in our results, the p -values were corrected for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg procedure (Benjamini & Hochberg, 1995), and the statistical power for the study was calculated with G*Power 3.1 analysis program (Faul et al., 2009).

3 | RESULTS

Demographic, clinical characteristics, and alcohol/tobacco/coffee consumption habits of the 48 patients on clozapine monotherapy are shown in Table 1. 93.75% of patients had additional comedications (anxiolytics, antidepressants, anticonvulsants, anticholinergics). Of these, seven patients were taking one additional drug that may affect the activity of CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4 or CYP2C19, while other seven patients were taking a combination of one inducer and one inhibitor of these isoenzymes (e.g., anticonvulsants and fluoxetine as an antidepressant) (Table 1).

TABLE 1 Demographic and clinical characteristics of patients with refractory psychosis on clozapine monotherapy

Characteristic	Patients (n = 48) Mean ± SD
Sex (male/female)	28/20
Age (years)	38.65 ± 10.53
Age at onset (years)	21.41 ± 7.19
Weight (range) (kg)	78.74 ± 14.83 (48.5–129)
Daily dose of clozapine (range) (mg)	188.75 ± 141.71 (10–700)
Clinical diagnosis	
SZ	29
SD	13
BD	6
Length of illness (years)	16.57 ± 10.00
Baseline	
Positive PANSS	31.65 ± 5.27
Negative PANSS	28.88 ± 5.83
General PANSS	52.71 ± 4.43
Total PANSS	113.24 ± 11.53
CGI-S	5.91 ± 0.54
Week 18	
Positive PANSS	18.53 ± 3.89
Negative PANSS	23.80 ± 5.51
General PANSS	39.87 ± 3.91
Total PANSS	82.20 ± 8.02
CGI-C	2.91 ± 0.94
Patients with no additional comedication	3
Patients with additional comedication	45
Concomitant additional medication, n (%)	
Anxiolytic	24 (50.0)
Antidepressant	34 (70.8)
Anticonvulsant	14 (29.2)
Anticholinergic	2 (4.2)
Number of patients who are (%)	
Alcohol drinkers	20 (41.7)
Smokers	22 (45.8)
Coffee drinkers	34 (70.8)
Sedentary	26 (54.2)

Abbreviations: BD, bipolar disorder; CGI, Clinical global impression; CGI-C, improvement or change and therapeutic response; CGI-S, illness severity; PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale; SD, schizoaffective disorder; SZ, schizophrenia.

All patients showed mild to moderate symptom improvement according to the CGI score ($\approx 49.23\%$), and a reduction ($\approx 30\%$) of the PANSS baseline score after 18 weeks of CLZ treatment.

There was a wide variation in CLZ plasma concentrations; the mean values observed among the studied patients at steady state

TABLE 2 Genotype and allele frequencies of CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4 and CYP2C19 variants and their association with clozapine plasma concentrations in 48 patients with refractory psychosis

Gene	CYP variant (dbSNP)	Genotype	n	CLZ plasma concentration (mean ± SD)	p-value ^a	CLZ adjusted dose-corrected concentration (mean ± SD)	p-value ^a	Metabolic ratio	p-value ^b
CYP1A2	rs2069514	GG	20	142.330 ± 177.515	.765	58.132 ± 40.120	.938	1.957 ± 0.927	.953
		GA	21	151.996 ± 130.214		60.910 ± 40.064		1.995 ± 1.134	
		AA	7	203.754 ± 313.007		79.224 ± 76.725		1.851 ± 1.204	
	rs35694136	TT	12	177.11 ± 230.116	.632	65.477 ± 42.968	.904	2.148 ± 1.170	.774
		Tdel	26	143.649 ± 112.413		57.830 ± 36.754		1.900 ± 0.810	
		deldel	10	160.462 ± 266.189		70.702 ± 70.689		1.883 ± 1.447	
	rs762551	CC	4	141.234 ± 184.298	.285	58.642 ± 53.960	.464	1.569 ± 1.107	.779
		CA	17	188.841 ± 192.797		67.515 ± 38.907		2.050 ± 0.640	
		AA	27	112.090 ± 110.168		59.778 ± 50.671		1.946 ± 1.243	
	rs72547516	AA	48	155.516 ± 181.348	—	62.42 ± 46.218	—	1.959 ± 1.041	—
	rs72547517	GG	48	155.516 ± 181.348	—	62.42 ± 46.218	—	1.959 ± 1.041	—
	Diplotype ^c	*1/*1	4	112.090 ± 110.170	.714	58.640 ± 53.930	.498	1.659 ± 1.108	.139
		*1/*1F	2	464.000 ± 529.973		49.201 ± 24.810		2.474 ± 0.670	
		*1/*1 L	10	149.340 ± 100.879		65.839 ± 38.876		1.931 ± 0.679	
		*1/*1 V	4	109.800 ± 47.0039		76.238 ± 53.519		1.935 ± 0.503	
		*1/*CF	1	342.400		86.006		2.854	
		*1F/*1F	2	67.960 ± 42.583		33.804 ± 9.267		1.311 ± 0.169	
		*1F/*1 L	6	187.322 ± 177.3957		48.848 ± 32.795		2.009 ± 1.294	
		*1F/*1 V	6	113.050 ± 177.3957		41.190 ± 19.968		1.719 ± 0.753	
		*1F/*CF	1	143.100		144.484		4.733	
*1 L/*1 L		5	259.760 ± 363.7183	79.981 ± 92.339		1.795 ± 1.374			
*1 L/*1 V		3	29.714 ± 26.76946	32.380 ± 31.237		0.987 ± 0.974			
*1 V/*1 V		2	108.340 ± 33.096	104.985 ± 41.566		3.445 ± 1.499			
*CF/*CF	2	63.740 ± 61.515	77.330 ± 34.709	1.992 ± 1.049					
CYP2D6	rs1065852	CC	35	165.660 ± 204.338	.886	64.088 ± 47.863	.285	1.976 ± 1.053	.925
		CT	4	94.288 ± 30.846		33.496 ± 13.424		1.757 ± 0.573	
		TT	9	143.280 ± 113.616		68.803 ± 47.642		1.979 ± 1.227	
	rs28371706	CC	47	154.308 ± 183.114	—	62.529 ± 46.712	—	1.944 ± 1.047	—
		TT	1	212.287		57.459		2.640	
	rs3892097	GG	38	169.846 ± 200.383	.639	65.083 ± 47.159	.648	2.035 ± 1.083	.446
		GA	10	101.064 ± 50.086		52.316 ± 43.233		1.669 ± 0.844	
	rs35742686	AA	48	155.516 ± 181.348	—	62.420 ± 46.218	—	1.959 ± 1.041	—
		*5	47	157.720 ± 182.658		63.011 ± 46.537		1.979 ± 1.043	
	CNV	*1*1	46	156.233 ± 185.099	—	60.934 ± 45.118	—	1.994 ± 1.049	—
*1dup		1	179.999	152.999		1.109			
dupdup		1	98.071	40.356		1.191			
CYP3A4	rs4646438	—/—	48	155.516 ± 181.348	—	62.42 ± 46.218	—	1.959 ± 1.041	—
CYP2C19	rs4244285	GG	42	157.783 ± 192.759	.374	56.91 ± 43.290	.012	1.934 ± 1.006	.748
		GA	6	139.65 ± 64.157		101.00 ± 51.694		2.128 ± 1.357	
	rs4986893	GG	48	155.516 ± 181.348	—	62.42 ± 46.218	—	1.959 ± 1.041	—
	rs12248560	CC	41	153.705 ± 189.038	.661	63.23 ± 49.05	.683	1.937 ± 1.092	.644
		CA	7	166.120 ± 138.661		57.70 ± 25.70		2.088 ± 0.711	

