



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

---

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS**

**“DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS DE *HLA-A, B Y C* Y SU ASOCIACIÓN CON LA  
PRESENCIA DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS EN PACIENTES BAJO  
TRATAMIENTO CON ANTIEPILÉPTICOS”**

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

**PRESENTA:**

Q.F.B. INGRID FRICKE GALINDO  
MATRICULA: 2112800505

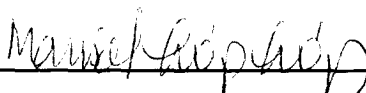
**COMITÉ TUTORAL:**

Tutora: Dra. Marisol López López  
Asesora: Dra. Ma. Elisa Alonso Vilatela  
Asesora: Dra. Helgi Jung Cook

MAYO, 2013

**“DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS DE HLA-A, B Y C Y SU ASOCIACIÓN CON LA PRESENCIA DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS EN PACIENTES BAJO TRATAMIENTO CON ANTIEPILÉPTICOS”**

Visto Bueno (Vo. Bo.) del Comité Tutoral:



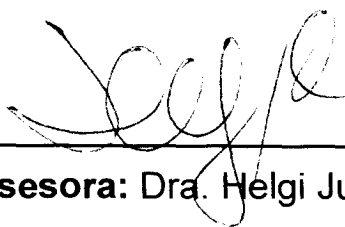
---

**Tutora: Dra. Marisol López López**



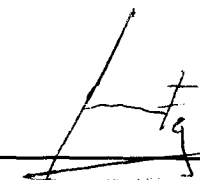
---

**Asesora: Dra. Ma. Elisa Alonso Vilatela**



---

**Asesora: Dra. Helgi Jung Cook**



---

**Q.F.B. Ingrid Fricke Galindo  
Matrícula 2112800505**

**“DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS DE HLA-A, B Y C Y SU ASOCIACIÓN  
CON LA PRESENCIA DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS EN  
PACIENTES BAJO TRATAMIENTO CON ANTIEPILEPTICOS”**

Jurado de Examen de Grado



---

Dr. Ramcés Falfán Valencia  
**Presidente**



---

M. en C. Nancy Monroy Jaramillo  
**Vocal**



---

Dra. Marisol López López  
**Secretaria**

## RESUMEN

Entre los diversos fármacos antiepilépticos (FAEs) algunos de ellos como la carbamazepina (CBZ), lamotrigina (LTG) y fenitoína (FNT) pueden causar reacciones adversas cutáneas (RAMc) de diversos grados de severidad, desde erupciones cutáneas hasta síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica. Este tipo de reacciones son impredecibles y, dependiendo de la RAMc desarrollada, pueden ocasionar la muerte del paciente.

Se ha reportado la asociación de algunos alelos de *HLA* con la presencia de RAMc por CBZ, LTG y FNT. Uno de ellos es *HLA-B\*15:02* el cual está fuertemente asociado a RAMc por CBZ en chinos Han, y que otros estudios han demostrado que también está asociado en reacciones cutáneas inducidas por LTG y FNT. Esto ha llevado a que la FDA (*Food and Drug Administration*) incluya en la información sobre estos FAEs una recomendación para genotipificar el alelo *HLA-B\*15:02* antes de prescribirlos, y en caso de encontrarlo, ofrecer una alternativa de FAE que no esté dentro del grupo de los amino-aromáticos, en especial en pacientes de origen asiático. En otros estudios se han identificado diversos alelos, dependiendo del FAE que cause la reacción de hipersensibilidad y la población estudiada, entre ellos se encuentran: para CBZ *HLA-B\*48:01* y *-B\*59:01* en japoneses, *-B\*15:11* en coreanos y *-A\*31:01* en población japonesa y del norte de Europa; *-B\*38*, para europeos con RAMc por LTG; y para FNT, *-B\*13:01* y *-C\*08:01*.

Debido a que esta información no existe en población mestizo mexicana, en este estudio se realizó la genotipificación de los alelos de *HLA-A*, *-B* y *-C* en 18 pacientes con RAMc inducida por FAEs (LTG, CBZ, FNT y LEV) y en 18 controles tolerantes a los mismos. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la frecuencia del alelo *HLA-B\*35:01:01* en el grupo de pacientes con RAMc por LTG y los controles ( $\chi^2= 4.677$ ,  $P= 0.0306$ ,  $OR= 8.53$ ,  $IC95%= 0.9181-79.2418$ ), el cual no había sido previamente reportado. Adicionalmente, los alelos previamente descritos *HLA-A\*31:01:02* y *HLA-C\*08:01* mostraron diferencias significativas entre pacientes con RAMc y controles bajo tratamiento con CBZ ( $\chi^2= 5.506$ ,  $P= 0.0190$ ), y FNT ( $\chi^2= 9.546$ ,  $P= 0.0020$ ), respectivamente.

A pesar de que el tamaño de muestra es pequeño, los datos fueron suficientes para arrojar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes con RAMc y el de controles. Los alelos de *HLA* asociados a RAMc por tipo de FAE pueden servir como biomarcadores que permitan predecir el desarrollo de estas reacciones adversas cutáneas y ayuden a una prescripción personalizada.

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con el número (CVU/Becario) 402951/257053 para que desarrollara el estudio de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas (Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco) y por el proyecto No. 167261 que proporcionó el presupuesto para llevar a cabo este trabajo.

Al Laboratorio de Genética Molecular, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, a cargo de la Dra. Marisol López López, por el apoyo con material e instalaciones para desarrollar parte de este trabajo experimental.

Al Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" (INNyNMVS), a cargo de la Dra. Ma. Elisa Alonso Vilatela, por las facilidades otorgadas para la realización del proyecto de investigación, tanto por las instalaciones y material, como por los servicios proporcionados.

A la Clínica de Epilepsia, INNyNMVS, a cargo de la Dra. Iris Martínez Juárez y su grupo de trabajo, por ser el contacto con los pacientes requeridos para este estudio y sus aportaciones en el ámbito clínico.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

*Me permito plasmar en esta hoja lo que ha pasado por mi mente en estos dos años:*

*Gracias a Dios por la fuerza y la oportunidad de vivir lo que algún día caminó en mi mente.*

*Gracias mamá, porque sin ti no sería ni la mitad de lo que soy ahora, por vivir conmigo cada momento y darme las herramientas y las palabras de aliento para seguir. Este éxito es también tuyo mami.*

*Besu, por siempre ser un ejemplo en mi vida.*

*A mis primos y tíos por sus palabras y buenos deseos. Un especial agradecimiento a mi tía Lupita por el apoyo económico y moral para que llevara a cabo este proyecto de vida.*

*Dra. Marisol, muchas gracias por su confianza, por permitirme trabajar con usted y por impulsarme a hacer lo que no hubiera imaginado.*

*A mis asesoras, Dra. Helgi y Dra. Alonso, es un placer conocerlas y haber trabajado con ustedes. Mi respeto y admiración para ustedes, por siempre.*

*Nancy, gracias por haber vivido cada alegría y cada frustración conmigo en este nuestro proyecto, por compartir tus conocimientos y toda tu enseñanza.*

*Al Dr. Falfán, mil gracias por su apoyo desinteresado, que la vida se lo multiplique en éxitos, más de los que ya tiene. Un placer conocerlo. Y gracias a parte de su equipo de trabajo, M. en C. Juan Manuel Reséndiz y Q.F.B. Enrique Ambrocio por su apoyo en el laboratorio.*

*A la Maestría en Ciencias Farmacéuticas, la Dra. Castrillón, Normita y los integrantes de la Comisión, por todo el apoyo y comentarios en este trabajo.*

*A la Dra. Iris Martínez y todo su equipo de trabajo por el apoyo para que este proyecto fuera realizado.*

*A todos mis amigos de Neuro: Allan, Liz, Pollo, David, Sir, Edgar, Isa, Pablín, Beto, Gabo, Ámbar, Sara y Jessi. Simplemente hacían los días difíciles más fáciles. Dra. Petra, gracias por todo el apoyo y los ánimos para seguir.*

*Al personal del Departamento de Neurología: Lety, Jorge, David, Gina, Dr. Aurelio y Don Gabino, gracias por estar ahí y apoyar de una u otra manera este proyecto. Un especial agradecimiento a Adri, en la parte técnica por apoyarme con los pacientes y sobre todo por su apoyo moral.*

*A todos mis amigos de Xalapa, D.F. y Querétaro, por su paciencia y seguirme queriendo aun cuando no me era posible estar con ustedes la mayor parte del tiempo.*

*A todos aquellos que estuvieron al pendiente de mí, los que me dieron algún consejo, los que me dieron una palabra de aliento, los que vivieron este proyecto de vida día a día conmigo. Jamás olvidaré que Dios puso grandes ángeles en mi vida.*

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>XII</b>
<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>1</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
2.1. FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS	3
2.2. REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS	5
2.2.1. Definición	5
2.2.2. Clasificación de las RAMs	5
2.3. REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS A MEDICAMENTOS (RAMc)	8
2.3.1. Mecanismo inmunológico de las RAMc	9
2.3.2. Tipos de RAMc	10
2.4. COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC) Y SISTEMA HLA (ANTÍGENO DE LEUCOCITOS HUMANOS)	13
2.4.1. Polimorfismos del MHC	17
2.5. FARMACOGENÉTICA DE LAS RAMc	18
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>20</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>21</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>22</b>
5.1. OBJETIVO GENERAL	22
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
<b>6. SUJETOS Y MÉTODOS</b>	<b>23</b>
6.1. SUJETOS	23
6.1.1. Criterios de Inclusión	24
6.1.1.1. Grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs)	24
6.1.1.2. Grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)	24
6.1.2. Criterios de Exclusión	24

6.1.2.1.	Grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs)	24
6.1.2.2.	Grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)	24
6.2.	<b>MÉTODOS</b>	25
6.2.1.	Toma de muestra	25
6.2.1.1.	Toma de muestra de sangre periférica	25
6.2.1.2.	Recolección de muestra de saliva	25
6.2.2.	Extracción de ADN genómico	25
6.2.2.1.	A partir de muestra de sangre periférica	25
6.2.2.2.	A partir de muestra de saliva	27
6.2.3.	Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN	27
6.2.4.	Genotipificación de <i>HLA-A, B y C</i>	28
6.2.4.1.	Reacción de PCR	28
6.2.4.2.	Electroforesis en gel de agarosa	30
6.2.4.2.1.	Preparación del gel de agarosa al 2.5%	30
6.2.4.2.2.	Electroforesis	31
6.2.4.3.	Interpretación de resultados	31
6.3.	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	32
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
7.1.	Análisis cualitativo y cuantitativo de las muestras de ADN	33
7.2.	Genotipificación de <i>HLA-A, B y C</i>	33
7.3.	Análisis estadístico de los resultados	35
7.3.1.	Alelos de <i>HLA</i> identificados en los pacientes (grupo de casos)	35
7.3.2.	Alelos de <i>HLA</i> encontrados en el grupo de comparación	38
7.3.3.	Estudio de asociación de alelos de <i>HLA</i> con presencia de RAMc por antiepilépticos	39
7.3.3.1.	Pacientes no tolerantes vs pacientes tolerantes a FAEs	39
7.3.3.2.	Pacientes con RAMc por LTG vs pacientes tolerantes a LTG	42
7.3.3.3.	Pacientes con RAMc por CBZ vs pacientes tolerantes a CBZ	46
7.3.3.4.	Pacientes con RAMc por FNT vs pacientes tolerantes a FNT	49
7.3.3.5.	Pacientes con RAMc por LEV vs pacientes tolerantes a LEV	51
7.3.4.	Estudio de asociación de haplotipos de <i>HLA</i> con presencia de RAMc por antiepilépticos	52



8. CONCLUSIONES	56
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
10. ANEXOS	63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de las reacciones adversas a medicamentos	6
<b>Tabla 2.</b> Características demográficas de los pacientes estudiados	23
<b>Tabla 3.</b> Resultados obtenidos en el grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs)	35
<b>Tabla 4.</b> Resultados obtenidos en el grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)	38
<b>Tabla 5.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-A</i> de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs	39
<b>Tabla 6.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-B</i> de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs	40
<b>Tabla 7.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-C</i> de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs	41
<b>Tabla 8.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-A</i> de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG	42
<b>Tabla 9.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-B</i> de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG	42
<b>Tabla 10.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-C</i> de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG	43
<b>Tabla 11.</b> Comparación de frecuencias de <i>HLA-B*35:01:01</i> de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general	45
<b>Tabla 12.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-A</i> de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ	46
<b>Tabla 13.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-B</i> de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ	46
<b>Tabla 14.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-C</i> de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ	47

<b>Tabla 15.</b> Comparación de frecuencias de <i>HLA-A*31:01.02</i> de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general	48
<b>Tabla 16.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-A</i> de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT	49
<b>Tabla 17.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-B</i> de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT	49
<b>Tabla 18.</b> Frecuencias alélicas de <i>HLA-C</i> de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT	50
<b>Tabla 19.</b> Comparación de frecuencias de <i>HLA-C*08:01</i> de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general	51
<b>Tabla 20.</b> Resultados de paciente e individuo tolerante estudiados para RAMc por LEV	51
<b>Tabla 21.</b> Frecuencias haplotípicas de <i>HLA</i> clase I de pacientes con RAMc por FAEs y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs	52
<b>Tabla 22.</b> Frecuencias haplotípicas de <i>HLA</i> de clase I de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructuras químicas de FAEs	4
<b>Figura 2.</b> Metabolito producto de la oxidación FAEs aromáticos	5
<b>Figura 3.</b> Clasificación de Coombs y Gell para las reacciones de Hipersensibilidad	7
<b>Figura 4.</b> Reconocimiento del hapteno/pro-hapteno por células T específicas	9
<b>Figura 5.</b> Esquema de localización de los genes de HLA	14
<b>Figura 6.</b> Estructura de proteína del MHC clase I	15
<b>Figura 7.</b> Estructura de proteína del MHC clase II	16
<b>Figura 8.</b> Patrón de bandas esperado para el Marcador de peso en un gel de agarosa al 2.5% con TBE 1X, teñido con bromuro de etidio	32
<b>Figura 9.</b> Imagen representativa de análisis de integridad de ADN por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X, teñido con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV	33
<b>Figura 10.</b> Fotografía de gel representativo de electroforesis de reacción de PCR para genotipificación de <i>HLA</i> clase I utilizando las placas Micro SSP™	34
<b>Figura 11.</b> Sección de la hoja de trabajo en donde se indican los pesos correspondientes a bandas de amplificación positiva observadas en el gel	35
<b>Figura 12.</b> Alineamiento de los alelos <i>HLA-B*35:05:01</i> y <i>-B*35:01:01</i> con el alelo considerado normal <i>HLA-B*07:02:01</i> y uno que difícilmente aparece en los pacientes con RAMc ( <i>HLA-B*37:01:01</i> )	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABHI</b>	<i>American Board for Histocompatibility and Immunogenetics</i>
<b>ACD</b>	Ácido cítrico, citrato, dextrosa
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>Arg</b>	Arginina
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ASHI</b>	<i>American Society for Histocompatibility and Immunogenetics</i>
<b>BLGR</b>	Buffer de lisis de glóbulos rojos
<b>CBZ</b>	Carbamazepina
<b>DRESS</b>	Reacción a fármacos con eosinofilia y síntomas sistémicos
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetracético
<b>FAEs</b>	Fármacos antiepilépticos
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FNT</b>	Fenitoína
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>HLA</b>	Antígeno de Leucocitos Humanos
<b>Ile</b>	Isoleucina
<b>Leu</b>	Leucina
<b>LEV</b>	Levetiracetam
<b>LTG</b>	Lamotrigina
<b>Mb</b>	Megabases
<b>MHC</b>	Complejo Principal de Histocompatibilidad
<b>MM</b>	Mestizos mexicanos
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>NET</b>	Necrólisis epidérmica tóxica
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa ( <i>Polymerase chain reaction</i> )
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>RAMc</b>	Reacciones adversas cutáneas a medicamentos
<b>SDS</b>	Dodecilsulfato de sodio
<b>Ser</b>	Serina
<b>SSJ</b>	Síndrome de Stevens-Johnson