Note: The CLZ plasma concentration (ng ml⁻¹), and CLZ adjusted dose-corrected concentration (ng ml⁻¹ per mg kg⁻¹). *1(Wild-type), *1F(c.-9-154C > A, rs762551), *1 L(c.-3860CA, rs2069514+ c.-2467delT, rs35694136+ c.-9-154C > A, rs762551), *1 V(c.-2467delT, rs35694136+ c.-9-154C > A, rs762551), *CF(c.-3860CA, rs2069514+ c.-9-154C > A, rs762551) and according to <https://www.pharmvar.org/gene/CYP1A2>. Significant p-values <0.05 are in bold.

Abbreviations: —, not applicable; CNV, copy number variants; CLZ, clozapine; dbSNP, database of single nucleotide polymorphisms at the National Center of Biotechnology, NCBI.

^aKruskal-Wallis test.

^bANOVA test.

^cPredicted diplotypes were defined as the haplotype cluster pair.

were: $155.51 \pm 181.34 \text{ ng ml}^{-1}$, (range = 7.63–865.68 ng ml^{-1}), $188.75 \pm 141.71 \text{ mg}$ for CLZ daily dose, and 1.95 ± 1.04 (range = 0.33–4.73) for metabolic ratio (Table 2). There were no differences regarding CLZ and its metabolite plasma concentrations, nor in metabolic ratio between men and women (data not shown). Thirty-seven patients were found to have a subtherapeutic CLZ level ($<250 \text{ ng ml}^{-1}$), nine were in therapeutic levels ($250\text{--}700 \text{ ng ml}^{-1}$), and two were in supratherapeutic ($>700 \text{ ng ml}^{-1}$) CLZ levels (Costa-Dookhan et al., 2020).

The allele frequencies of the variants found in our patients were similar to those from Latinos on gnomAD, and to those observed in Mexican Mestizos healthy volunteers for CYP2D6 and CYP2C19 variants ($p > .05$) (Supplementary Tables 2 and 3).

All included genetic variants, as well as the predicted diplotypes and haplotypes of CYP1A2, were in Hardy–Weinberg equilibrium (Supplementary Table 2). Regarding CYP1A2, a high frequency of the rs2069514, rs35694136 and rs762551 allelic variants (35%, 46% and 71%, respectively) was observed in the patients studied, in contrast to the null frequency of minor alleles in rs72547516 and rs72547517 variants (Supplementary Table 2).

The polymorphisms rs3892097 and rs1065852 are part of the combination of SNVs for CYP2D6*4 allele, which has null enzymatic activity. Fourteen heterozygous patients for these variants were observed (ten and seven individuals for rs3892097 and rs1065852, respectively).

The rs1065852 and rs28371706 polymorphisms appear in many different variants, all of which have reduced or no CYP2D6 activity. In

our sample, one patient was homozygous carrier for the rs1065852 variant and one for the SNV rs28371706.

One patient was a heterozygous carrier of CYP2D6*5 allele corresponding to the full CYP2D6 deletion. Heterozygous and homozygous duplications (CNVs) of this gene were observed in two patients; that is carriers of three and four copies, CYP2D6X3 and CYP2D6X4, respectively. Therefore, the CNVs of CYP2D6 active copies represented 3% of the patients. The rs35742686 variant of CYP2D6 was not observed in our sample. Regarding CLZ pharmacokinetics, no other relevant CNV was identified by MLPA.

Since all patients were wild-type homozygous for the loss of function variants rs4646438 of CYP3A4 and rs4986893 of CYP2C19, we discarded them for further statistical analysis. Indeed, these variants are very rare in Latinos in the gnomAD database ($f = 0.0000289$ and $f = 0.0005240$, respectively).