<b>SSP</b>	Oligonucleótidos de secuencia específica ( <i>Sequence specific primers</i> )
<b>TBE</b>	Tris base, EDTA, ácido bórico
<b>TPM</b>	Topiramato
<b>VIH</b>	Virus de inmunodeficiencia humana
<b>VPA</b>	Ácido valproico

## 1. ANTECEDENTES

Las reacciones adversas a medicamentos de tipo cutáneas (RAMc) son reacciones inmunológicas en donde ciertos tipos de fármacos como alopurinol, antiepilépticos, antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos y antirretrovirales, inducen una respuesta inmunológica en el organismo del paciente bajo estos tratamientos farmacológicos pudiendo llegar a consecuencias fatales. Recientemente se han sugerido algunos factores genéticos que contribuyen a la patogénesis de este tipo de reacciones, como resultado de estudios de asociación de los genes HLA clase I, y en menor proporción de clase II, con síndrome de Stevens Johnson (SSJ) y la Necrólisis Epidérmica Tóxica (NET) inducidos por antiepilépticos (Aihara, 2011).

En 2004, el grupo de investigación de Chung demostró una fuerte asociación entre el alelo *HLA-B\*15:02* y el SSJ inducido por el antiepiléptico carbamazepina (CBZ) en pacientes chinos de la provincia Han. El 100% (n= 44) de los pacientes con SSJ fueron positivos para este alelo y únicamente el 3% (n=101) de los pacientes tolerantes, y 8.6% de individuos controles (n=93) (OR: 2.504, IC 95%: 1.26-49.522,  $p < 0.001$ ).

Esta asociación se ha confirmado en otros reportes, el grupo de trabajo de Hung (2006) y el de Man en chinos Han (2007), el de Wu en el centro de China (2010), y Wang y colaboradores en el sureste de China (2011).

Por su parte, otros estudios demostraron que este alelo no era universal y que dependía de la población en estudio. Así, Lonjou y colaboradores no encontraron una asociación con el alelo *HLA-B\*15:02* y pacientes con SSJ de origen caucásico (2006). De igual manera, Ueta *et al.* no reportaron asociación en pacientes japoneses con SSJ con complicaciones oculares (2008), en cambio el grupo de Kaniwa detectó una mayor frecuencia alélica de *HLA-B\*15:11* en pacientes japoneses con SSJ que en la población en general (2010).

Por otro lado, se han obtenido resultados controversiales respecto a la asociación del alelo *HLA-B\*15:02* con las reacciones adversas cutáneas a los demás antiepilépticos del grupo de los amino-aromáticos, esto es, lamotrigina (LTG), fenitoína (FNT) y oxcarbazepina (OXC). Hung *et al.* reportaron que el alelo se compartía en los pacientes que habían desarrollado hipersensibilidad a cualquiera de estos antiepilépticos en chinos Han (2010), inclusive se hace la recomendación que los pacientes positivos para este alelo no deben ser prescritos con

ninguno de los antiepilépticos del mismo grupo farmacológico (Hu *et al.*, 2011). No obstante, el grupo de Shi no encontró una asociación entre este alelo y el desarrollo de RAMc por LTG (2010) al igual que An *et al.* (2010).

Otros estudios demostraron la asociación del alelo *HLA-A\*31:01* con el desarrollo de RAMc inducido por CBZ en japoneses (Ozeki *et al.*, 2011) y en población del norte de Europa (McCormack *et al.*, 2011).

De manera adicional se han reportado otros alelos asociados a RAMc inducidas por CBZ y otros antiepilépticos aminoaromáticos: *HLA-B\*15:18*, *-B\*59:01* y *-C\*07:04* para japoneses, y *A\*31:01* en pacientes de Korea por CBZ; *B\*38* en europeos específicamente para LTG; *B\*13:01*, *Cw\*08:01* y *DRB1\*16:02* en pacientes chinos Han con SSJ/NET por FNT; y algunos otros relacionados con síndrome de hipersensibilidad inducido por CBZ en población caucásica, *HLA-A\*01:01*, *-Cw\*07:01*, *-B\*08:01*, *-DRB1\*03:01*, *-DQA1\*05:01*, *-DQB1\*02:01* (Pavlos *et al.*, 2012).

Estos reportes contribuyeron a que en el año 2007 la FDA (*Food and Drug Administration*) publicara en su página web una advertencia sobre el uso de CBZ en pacientes asiáticos o descendientes de asiáticos y que fueran portadores del alelo *HLA-B\*15:02*. Asimismo, se agregó en la información del medicamento la advertencia y recomendación de realizar el estudio genético para determinar el alelo de *HLA-B* en los pacientes antes de ser prescritos con CBZ (FDA, 2007). Inclusive, estas mismas anotaciones se han hecho para LTG y FNT, fármacos antiepilépticos del mismo grupo de la CBZ, aunque la evidencia aún no es del todo consistente y, como hemos descrito anteriormente, influye el origen étnico de la población en estudio.



## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS.

La epilepsia es una enfermedad multifactorial caracterizada por convulsiones recurrentes no provocadas, debidas a un descontrol en la actividad eléctrica de un grupo de neuronas (ILAE, 1993).

La alternativa terapéutica más utilizada para este padecimiento es el tratamiento farmacológico, esto debido a su bajo costo y su característica no invasiva. Sin embargo, los fármacos antiepilepticos (FAEs) conllevan el riesgo de no presentar la misma efectividad para todos los pacientes, no se encuentran al alcance de todos y pueden desarrollar efectos adversos de diversos grados de severidad (Lundgren *et al.*, 2008).

El objetivo del tratamiento con FAEs es mantener a los pacientes libres de crisis convulsivas, sin efectos adversos y con un estilo de vida normal (Krasowski, 2010).

Actualmente, están disponibles aproximadamente 18 FAEs diseñados bajo diferentes esquemas. Todos ellos buscan disminuir la excitación neuronal o incrementar la inhibición neuronal por uno o más procesos farmacológicos, entre los que se incluyen: la modulación de canales catiónicos dependientes de voltaje, potenciación de la actividad del neurotransmisor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), inhibición de procesos glutamatérgicos y modificación de la liberación de neurotransmisores (Kwan y Brodie, 2007).

Entre los FAEs más utilizados que actúan sobre los canales de sodio dependientes de voltaje se encuentran la FNT, CBZ, LTG, OXC y eslicarbazepina (Brodie, 2010). Otros fármacos que se unen a los canales de sodio son felbamato, topiramato, zonisamida y rufinamida, sin embargo aún no es clara su relevancia clínica y acción farmacológica (Rogawski y Löscher, 2004).

Otros FAEs actúan bloqueando los canales de calcio dependientes de voltaje, inhibiendo así la despolarización y la liberación de neurotransmisores. Entre ellos se encuentran etosuximida, gabapentina, pregabalina y otros como LTG, levetiracetam (LEV) y zonisamida se ha observado que también se unen a estos canales por diferentes vías (Meldrum y Rogawski, 2007).

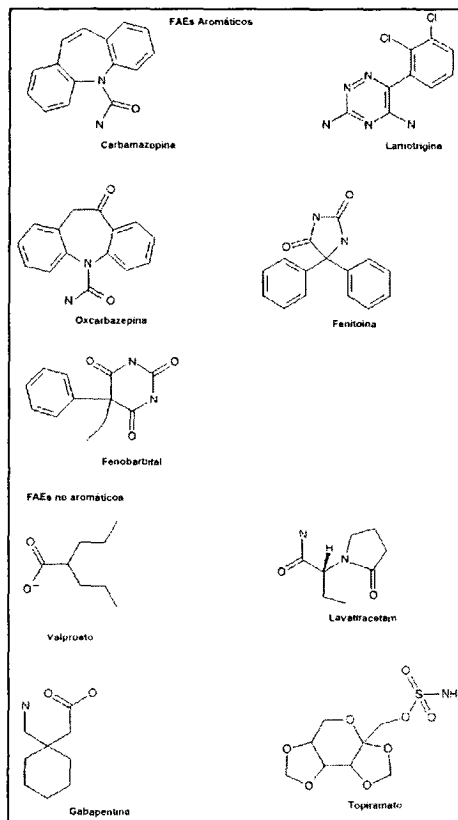
Diversos FAEs actúan sobre el receptor GABA, aumentando la respuesta al neurotransmisor GABA liberado por medio de sinapsis (barbitúricos, benzodiacepinas) o alterando la síntesis del mismo (valproato de sodio, VPA), su metabolismo (vigabatrina), o su recaptura en la sinapsis

(tiagabina) (Sills y Brodie, 2001). De igual manera felbamato, topiramato y LEV, también modulan la respuesta a nivel del receptor gabaérgico (Brodie, 2010).

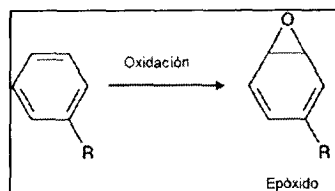
Existen ciertos FAEs de amplio espectro con múltiples mecanismos de acción que tienen actividad sobre varios tipos de crisis convulsivas. Estos incluyen VPA, felbamato, topiramato y zonisamida (Meldrum y Rogawski, 2007).

En la actualidad, CBZ, LTG y FNT representan tres de los tratamientos de primera línea para el control de la epilepsia. CBZ y FNT son FAEs utilizados principalmente para tratar crisis parciales, mientras que LTG ayuda en crisis primarias, secundarias, tónico-clónicas generalizadas y para el síndrome de Lennox-Gastaut. Además, pueden ser prescritos para otros padecimientos como trastorno bipolar y neuralgia del trigémino (McCormack *et al.*, 2012).

Estos tres FAEs pertenecen al grupo de los amino-aromáticos (Figura 1) y, a pesar de ser tratamientos de primera línea se han asociado con RAMc de diversos grados de severidad con potenciales efectos mortales, como SSJ y NET. Algunos estudios han reportado que esto es debido al metabolito epóxido producto de la acción de enzimas sobre las moléculas de los FAEs (Figura 2) (Arif *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Estructuras químicas de FAEs (Modificado de Wang *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Metabolito producto de la oxidación de FAEs aromáticos (Modificado de Wang *et al.*, 2011).

## 2.2. REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS.

### 2.2.1. Definición.

En 1972 la Organización Mundial de la Salud (OMS) definió el término reacción adversa a medicamentos (RAMs) como: “la respuesta a un fármaco, la cual es nociva, no intencionada y ocurre a dosis estándares utilizadas en el humano como profilaxis, diagnóstico o tratamiento de una enfermedad, o para la modificación de una función fisiológica” (WHO, 1972).

Es importante diferenciar este término de “efecto tóxico” y de “efecto colateral”. Un efecto tóxico es aquel que ocurre por una exacerbación del efecto terapéutico deseado, el cual no es común a dosis normales, por tanto este efecto está siempre relacionado con la dosis. Por otra parte, un efecto no deseado o colateral, ocurre por otro mecanismo diferente al terapéutico y puede estar o no relacionado con la dosis (Edwards y Aronson, 2000).

### 2.2.2. Clasificación de las RAMs.

La clasificación tradicional de las RAMs comprende las reacciones tipo A (aumentadas) y tipo B (idiosincráticas), es en este último tipo que se engloban las RAMs más comunes. Posteriormente se han añadido más categorías, como se observa en la Tabla 1 (Scott y Thompson, 2011).

Las reacciones tipo A incluyen las respuestas normales y aumentadas a los fármacos, pero indeseables. Éstas comprenden: respuestas terapéuticas exageradas en el sitio de acción del fármaco, efectos terapéuticos deseados pero en un sitio diferente, y efectos farmacológicos secundarios. Las reacciones tipo A usualmente dependen de la dosis y son predecibles, incluso son detectadas antes de que el medicamento sea comercializado (Lee, 2006).

En general, los pacientes bajo tratamiento de FAEs pueden presentar uno o varios de los siguientes efectos adversos debido a la terapia: pérdida de memoria, cambios de humor,

somnolencia, mareos, ganancia o pérdida de peso, temblores, resequedad en la boca, dolor en articulaciones y músculos, visión borrosa, disminución del libido, estreñimiento, flatulencias, entre otros (Jarernsiripornkul *et al.*, 2012).

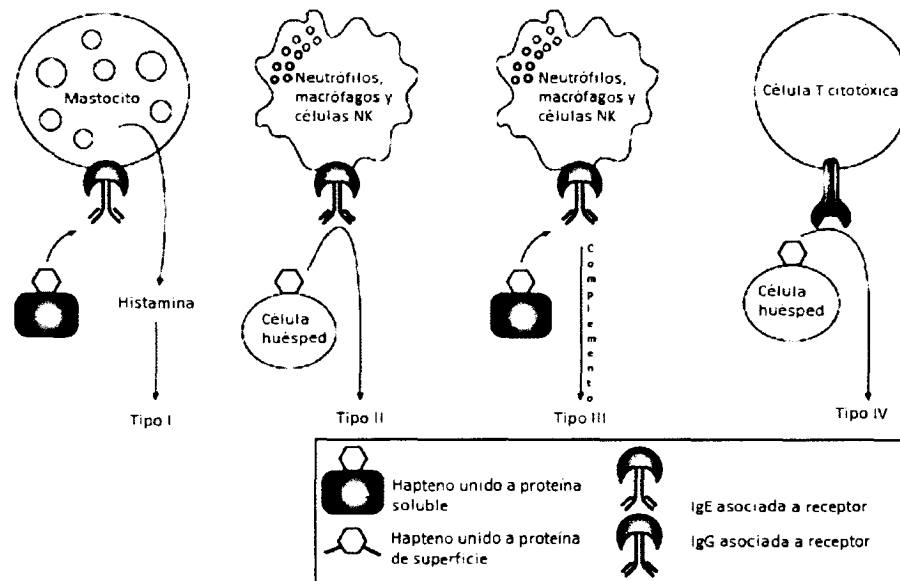
**Tabla 1.** Clasificación de las reacciones adversas a medicamentos. (Modificado de Scott y Thompson, 2011).