The comparisons between the mean CLZ plasma concentrations, adjusted dose-corrected plasma concentrations, and metabolic ratio values, versus CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4, and CYP2C19 genotypes, and CYP1A2 diplotypes did not show significant differences in the sample studied, except for the GA genotype of rs4244285 variant of CYP2C19 that showed significantly higher CLZ adjusted dose-corrected concentrations than GG genotype (101 ± 51.7 vs. $56.9 \pm 43.23 \text{ ng ml}^{-1}$ per mg kg^{-1} , adjusted- $p = .012$) (Table 2). Only one patient showed CYP2D6 genotype–phenotype concordance as an ultrarapid metabolizer (CNV-UM), who was carrier of four copies of CYP2D6X4, heterozygous for the rs1065852 (c.100CT) and the rs3892097 (c.506-1GA), and wild-type for

TABLE 3 Association of CYP1A2, CYP2D6 and CYP2C19 genetic variants with clozapine adverse reactions in 48 patients with refractory psychosis

Variable	p-value of total ADR	p-value of general ADR	p-value of neurological ADR	p-value of metabolic ADR
CYP1A2*1C, rs2069514 (GG vs. AG.AA)	.025 (.012) ^a	.383 (.125)	.087 (.035) ^a	.536 (.164)
CYP1A2*1D, rs35694136 (TT vs. Tdel. deldel)	.401 (.141)	1.000 (.242)	.868 (.230)	.617 (.188)
CYP1A2*1F, rs762551 (CC vs. AC.AA)	.858 (.227)	.637 (.191)	.708 (.207)	.568 (.176)
CYP2D6, rs1065852 (CC vs. CT.TT)	.696 (.203)	.330 (.105)	.424 (.148)	.250 (.078)
CYP2D6, rs28371706 (CC vs. TT)	.252 (.078)	.312 (.098)	.292 (.094)	.332 (.109)
CYP2D6, rs3892097 (GG vs. AG)	.244 (.070)	.477 (.156)	.390 (.129)	.882 (.234)
Sedentary lifestyle (yes vs. no)	.422 (.144)	.562 (.172)	.398 (.137)	.371 (.117)
Alcohol intake (yes vs. no)	.005 (.004) ^a	.079 (.031) ^a	.007 (.08)	.807 (.223)
CYP1A2*1C, rs2069514 (AA vs. AG.GG)	.089 (.043) ^a	.683 (.199)	.268 (.086)	.772 (.219)
CYP1A2*1D, rs35694136 (deldel vs. TT. Tdel)	.373 (.121)	.155 (.063)	.047 (.020) ^a	.390 (.133)
CYP1A2*1F, rs762551 (AA vs. AC.CC)	.288 (.090)	.771 (.215)	.585 (.180)	.585 (.184)
CYP2D6, rs1065852 (TT vs. CT.CC)	.149 (.059)	.712 (.211)	.087 (.039) ^a	.047 (.250)
Sex (males vs. females)	.105 (.047)	.558 (.168)	.130 (.051)	.045 (.023) ^a
Smoking status (yes vs. no)	.315 (.102)	.140 (.055)	.263 (.083)	.067 (.027) ^a
CYP2C19*2, rs4244285 (GG vs. AG)	.441 (.152)	1.000 (.246)	.155 (.066)	.956 (.238)
CYP2C19*17, rs12248560 (CC vs. CA)	.643 (.195)	1.000 (.250)	.484 (.160)	.342 (.113)

Note: Unadjusted and (adjusted) p-values.

^aSignificant adjusted p-values < .05 in bold.

TABLE 4 Binary logistic regression model to estimate clozapine adverse reactions risk/development in 48 patients with refractory psychosis

	Model without alcohol intake			Model with alcohol intake		
	Exp(B)	CI Exp(B)	p-value	Exp(B)	CI Exp(B)	p-value
CYP1A2*1C c.-3860G > A (GG vs. AG,AA)	3.547	1.041–12.269	.043 ^a	7.898	1.473–42.369	.016 ^a
CYP1A2*1F, rs762551 (AA vs. AC,CC)	1.438	0.417–4.951	.565	1.621	0.393–6.691	.504
Alcohol intake	–	–	ND	13.269	2.298–76.622	.004 ^a

Note: Hosmer and Lemeshow test in the model without alcohol intake, $p = .547$; and with alcohol intake, $p = .889$.

Abbreviations: CI, confidence interval. ND, Not determined.

^aSignificant p -values <.05 in bold.

c.320CC of CYP2D6 variant. This patient had lower values of CLZ plasma concentrations; CLZ adjusted dose-corrected plasma concentrations and metabolic ratio versus the corresponding mean values for the rest of the patients (Table 2).

The most reported CLZ adverse effects in our patients were sedation (62.50%), drowsiness (56.25%), difficulty concentrating (54.17%), and weight gain (54.17%); we did not observe lethal CLZ-ADRs. Thirty-five CLZ adverse reactions (CLZ-ADRs) were documented and were classified into three categories: general, neurological, and metabolic ones (Supplementary Table 4). The relationship between CLZ concentrations and presence of ADRs in our patients was evaluated, but no significant differences were observed.

Genetic and non-genetic factors influencing the presence of CLZ-ADRs were analyzed using multiple linear regression analysis. The independent variables were sex, sedentary lifestyle, smoking status, alcohol intake, and genetic variants. Comparisons between CLZ-ADRs with all the variables studied are shown in Table 3 (and Supplementary Table 5). Some associations were observed: the c.100TT genotype of CYP2D6 ($p = .039$) and GG genotype of CYP1A2*1C variant, rs2069514 ($p = .035$) were associated with presence of neurological CLZ-ADRs; whereas the CYP1A2*1C and *1D variants were related to the presence of CLZ-ADRs ($p = .042$ and $p = .046$, respectively). Alcohol intake was associated with general CLZ-ADRs ($p = .031$) and smoking was associated with metabolic CLZ-ADRs ($p = .027$). Interestingly, the presence of CLZ-ADRs was significantly increased by alcohol consumption ($p = .004$) according to the binary logistic regression model estimation (Table 4). Particularly, a synergistic effect in the CLZ-ADRs in patients who were homozygous for CYP1A2*1C allele (c.-3860GG vs. AG,AA) and had ingested alcohol during treatment with CLZ ($p = .016$) was observed (Table 4). According to the calculated statistical power ($P = 88.62\%$), our findings and the variables included in the binary logistic regression model are robust.