Tipo de reacción	Características	Ejemplos
<b>A: Relacionada a la dosis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Común</li> <li>- Relacionada al mecanismo de acción del fármaco</li> <li>- Predecible</li> <li>- Baja mortalidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efectos tóxicos</li> <li>- Efectos colaterales</li> </ul>
<b>B: No relacionada a la dosis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poco común</li> <li>- No relacionada al mecanismo de acción del fármaco</li> <li>- No predecible</li> <li>- Alta mortalidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reacciones inmunológicas</li> <li>- Reacciones idiosincráticas</li> </ul>
<b>C: Relacionada a la dosis y al tiempo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poco común</li> <li>- Relacionada con la acumulación de dosis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Supresión del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal por corticoesteroides</li> </ul>
<b>D: Relacionada al tiempo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poco común</li> <li>- Usualmente relacionada con la dosis</li> <li>- Se manifiesta después de un tiempo del inicio de uso del fármaco</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Teratogénesis</li> <li>- Carcinogénesis</li> <li>- Discinesia tardía</li> </ul>
<b>E: Retiro del medicamento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poco común</li> <li>- Ocurre después de que se suspende el tratamiento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome de retiro de opiáceos</li> <li>- Isquemia miocárdica por retiro de <math>\beta</math>-bloqueadores</li> </ul>
<b>F: Falla no esperada del tratamiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Común</li> <li>- Relacionada a la dosis</li> <li>- Normalmente causada por interacción farmacológica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dosis inadecuada en anticonceptivos orales, principalmente cuando son utilizados con inductores enzimáticos</li> </ul>

Las reacciones tipo B no están relacionadas al efecto farmacológico del medicamento en cuestión. Son normalmente causadas por mecanismos inmunológicos y farmacogenéticos. Además, estas reacciones generalmente no están relacionadas con la dosis y son consideradas de mayor gravedad e incluso pueden llevar a la muerte (Lee, 2006).

Como se muestra en la Tabla 1, dentro de éstas se incluyen a las reacciones inmunológicas, las cuales a su vez se dividen, de acuerdo a los mecanismos inmunológicos de Coombs y Gell, en (Lee, 2006; Scott y Thompson, 2011) (Figura 1):

- Tipo I: Reacciones causadas por la formación del complejo fármaco/antígeno-IgE específica que interactúa con receptor de mastocitos y basófilos, produciendo la liberación de mediadores químicos, como histamina y leucotrienos. En esta clasificación se incluye el prurito, urticaria, angioedema, bronco-constricción y anafilaxia.
- Tipo II: Reacciones citotóxicas basadas en mecanismos mediados por IgG o IgM. Incluyen la unión del anticuerpo a células con la subsecuente unión del complemento y la lisis celular. Como consecuencia se puede producir anemia hemolítica y trombocitopenia.
- Tipo III: Reacciones mediadas por complejos inmunológicos intravasculares. En este caso, el fármaco (antígeno) y los anticuerpos (IgG o IgM) están presentes en la circulación, pero teniendo un exceso del primero. Los fagocitos remueven lentamente los complejos inmunológicos depositándolos en la piel y riñones, articulaciones y sistema gastrointestinal. Ejemplo de ello es la artritis reumatoide.
- Tipo IV: Respuesta mediada por células T causando reacciones retardadas de hipersensibilidad. Éstas incluyen la dermatitis de contacto, síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) y necrólisis epidérmica tóxica (NET).



**Figura 3.** Clasificación de Coombs y Gell para las reacciones de hipersensibilidad (Modificado de Bulgeski, 2005).

Las reacciones adversas cutáneas a medicamentos (RAMc) pueden ser causadas por diferentes mecanismos, pero en muchos casos el proceso biológico exacto no se conoce. Muchas erupciones por fármacos son resultado de una reacción de hipersensibilidad con un mecanismo inmune subyacente (McKenna y Leiferman, 2004).

El término hipersensibilidad se refiere a cuando se tiene una respuesta inmune exagerada o aumentada a cierto agente o inmunógeno. Los fármacos o sus metabolitos actúan como haptenos que se unen de manera covalente a péptidos y los convierten en inmunogénicos, induciendo la respuesta inmune específica: humoral o mediada por células específicas (Lee, 2006).

Existen diferentes tipos de mecanismos efectores de la respuesta inmune que pueden producir diversos patrones clínicos de reacciones de hipersensibilidad. Por ejemplo, la penicilina, la cual actúa como hapteno, causa reacciones de hipersensibilidad tipo 1 mediadas por IgE, y reacciones no mediadas por IgE como erupciones morbiliformes, eritema multiforme y síndrome de Stevens-Johnson (Lee, 2006).

### **2.3. REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS DE TIPO CUTÁNEAS (RAMc)**

Las RAMc son las reacciones adversas a medicamentos más comunes y pueden ser ocasionadas por penicilinas, cefalosporinas, antibióticos del tipo de las sulfonamidas, y alopurinol (con una incidencia de más de 50 casos por cada 1000 nuevos usuarios), y particularmente los antiepilépticos con estructura amino aromática (con una incidencia de más de 100 casos por cada 1000 nuevos usuarios) (Stern, 2012). Además son de gran importancia, ya que es una de las causas principales por la que los pacientes interrumpen el tratamiento con FAEs (Aouam *et al.*, 2008); de igual manera, existen estudios que reportan la aparición de erupciones benignas en 5 a 15% de pacientes que utilizan FAEs aromáticos (CBZ, FNT, FB), incluyendo los fármacos más recientes LTG y OXC (Wang *et al.*, 2012).

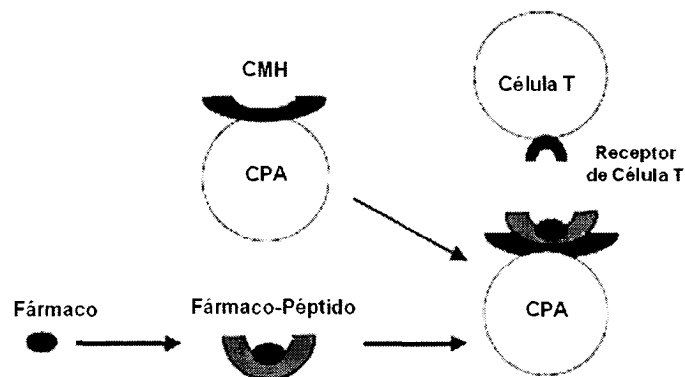
Las erupciones exantematosas por fármacos (también llamadas morbiliformes o erupciones maculopapulares por fármacos) son las formas más comunes de erupciones inducidas por fármacos. Estas en conjunto con el SSJ, la NET y la reacción a medicamentos con eosinofilia y síntomas sistémicos (DRESS); son reacciones de hipersensibilidad idiosincráticas mediadas por células T, tipo IV (Stern, 2012). Aunque el mecanismo inmunológico de estas reacciones no está del todo definido, se sabe que las células presentadoras de antígeno presentan haptenos,

compuestos por los fármacos o sus metabolitos unidos a una proteína o péptidos, a las células T. Estas células T antígeno-específicas proliferan, infiltran la piel y liberan citocinas, quimiocinas y otros mediadores pro-inflamatorios, los cuales son responsables de los signos y síntomas de las erupciones relacionadas a fármacos (Roujeau, 2006). Este mecanismo será descrito con mayor detalle a continuación.

### 2.3.1. Mecanismo inmunológico de las RAMc

Ciertos reportes han demostrado que el contacto previo con el fármaco que causa la reacción no es un pre-requisito para desarrollar hipersensibilidad al mismo. En general, se indica que puede deberse a una reacción cruzada entre el fármaco en cuestión y otros xenobióticos (p. ej. alimentos y cosméticos) a los que el paciente afectado pudo haberse expuesto con anterioridad (Schnyder *et al.*, 2009).