Finally, a stratified analysis by clinical diagnosis (SZ, BD, SD) was done for: CLZ-ADRs, frequency of CYP1A2*1C variant, CLZ adjusted dose-corrected plasma concentrations, metabolic ratio, and alcohol intake, however no significant differences were observed.

4 | DISCUSSION

We found a wide variation in CLZ plasma concentrations in the 48 patients with refractory psychosis studied, as follows: 77% was

below, 18.8% was within, and 4.2% was above the therapeutic ranges (Ameer, 2020; Costa-Dookhan et al., 2020; Couchman et al., 2010). A wide variation was also observed for the CLZ:N-dmCLZ ratio, with a mean = 1.959; theoretically, this ratio is optimally defined as ~ 2 (Couchman et al., 2010).

González-Esquivel et al. (2011) have previously reported that Mexican patients need lower CLZ doses to attain similar concentrations to those observed in Caucasian patients. They identified CLZ dosage and comedication as factors contributing to the variability. Our results are also in agreement with that study, regarding the observed interindividual variation in steady-state CLZ plasma concentrations in Mexican patients.

Some authors have reported that lower CLZ doses are required by non-smokers, since smoking is an inducing factor of CYP1A2 activity (Rostami-Hodjegan et al., 2004; Tang et al., 2007).

Genetic factors also contribute to this variability; thus, considering that CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4 and CYP2C19 are involved in biotransformation of CLZ (Thorn et al., 2012; Lesche et al., 2020; Rodrigues-Silva et al., 2020), variants in the genes coding for these enzymes affect their activity which, in turn, might modulate CLZ metabolism and ADRs, but the evidence is not consistent (Caetano & Piatkov, 2016; Lesche et al., 2020). Based on the literature, herein, we chose CYP genetic variants that: increase, decrease or abolish the corresponding enzymatic activity, those that modify enzyme inducibility or common concomitant drug treatment in these patients (e.g. anticonvulsants, antidepressants) (Supplementary Table 1). The analysis of CYP genetic variants and their relationship with CLZ pharmacokinetics only showed an association between the GA genotype of rs4244285 variant of CYP2C19 (also known as CYP2C19*2 variant, which is associated with a decreased enzyme activity) and higher CLZ adjusted dose-corrected concentrations compared to the other genotypes (p -corrected = .011) (Table 2). This allelic variant has been associated with lower CLZ concentrations in treatment of refractory SZ, and with lower BPRS scores in a super-refractory SZ group (Rodrigues-Silva et al., 2020). Even though our results agree with this report; its correlation was lost in the regression model.

Only one case showed CYP2D6 genotype-phenotype concordance requiring CLZ dose adjustment, which agrees with the Food and Drug Administration recommendations (FDA, 2020). In contrast, others consider that CYP2D6 variants are not significantly associated with CLZ response or ADRs (Arranz et al., 1995; Melkersson et al., 2007; Thorn et al., 2012; Zhang & Malhotra, 2011). These

inconsistencies mean that an individual's *CYP2D6* genotype-predicted metabolizer phenotype does not reflect their observed metabolizer phenotype due to the presence of specific non-genetic factors (e.g., comedication, smoking) (Lesche et al., 2020; Mostafa et al., 2019; Preskorn et al., 2013; Shah & Smith, 2015). Regarding comedication in our patients, anticonvulsants and antidepressants were the most common frequently observed CYP enzymes inducers and inhibitors, respectively. These patients are closely monitored for the efficacy and CLZ-ADRs.

We did not find differences in CLZ pharmacokinetics between smokers and non-smokers. This could be due several factors, including the effect of co-treatment, or that more than half of patients had metabolic disturbances (high BMI, blood glucose levels and blood pressure) which have been associated with higher CLZ plasma concentrations (Arranz et al., 2019; Cacabelos et al., 2011; Vasudev et al., 2017). In fact, an association was found between smokers and the presence of metabolic CLZ-ADRs (adjusted- $p = .027$), and significantly different by sex ($p = .023$) (Table 3).

In a recent study, patients who had their antipsychotic dose adjusted according to *CYP2D6*, *CYP1A2* and *CYP2C19* variants had a non-significant, but bigger reduction in side effects than those treated as usual (Arranz et al., 2019). Herein, homozygous patients for *CYP1A2*1C* (rs2069514) or for *CYP2D6* (rs1065852) variants exhibited more neurological CLZ-ADRs (adjusted $p = .035$ and $p = .039$, respectively); whereas homozygous patients for *CYP1A2*1D* (rs35694136) variant presented more total CLZ-ADR (adjusted- $p = .020$) (Table 3 and Supplementary Table 5). These two variants have been previously associated with increased CLZ exposure and adverse effects (Basile et al., 2000; Ferrari et al., 2012; Flockhart et al., 2009; Sriretnakumar et al., 2015; Tiwari et al., 2005).

Carriers of *CYP1A2*1C* variant (genotype GA or AA for the rs2069514 polymorphism) are associated with lower metabolic activity than patients with wild-type genotype (Nakajima et al., 1999) and decreased in smokers (Djordjevic et al., 2010), presumably, by altering the binding site of an unknown transcription factor in the gene promoter (Dean, 2016). Importantly, the allele frequencies for this variant show extreme genetic divergence between Europeans and Native Americans (Bonifaz-Peña et al., 2014; Szalai et al., 2014) ($f = 0.0129$ and $f = 0.266$, respectively, in the gnomAD database). The frequency of *CYP1A2*1C* variant in our patients was similar to that reported in Mexicans from the 1000 Genomes project ($f = 0.383$) and from Gonzalez-Covarrubias et al. (2016) (Supplementary Table 3).