Aunque el mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad tipo IV, en donde se incluyen las RAMc objeto de este estudio, no está del todo definido se explica por el concepto de hapteno/pro-hapteno y el concepto de interacciones farmacológicas con fármacos con receptores inmunológicos (p-i). En el primer caso, se explica que la molécula de un fármaco es muy pequeña como para inducir una respuesta inmunológica. Por tanto, se cree que actúa como hapteno o pro-hapteno, el cual se une por medio de un enlace covalente a proteínas endógenas, formando un complejo hapteno-acarreador, y se convierte en inmunogénico (Schnyder *et al.*, 2009). A continuación, este complejo es procesado y presentado por las células presentadoras de antígeno (CPA) en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) localizadas en los nódulos linfáticos y otros tejidos, con lo que se estimula la producción de células T y las consecuentes manifestaciones clínicas (Naisbitt *et al.*, 2000) (Figura 2).



**Figura 4.** Reconocimiento del hapteno/pro-hapteno por células T específicas (MHC: Complejo principal de histocompatibilidad, CPA: Célula presentadora de antígeno) (Modificada de Schnyder *et al.*, 2009).

El concepto p-i (interacciones farmacológicas de los fármacos con receptores inmunológicos) trata de explicar el hecho de que no todos los fármacos necesitan unirse a un péptido por medio de un enlace covalente para formar el complejo con el MHC para inducir la respuesta inmunológica. En contraste, esta teoría indica que algunos fármacos pueden unirse directa y reversiblemente (unión no covalente) a receptores inmunológicos como el MHC o el receptor de células T para estimular células T específicas para el fármaco inductor. En algunos pacientes con hipersensibilidad a fármacos, esta respuesta puede ocurrir horas después de la primera exposición. Por tanto, la reacción al fármaco puede no ser debida a una respuesta clásica, primaria, sino puede ser mediada por la estimulación de células T específicas existentes, pre-activadas, como consecuencia de una reacción cruzada por otros xenobióticos (Pichler *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2012). No obstante, se han encontrado células T específicas para CBZ (Pichler, 2003) y LTG (Naisbitt *et al.*, 2003).

### **2.3.2. Tipos de RAMc**

Las manifestaciones de las RAMc ocasionadas por antiepilépticos pueden ser variables y de diversos grados de severidad, comprendiendo desde la erupción maculopapular leve (>80%), el síndrome de hipersensibilidad en donde existe compromiso del hígado y otros órganos internos, hasta los ya mencionados síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica (McCormack *et al.*, 2012). A continuación se describen algunas características de estos.

#### **Erupción Maculopapular Leve**

Es considerada la forma más común de RAMc con una incidencia de 2.8% de todos los pacientes bajo tratamiento con FAEs (Arif *et al.*, 2007). También es conocida como exantema o erupción mobiliforme; este padecimiento se desarrolla en un periodo de 4 a 21 días después de la exposición. Las primeras lesiones se pueden observar en el tronco y el pecho y puede extenderse a las extremidades y a la cara (Coulson, 2009). Las lesiones se componen de máculas y pápulas rosas a rojas que se unen para formar placas en el cuerpo. Y aunque pueden no presentarse lesiones en las membranas mucosas, se observa enrojecimiento en esta zona sin que se lleguen a desarrollar ampollas. Son frecuentes la presencia de prurito de severidad variable, y fiebre baja (<38.5°C), además de edema, eritema y linfadenopatía (Stern, 2012).



## Síndrome de hipersensibilidad

Este término hace referencia a una reacción específica severa y de etiología idiosincrática. Las manifestaciones comunes incluyen erupción cutánea y fiebre, además de que pueden presentarse hepatitis, artralgias, linfadenopatías o anormalidades hematológicas. El diagnóstico de este síndrome puede ser confundido con algunas infecciones virales, debido a su inicio tardío, lenta evolución y manifestaciones clínicas similares a esos padecimientos (Rojeau y Stern, 1994).

Los FAEs (con una incidencia estimada de 1 por cada 5000 pacientes) y las sulfonamidas son los agentes más comunes que inducen este tipo de síndrome. Inicia 2 a 4 semanas después de la primera exposición al medicamento. Cuando es debido a FAEs los síntomas más comunes son fiebre y erupción cutánea. En menor frecuencia se pueden presentar linfadenopatía, hepatitis, anormalidades hematológicas, en especial eosinofilia, así como afectaciones en corazón, pulmones, tiroides y cerebro. Normalmente las afectaciones causadas en este síndrome cesan con el retiro del medicamento (Stern, 2012; Rojeau y Stern, 1994).

## Síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) y Necrólisis Epidérmica Tóxica (NET).

Este síndrome fue descrito por primera vez en 1922 por dos médicos americanos llamados Albert Mason Stevens y Frank Chambliss Johnson. Ellos reportaron un síndrome mucocutáneo agudo en dos niños, los cuales presentaban conjuntivitis purulenta severa, estomatitis severa con necrosis de la mucosa extensa, y lesiones cutáneas similares a eritema multiforme. Con ello se describió como una enfermedad severa mucocutánea con un curso prolongado y muertes ocasionales (French, 2006).

El SSJ incluye fiebre, malestar, mialgia, artralgia y eritema multiforme extenso del tronco y cara. Frecuentemente es inducido por fármacos y puede haber formación de ampollas y erosión de mucosa en aproximadamente 10% de la superficie corporal. La incidencia calculada se encuentra entre 1.2 - 6 por millón de habitantes cada año. Aproximadamente 50% de los casos la causa es desconocida. La tasa de mortalidad se encuentra entre el 1 y 5% (French, 2006; Lee, 2006). La reacción inicial puede ocurrir 14 días después de haber iniciado el tratamiento. En este caso la epidermis es infiltrada por linfocitos activados, principalmente por células CD8<sup>+</sup> y macrófagos. Las citocinas liberadas por células mononucleares activadas y queranocitos pueden contribuir a la muerte celular local, la fiebre y el malestar general (Rojeau y Stern, 1994).

La NET o síndrome de Lyell es una emergencia médica. Este padecimiento está caracterizado por necrosis generalizada de todas las capas de la piel en más del 30% del área superficial. Por lo general, hay daño en membranas mucosas: orofaríngea, ojos y genitales. La incidencia estimada se encuentra entre 0.4 y 1.2 por millón de habitantes cada año, con una tasa de mortalidad cercana al 40%, y siendo los fármacos la principal causa en adultos (Lee, 2006).

Este síndrome presenta un periodo prodrómico de náusea, vómito, conjuntivitis, faringitis, dolor de garganta, dolor de pecho, disfagia, disuria, fotofobia, mialgia y artralgia. Estos síntomas pueden durar hasta 14 días. La fase aguda consiste en fiebre persistente (mayor a 38.5°C) y una erupción en piel dolorosa o con sensación de quemazón. La erupción generalmente inicia en la cara o en la parte superior del tronco y está caracterizada por máculas de color oscuro o eritematosas poco definidas, ampollas irregulares de tipo "diana", o eritema difuso. Por lo general, las lesiones progresan y se extienden en 3 a 4 días, pero pueden progresar rápidamente en cuestión de horas. La conjuntiva se ve afectada del primer a tercer día antes de la aparición de las lesiones en la piel. Puede presentarse descamación del tracto pulmonar, nasofaríngeo y bucal; de manera menos frecuente, la mucosa esofágica y perianal. Las consecuencias de la pérdida masiva de epidermis son: deshidratación, aumento del gasto de energía, infección local o sistémica como septicemia. En algunos casos, otros órganos pueden verse afectados: daño hepatocelular, neumonía, nefritis y daño miocárdico (Lee, 2006; Stern, 2012). En este padecimiento el desprendimiento de piel es mayor al 30% y la mortalidad calculada de un 25-35% (French, 2006).