The variation in the allelic frequencies of pharmacogenes (e.g. *CYP2D6*, *CYP1A2*) among different ethnicities may be responsible for some ADRs or altered CLZ efficacy (Cacabelos et al., 2011).

It has been reported that CLZ decreases alcohol and substance use in patients treated with this antipsychotic (Drake et al., 2000; Wu et al., 2013; Zimmet et al., 2000) and prevents relapse to alcohol intake in those whose alcohol use has remitted (Brunette et al., 2006; Khokhar et al., 2018), putatively through dopaminergic and noradrenergic mechanisms (Chau et al., 2010, 2011; Green et al., 1993, 2004; Khokhar et al., 2015). On the other hand, drinking alcohol increases the chance that patients experience CLZ side-effects, and this should

be avoided during treatment (De Fazio et al., 2015; Drake et al., 2000; Naheed & Green, 2001). Our patients who were alcohol drinkers showed more CLZ-ADRs ($p = .004$). The binary logistic regression model estimated a greater presence of ADRs in patients with the homozygous genotype *CYP1A2*1C/*1C* ($p = .022$). Similarly, the model estimated a higher presence of ADRs in patients who consume alcohol during CLZ treatment. According to this, patients with the *CYP1A2*1C/*1C* genotype, who also consume alcohol, will present a greater risk of presenting CLZ-ADRs during treatment ($p = .002$). Alcohol consumption can increase the nervous system side effects of CLZ (FDA). In our patients' sample, 41.7% were current alcohol drinkers, but according to the psychiatrist these patients are not considered heavy drinkers and their alcohol intake is 1–3 drinks per week. However, the most reported CLZ-ADRs were drowsiness (56.25%) and difficulty concentrating (54.17%). Thus, the concomitant use of CLZ and alcohol may have an additive effect favoring the presence of ADRs, mainly the neurological ones.

There is little information regarding pharmacogenetics of CLZ in patients with refractory psychosis and alcohol intake. Concurrent use of a substance, whether drugs or alcohol, is often an exclusion criterion for clinical trial participation (Price & Brahm, 2011), thus, interventions to improve awareness of this issue are warranted.

CLZ has been linked to a higher incidence of metabolic side effects (Alkerwi et al., 2009; Kim et al., 2012; Newcomer, 2005; Vasudev et al., 2017); as alcohol consumption causes hypertension and hypertriglyceridemia (Choi et al., 2016). In this regard, *CYP1A2*1C*; **1D* variants are associated with higher CLZ plasma concentrations but also with insulin and lipid levels in CLZ-treated patients (Melkersson et al., 2007). Herein, a greater presence of CLZ-related metabolic adverse reactions was associated with sex and smoking status; nevertheless, after comparing clinical characteristics of patients who are alcohol drinkers versus non-drinkers (including BMI, hypertension, blood glucose levels, LDL levels, smoking status, coffee consumption, presence of *CYP1A2* or *CYP2D6* inducers/inhibitors as comedications and CLZ-ADRs quantity), no significant differences were found. Interestingly, in a pharmacokinetic study, Gazzaz et al. (2018) suggested that drinking ethanol somewhat inhibits *CYP1A2*, *CYP2D6* and intestinal *CYP3A4*.

The inhibition of *CYP1A2* in vitro in hepatocytes with siRNA-*CYP1A2* or fluvoxamine, after stimulation with ethanol, suggests that *CYP1A2* regulates the expression of SREBP-1c (a key enzyme of lipid metabolism) through the PTEN/AKT/SREBP-1c pathway (Zhu et al., 2019). This pathway should be explored in patients who are alcohol drinkers and carriers of *CYP1A2*1C* variant to diminish CLZ-ADRs.

There are complex interactions between alcohol intake, metabolic components, pharmacogenetic variants, ethnicity, and drug–drug interactions in CLZ-treated patients with refractory psychosis that require further investigation. The limitations of this study are: small sample size with heterogeneity in terms of clinical diagnosis, and that no haplotype analysis was done. The assessment of coffee/alcohol/tobacco consumption habits did not include quantities to perform consumption scales. Thus, larger studies conducted with more patients and considering these variables are necessary to confirm our

findings. In addition, we have analyzed only three of the main CLZ pharmacokinetic genes; however, others also participating in this process (e.g., *UGT1A4* and *UGT2B10*) and the genes involved in CLZ pharmacodynamics (e.g., *ABCB1*, *SLC6A4*, *DRD1*, *SLC6A3*) were not included for this study.

Clinicians should be aware of the presence, early recognition, close monitoring and treatment of CLZ-related ADRs.

*CYP1A2*1C* variant might be a potential marker to predict CLZ ADRs in Mexican patients with refractory psychosis and concomitant alcohol drinking.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by CONACyT grant #233695.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no potential conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

All listed authors have contributed to the manuscript substantially and have agreed to the final submitted version.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data sharing is not applicable to this article as no new data were created or analyzed in this study. All supplementary material is available in supporting information.

ORCID

Nancy Monroy-Jaramillo  <https://orcid.org/0000-0003-2611-0972>

REFERENCES

- Alkerwi, A., Boutsen, M., Vaillant, M., Barre, J., Lair, M. L., Albert, A., Guillaume, M., & Dramaix, M. (2009). Alcohol consumption and the prevalence of metabolic syndrome: A meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis*, 204(2), 624–635. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.036>.
- Ameer, M. A. (2020). Neuroleptic medications. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- American Psychiatric Association. (2014). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5)*. Washington DC: American Psychiatric Publishing. <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>.
- Arranz, M. J., Dawson, E., Shaikh, S., Sham, P., Sharma, T., Aitchison, K., Crocq, M. A., Gill, M., Kerwin, R., & Collier, D. A. (1995). Cytochrome P4502D6 genotype does not determine response to clozapine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 39(4), 417–420. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1995.tb04471.x>.
- Arranz, M. J., Gonzalez-Rodriguez, A., Perez-Blanco, J., Penadés, R., Gutierrez, B., Ibañez, L., Arias, B., Brunet, M., Cervilla, J., Salazar, J., & Catalan, R. (2019). A pharmacogenetic intervention for the improvement of the safety profile of antipsychotic treatments. *Translational Psychiatry*, 9(1), 177. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0511-9>.
- Basile, V. S., Ozdemir, V., Masellis, M., Walker, M. L., Meltzer, H. Y., Lieberman, J. A., ... Kennedy, J. L. (2000). A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (*CYP1A2*) gene: Association with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 5(4), 410–417. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000736>.
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*, 57(1), 289–300.
- Bersani, F. S., Capra, E., Minichino, A., Pannese, R., Girardi, N., Marini, I., Biondi, M. (2011). Factors affecting interindividual differences in clozapine response: A review and case report. *Human Psychopharmacology*, 26(3), 177–187. <https://doi.org/10.1002/hup.1191>.
- Bonifaz-Peña, V., Contreras, A. V., Struchiner, C. J., Roela, R. A., Furuy, Mazzotti, T. K., ... Suarez-Kurtz, G. (2014). Exploring the distribution of genetic markers of pharmacogenomics relevance in Brazilian and Mexican populations. *PLoS one*, 9(11), e112640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112640>.
- Bowkill, S., Couchman, L., MacCabe, J. H., & Flanagan, R. J. (2012). Plasma clozapine and nordozapine in relation to prescribed dose and other factors in patients aged 65 years and over: Data from a therapeutic drug monitoring service, 1996–2010. *Human Psychopharmacology*, 27(3), 277–283. <https://doi.org/10.1002/hup.2223>.
- Brunette, M. F., Drake, R. E., Xie, H., McHugo, G. J., & Green, A. I. (2006). Clozapine use and relapses of substance use disorder among patients with co-occurring schizophrenia and substance use disorders. *Schizophrenia Bulletin*, 32(4), 637–643. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbl000>.
- Cacabelos, R., Hashimoto, R., & Takeda, M. (2011). Pharmacogenomics of antipsychotics efficacy for schizophrenia. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 65(1), 3–19. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2011.02168.x>.
- Caetano, D., & Piatkov, I. (2016). Ultrarapid clozapine metabolism and *CYP2D6* gene duplication in a patient with schizophrenia. *Personalized Medicine*, 13(2), 113–117. <https://doi.org/10.2217/pme.15.56>.
- Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. CADTH. (2011). Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Retrieved from <https://www.cadth.ca/sites/default/files/pdf/CADTH-Annual-Report-2011-12-e.pdf>
- Chau, D. T., Ahmed, J., Wang, T. T., Xie, H., Dawson, R., & Green, A. (2011). Risperidone lessens the ability of clozapine to suppress alcohol drinking in Syrian golden hamsters. *Neuropharmacology*, 61(4), 646–652. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.05.007>.
- Chau, D. T., Gulick, D., Xie, H., Dawson, R., & Green, A. I. (2010). Clozapine chronically suppresses alcohol drinking in Syrian golden hamster. *Neuropharmacology*, 58(2), 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.10.006>.
- Choi, S. J., Lee, S. I., & Joo, E. Y. (2016). Habitual alcohol consumption and metabolic syndrome in patients with sleep disordered breathing. *PloS One*, 11(8), e0161276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161276>.
- Costa-Dookhan, K. A., Agarwal, S. M., Chintoh, A., Tran, V. N., Stogios, N., Ebdrup, B. H., ... Hahn, M. K. (2020). The clozapine to nordozapine ratio: A narrative review of the clinical utility to minimize metabolic risk and enhance clozapine efficacy. *Expert Opinion on Drug Safety*, 19(1), 43–57. <https://doi.org/10.1080/14740338.2020.1698545>.
- Couchman, L., Morgan, P. E., Spencer, E. P., & Flanagan, R. J. (2010). Plasma clozapine, nordozapine, and the clozapine:Nordozapine ratio in relation to prescribed dose and other factors: Data from a therapeutic drug monitoring service, 1993–2007. *Therapeutic Drug Monitoring*, 32(4), 438–447. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3181dad1f20463634>.
- De Fazio, P., Gaetano, R., Caroleo, M., Cerminara, G., Maida, F., Bruno, F., ... Segura-García, C. (2015). Rare and very rare adverse effects of clozapine. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 1995–2000. <https://doi.org/10.2147/NDT.S83989>.
- Dean, L. (2016). Clozapine therapy and *CYP2D6*, *CYP1A2*, and *CYP3A4* genotypes. In Victoria M. Pratt Howard L. McLeod Wendy S. Rubinstein Stuart A. Scott Laura C. Dean Brandi L. Kattman & Adriana Malheiro (Eds.) *Medical Genetics Summaries*. 173–180. Bethesda (MD, US): National Center for Biotechnology Information (US). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28520368/>.