En ambos tipos de reacciones hay formación de ampollas, al inicio la erupción puede ser eritema macular o erupción exantémica predominantemente en el tronco; las lesiones pueden incluir manchas planas, en forma de diana características del eritema multiforme; y se presenta el signo de Nikolsky (desprendimiento de piel inmediato al realizar una ligera presión en el área). El diagnóstico diferencial se realiza de acuerdo al porcentaje de superficie de área corporal necrosada, antes mencionado. Las membranas mucosas casi siempre se ven afectadas con ampollas y erosiones. Inicia entre 4 a 21 días después de la primera dosis del medicamento (Stern, 2012).

## 2.4. COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC) Y EL SISTEMA HLA (ANTÍGENO DE LEUCOCITOS HUMANOS)

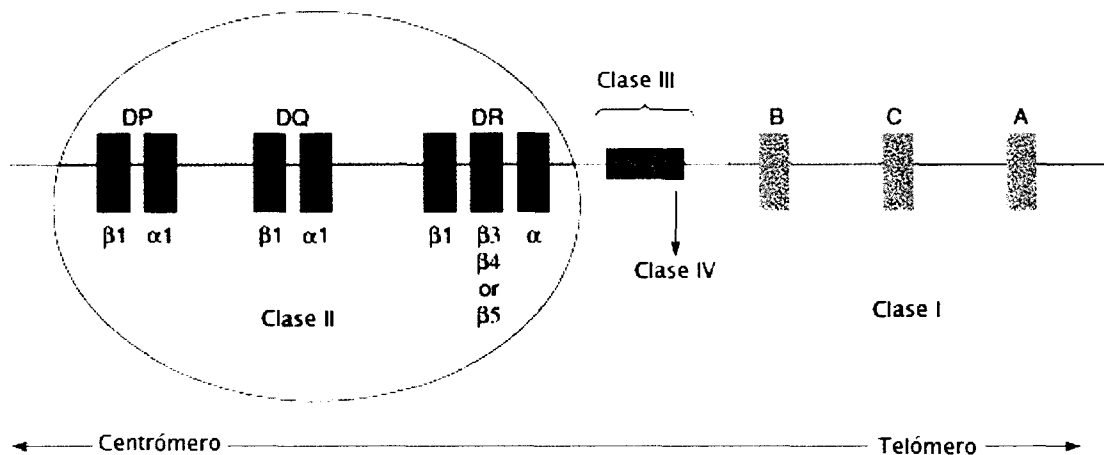
Los genes del MHC fueron identificados por primera vez en estudios donde se investigaba la razón de la destrucción de órganos y tejidos trasplantados de un individuo a otro siendo de la misma especie. Esto se debe a que existen ciertos antígenos del donador que son reconocidos por el organismo del receptor y activan el sistema inmunológico resultando en el ataque al tejido ajeno. Los antígenos responsables de este tipo de reactividad son precisamente las proteínas del MHC que presenta el donador (Mak y Saunders, 2006).

Los genes encargados de la histocompatibilidad de tejidos trasplantados están localizados en una región genética grande que contiene múltiples *loci*, por lo que es llamado “complejo”. Las moléculas codificadas por estos genes tienen un efecto importante en la histocompatibilidad, y para distinguirlas de las demás moléculas que tienen una participación menor en la histocompatibilidad, fueron nombradas como moléculas “principales” de histocompatibilidad. Por esta razón, a las moléculas codificadas por estos genes se les denominó “complejo principal de histocompatibilidad” y, debido a que se compone de múltiples *loci* y un individuo puede expresar una gran variedad de moléculas de MHC en sus células, es necesario agrupar estos alelos en haplotipos (Mak y Saunders, 2006).

Las proteínas del MHC y su capacidad de presentar antígenos parece ser una característica de inmunidad adaptativa exclusiva de los vertebrados, ya que todos los vertebrados estudiados hasta la actualidad poseen alguna forma de MHC. En los humanos la región del MHC se conoce como sistema HLA (Antígenos Leucocitarios Humanos) y está constituida por un grupo de genes que se localizan en la región cromosómica 6p21 (Godorezky *et al.*, 2012). Este complejo participa en la regulación de la respuesta inmunológica, principalmente en el reconocimiento de antígenos, su procesamiento y presentación a linfocitos CD4+ por HLA clase II o a linfocitos CD8+ por parte de HLA clase I (Morais *et al.*, 2008). Los genes de HLA son los más polimórficos del genoma humano, y el estudio de los mismos es importante en aspectos de evolución, diversidad humana, asociación y susceptibilidad a enfermedades, y en genética de poblaciones (Barquera *et al.*, 2008).

El MHC está dividido de manera arbitraria en tres regiones designadas como región de clase I, II (que en conjunto forman el sistema clásico) y III, que abarcan alrededor de 120 *loci* y cerca de cuatro megabases (Mb) de ADN. La región de clase I se encuentra en el extremo más telomérico del MHC, ocupa casi 2 Mb y se conocen 25 *loci*, aunque se calcula que podrían ser

más de 50. La región de clase II es la más centromérica del MHC, tiene una extensión de aproximadamente 0.8 Mb y contiene 34 *loci*. La región de clase III está distribuida entre los genes de clase I y de clase II, ocupa 2.2 Mb y comprende unos 63 *loci*. El cuarto subgrupo (clase IV) se ha identificado más recientemente y también tiene participación en la inmunidad. Se calcula que cerca del 10% de la secuencia de ADN del MHC codifica para proteínas funcionales, y el 90% restante se desconoce su función (Figura 3) (Acevedo-Whitehouse y Cunningham, 2006; Granados *et al.*, 2012).