- Djordjevic, N., Ghotbi, R., Jankovic, S., & Aklillu, E. (2010). Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>a polymorphism. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66(7), 697–703. <https://doi.org/10.1007/s00228-010-0823-4>.
- Drake, R. E., Xie, H., McHugo, G. J., & Green, A. I. (2000). The effects of clozapine on alcohol and drug use disorders among patients with schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 26(2), 441–449. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.schbula.a033464>.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A.-G. (2009). Statistical power analyses using G*power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods*, 41, 1149–1160.
- Ferrari, M., Bolla, E., Bortoloso, P., Callegari, C., Poloni, N., Lecchini, S., Vender, S., Marino, F., & Cosentino, M. (2012). Association between CYP1A2 polymorphisms and clozapine-induced adverse reactions in patients with schizophrenia. *Psychiatry Research*, 200(2–3), 1014–1017. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.07.002>.
- Flockhart, D. A., Skaar, T., Berlin, D. S., Klein, T. E., & Nguyen, A. T. (2009). Clinically available pharmacogenomics tests. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 86(1), 109–113. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.39>.
- Food and Drug Administration, FDA. (2017). FDA approved drug products, Clozaril. Retrieved from https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/019758s084lbl.pdf
- Food and Drug Administration, FDA. (2020). Table of Pharmacogenetic associations. Retrieved from <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>
- Gazzaz, M., Kinzig, M., Schaeffeler, E., Jübner, M., Hsin, C. H., Li, X., Taubert, M., Trueck, C., Ilgen-Brebuda, J., Kraus, D., Queckenberg, C., Stoffel, M., Schwab, M., Sörgel, F., & Fuhr, U. (2018). Drinking ethanol has few acute effects on CYP2C9, CYP2C19, NAT2, and P-glycoprotein activities but somewhat inhibits CYP1A2, CYP2D6, and intestinal CYP3A: So what? *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 104(6), 1249–1259. <https://doi.org/10.1002/cpt.1083>.
- Gonzalez-Covarrubias, V., Martínez-Magaña, J. J., Coronado-Sosa, R., Villegas-Torres, B., Genis-Mendoza, A. D., Canales-Herrerías, P., Nicolini, H., & Soberón, X. (2016). Exploring variation in known Pharmacogenetic variants and its association with drug response in different Mexican populations. *Pharmaceutical Research*, 33(11), 2644–2652.
- González-Esquivel, D. F., Castro, N., Ramírez-Bermúdez, J., Custodio, V., Rojas-Tomé, S., Castro-Román, R., & Jung-Cook, H. (2011). Plasma levels of clozapine and norclozapine in Mexican schizophrenia patients. *Arzneimittel-Forschung*, 61(6), 335–339. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296207>.
- Green, A. I., Alam, M. Y., Sobieraj, J. T., Pappalardo, K. M., Waternaux, C., Salzman, C., Schatzberg, A. F., & Schildkraut, J. J. (1993). Clozapine response and plasma catecholamines and their metabolites. *Psychiatry Research*, 46(2), 139–149. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(93\)90016](https://doi.org/10.1016/0165-1781(93)90016).
- Green, A. I., Chau, D. T., Keung, W. M., Dawson, R., Meshulam, R. I., & Schildkraut, J. J. (2004). Clozapine reduces alcohol drinking in Syrian golden hamsters. *Psychiatry Research*, 128(1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2004.05.005>.
- Hosmer, D. W., & Lemeshow, S. (2013). *Applied Logistic Regression*. New York: Wiley.
- Khokhar, J. Y., Chau, D. T., Dawson, R., & Green, A. I. (2015). Clozapine reconstructed: Haloperidol's ability to reduce alcohol intake in the Syrian golden hamster can be enhanced through noradrenergic modulation by desipramine and idazoxan. *Drug and Alcohol Dependence*, 152, 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.04.003>.
- Khokhar, J. Y., Henricks, A. M., Sullivan, E., & Green, A. I. (2018). Unique effects of clozapine: A pharmacological perspective. *Advances in pharmacology*, 82, 137–162. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.09.009>.
- Kim, B. J., Kim, B. S., & Kang, J. H. (2012). Alcohol consumption and incidence of metabolic syndrome in Korean men. A 3-year follow-up study. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 76(10), 2363–2371. <https://doi.org/10.1253/circj.12-0315>.
- Lesche, D., Mostafa, S., Everall, I., Pantelis, C., & Bousman, C. A. (2020). Impact of CYP1A2, CYP2C19, and CYP2D6 genotype- and phenoconversion-predicted enzyme activity on clozapine exposure and symptom severity. *Pharmacogenomics Journal*, 20(2), 192–201. <https://doi.org/10.1038/s41397-019-0108-y>.
- Melkersson, K. I., Scordo, M. G., Gunes, A., & Dahl, M. L. (2007). Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 68(5), 697–704. <https://doi.org/10.4088/jcp.v68n0506>.
- Mostafa, S., Kirkpatrick, C. M. J., Byron, K., & Sheffield, L. (2019). An analysis of allele, genotype and phenotype frequencies, actionable pharmacogenomic (PGx) variants and phenoconversion in 5408 Australian patients genotyped for CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and VKORC1 genes. *Journal of Neural Transmission*, 126(1), 5–18. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1922-0>.
- Na Takuathung, M., Hanprasertpong, N., Teekachunhatean, S., & Koonungsesomboon, N. (2019). Impact of CYP1A2 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of antipsychotic drugs: a systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 139(1), 15–25. <https://doi.org/10.1111/acps.12947>.
- Naheed, M., & Green, B. (2001). Focus on clozapine. *Current Medical Research and Opinion*, 17(3), 223–229. <https://doi.org/10.1185/0300799039117069>.
- Nakajima, M., Yokoi, T., Mizutani, M., Kinoshita, M., Funayama, M., & Kamataki, T. (1999). Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: Effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *The Journal of Biochemistry*, 125(4), 803–808. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022352>.
- Naranjo, C. A., Busto, U., Sellers, E. M., Sandor, P., Ruiz, I., Roberts, E. A., Janecek, E., Domecq, C., & Greenblatt, D. J. (1981). A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 30(2), 239–245. <https://doi.org/10.1038/clpt.1981.154>.
- Newcomer, J. W. (2005). Second-generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects: A comprehensive literature review. *CNS Drugs*, 19(Suppl 1), 1–93. <https://doi.org/10.2165/00023210-200519001-00001>.
- Ortega-Vázquez, A., Dorado, P., Fricke-Galindo, I., Jung-Cook, H., Monroy-Jaramillo, N., Martínez-Juárez, I. E., Familiar-López, I., Peñas-Lledó, E., Llerena, A., & López-López, M. (2016 Jun). CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 genetic polymorphisms and phenytoin plasma concentrations in Mexican-mestizo patients with epilepsy. *The Pharmacogenomics Journal*, 16(3), 286–292. <https://doi.org/10.1038/tpj.2015.45>. Epub 2015 Jun 30 26122019.
- Preskorn, S. H., Kane, C. P., Lobello, K., Nichols, A. I., Fayyad, R., Buckley, G., ... Guico-Pabía, C. J. (2013). Cytochrome P450 2D6 phenoconversion is common in patients being treated for depression: Implications for personalized medicine. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 74(6), 614–621. <https://doi.org/10.4088/JCP.12m07807>.
- Price, S. A., & Brahm, N. C. (2011). Antipsychotic treatment of adolescent dual diagnosis patients. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics: JPPT: the official journal of PPAG*, 16(4), 226–236. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-16.4.226>.
- Rodrigues-Silva, C., Semedo, A. T., Neri, H., Vianello, R. P., Galaviz-Hernández, C., Sosa-Macías, M., de Brito, R. B., & Ghedini, P. C. (2020). The CYP2C19*2 and CYP2C19*17 polymorphisms influence responses to clozapine for the treatment of schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 16, 427–432. <https://doi.org/10.2147/NDT.S228103>.
- Rostami-Hodjegan, A., Amin, A. M., Spencer, E. P., Lennard, M. S., Tucker, G. T., & Flanagan, R. J. (2004). Influence of dose, cigarette smoking, age, sex, and metabolic activity on plasma clozapine concentrations: A predictive model and nomograms to aid clozapine dose

- adjustment and to assess compliance in individual patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 24(1), 70–78. <https://doi.org/10.1097/01.jcp.0000106221.36344.4d>.
- Shah, R. R., & Smith, R. L. (2015). Inflammation-induced phenoconversion of polymorphic drug metabolizing enzymes: Hypothesis with implications for personalized medicine. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 43(3), 400–410. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.061093>.
- Srirenakumar, V., Huang, E., & Müller, D. J. (2015). Pharmacogenetics of clozapine treatment response and side-effects in schizophrenia: An update. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 11(11), 1709–1731. <https://doi.org/10.1517/17425255.2015.1075003>.
- Szalai, R., Magyari, L., Matyas, P., Duga, B., Banfai, Z., Szabo, A., Kovessdi, E., & Melegh, B. (2014). Genetic polymorphisms in promoter and intronic regions of CYP1A2 gene in Roma and Hungarian population samples. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 814–820. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.09.012>.
- Tang, Y. L., Mao, P., Li, F. M., Li, W., Chen, Q., Jiang, F., ... Mitchell, P. B. (2007). Gender, age, smoking behaviour and plasma clozapine concentrations in 193 Chinese inpatients with schizophrenia. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 64, 49–56.
- Thorn, C. F., Akillu, E., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012). PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP1A2. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(1), 73–77. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834c6efd>.
- Tiwari, A. K., Deshpande, S. N., Rao, A. R., Bhatia, T., Mukit, S. R., Shriharsh, V., ... Thelma, B. K. (2005). Genetic susceptibility to tardive dyskinesia in chronic schizophrenia subjects: I. Association of CYP1A2 gene polymorphism. *The Pharmacogenomics Journal*, 5(1), 60–69. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500282>.
- Vaquero-Baez, M., Díaz-Ruiz, A., Tristán-López, L., Aviña-Cervantes, C., Torner, C., Ramírez-Bermúdez, J., Montes, S., & Ríos, C. (2019). Clozapine and desmethylclozapine: Correlation with neutrophils and leukocytes counting in Mexican patients with schizophrenia. *BMC Psychiatry*, 19(1), 295. <https://doi.org/10.1186/s12888-019-2286-1>.
- Vasudev, K., Choi, Y. H., Norman, R., Kim, R. B., & Schwarz, U. I. (2017). Genetic determinants of clozapine-induced metabolic side effects. *Canadian Journal of Psychiatry*, 62(2), 138–149. <https://doi.org/10.1177/0706743716670128>.
- Volpicelli, S. A., Centorrino, F., Puopolo, P. R., Kando, J., Frankenburg, F. R., Baldessarini, R. J., & Flood, J. G. (1993). Determination of clozapine, norclozapine, and clozapine-N-oxide in serum by liquid chromatography. *Clinical Chemistry*, 39(8), 1656–1659.
- Wu, B., Chen, H., & Lee, S. (2013). Do atypical antipsychotics really enhance smoking reduction more than typical ones?: The effects of antipsychotics on smoking reduction in patients with schizophrenia. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 33(3), 319–328. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e31828b2575>.
- Zhang, J. P., & Malhotra, A. K. (2011). Pharmacogenetics and antipsychotics: Therapeutic efficacy and side effects prediction. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7(1), 9–37. <https://doi.org/10.1517/17425255.2011.532787>.
- Zhu, Q., Huang, C., Meng, X., & Li, J. (2019). CYP1A2 contributes to alcohol-induced abnormal lipid metabolism through the PTEN/AKT/SREBP-1c pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 513(2), 509–514. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.034>.
- Zimmet, S. V., Strous, R. D., Burgess, E. S., Kohnstamm, S., & Green, A. I. (2000). Effects of clozapine on substance use in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder: A retrospective survey. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 20(1), 94–98. <https://doi.org/10.1097/00004714-200002000-00016>.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Ortega-Vázquez A, Mayen-Lobo YG, Dávila-Ortiz de Montellano DJ, et al. Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis. *Drug Dev Res*. 2020;1–10. <https://doi.org/10.1002/ddr.21774>