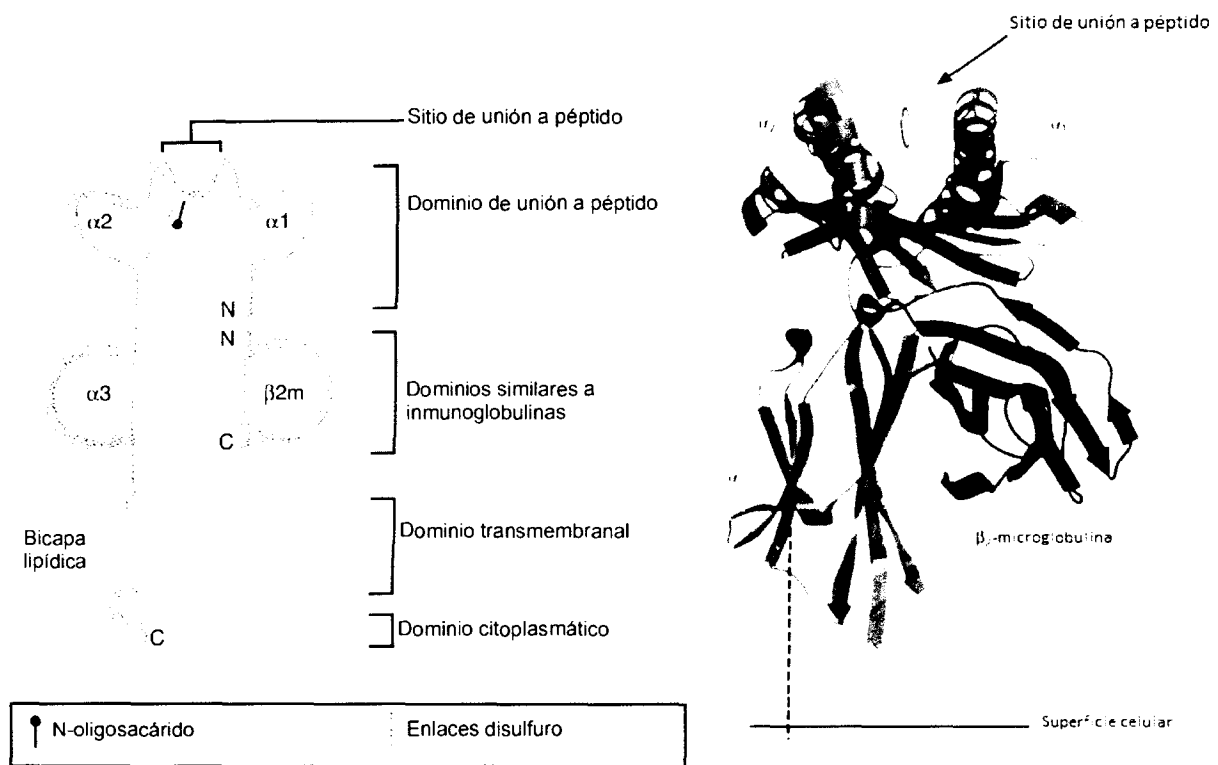


**Figura 5.** Esquema de localización de los genes de HLA.  
(Modificado de Acevedo-Whitehouse y Cunningham, 2006).

En la nomenclatura para los genes HLA clase II, la primera letra (D) identifica el gen (*locus*), la segunda especifica a la familia de donde proviene (P, Q, R) y la tercera indica el tipo de gen (A para  $\alpha$  y B para  $\beta$ ). El primer número que sigue a estas tres letras especifica el *locus*, y el resto denota el alelo, separados por un asterisco (\*). La nomenclatura de los genes HLA de clase I se rige de manera similar a los de HLA clase II, lo que difiere es el número de *locus*, por ejemplo, HLA-A\*02:01, la cual es el alelo I del *locus* A2 (Marsh *et al.*, 2010; Tait, 2011; Granados *et al.*, 2012; IMGT®, 2013).

Ambas clases de genes I y II están divididos en exones e intrones; el gen completo, excepto su región reguladora, es transcrito en ARN, pero los intrones se eliminan durante el proceso de la transcripción. Cada gen de clase I consiste en 6 o 7 exones, el exón 1 abarca la región 5' no traducida y un pequeño espacio de ADN que codifica el péptido líder. Este péptido es el

responsable del paso de la proteína a través de la membrana durante la síntesis en el retículo endoplásmico; después de esto, el péptido líder es eliminado y no aparece en la proteína madura. Los exones 2, 3 y 4 codifican para los dominios:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$  respectivamente. Los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  contienen los sitios que unen a los péptidos producidos durante el procesamiento de otras proteínas, denominados dominios fijadores del péptido. El dominio  $\alpha 3$  tiene una estructura característica de las moléculas de inmunoglobulina, por lo que es llamada dominio semejante a inmunoglobulina. El exón 5 codifica para la región transmembranal de la molécula. Los exones E6 y E7 codifican para el dominio citoplásmico (Figura 4) (Granados *et al.*, 2012).



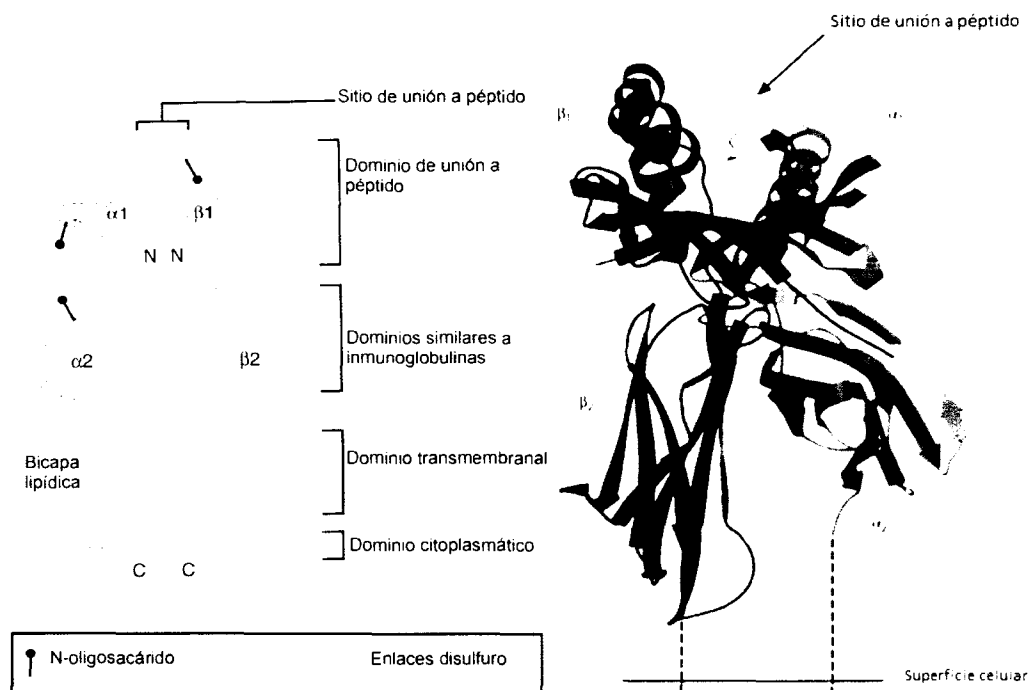
**Figura 6.** Estructura de proteína del MHC clase I.

(Izquierda: Modificada de Mak y Saunders, 2006; Derecha: Modificada de Achour, 2001).

Respecto a los genes de clase II, los genes A constan de cinco exones, y los genes B de seis. En ambos genes el exón 1 contiene a la región 5' no traducida y la secuencia que codifica al péptido líder; el exón 2 codifica el dominio  $\alpha 1$  (genes A) o el  $\beta 1$  (genes B), los cuales forman la región captadora del péptido de la molécula clase II. El exón 3 codifica para los dominios ( $\alpha 2$  y

$\beta 2$ ); los exones restantes codifican para el péptido conexión, la región transmembranal y citoplasmática (Figura 5) (Granados *et al.*, 2012).

Las moléculas HLA de clase I se expresan en la mayor parte de las células somáticas, excepto en neuronas, células del páncreas exocrino, células del miocardio, espermatozoides en ciertas etapas de desarrollo, ciertas células de la placenta, óvulos no fertilizados y en células de embriones recién formados. Entre todas las células somáticas adultas, los linfocitos T y B expresan niveles altos de moléculas clase I, siendo su función presentar péptidos endógenos al receptor de células T CD8+, por lo que es un sistema importante para el reconocimiento inmunológico de péptidos provenientes de agentes infecciosos intracelulares, uno de los factores que puede aumentar la expresión de esta clase de moléculas. Por su parte, la expresión de moléculas HLA clase II se limita a las células inmunocompetentes, como los linfocitos B, células T activadas, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans y epitelio tímico, en donde se encargan de presentar péptidos exógenos a los linfocitos CD4+ para su reconocimiento inmunológico (Granados *et al.*, 2012).



**Figura 7.** Estructura de proteína del MHC clase II.

(Izquierda: Modificada de Mak y Saunders, 2006; Derecha: Modificada de Achour, 2001).

El MHC se hereda siguiendo la primera ley de Mendel y su expresión es autosómica codominante. Los genes se heredan en bloque (haplotipo), formado por la combinación de

alelos presentes en cada gen HLA del cromosoma. Los alelos que forman parte de un haplotipo se encuentran en desequilibrio de ligamiento, es decir, se encuentran juntos en la población con una frecuencia mayor a la esperada de acuerdo a sus frecuencias individuales. En una familia hay cuatro haplotipos posibles, dos de origen paterno y dos materno. Durante la gametogénesis, los cromosomas se segregan al azar por lo que hay cuatro combinaciones posibles que pueden heredarse en los hijos. En algunas ocasiones, durante la gametogénesis ocurren casos de recombinación entre el par de haplotipos de unos de los padres, lo que da lugar a la formación de un nuevo haplotipo compuesto; no obstante, la frecuencia de recombinación entre los *loci* HLA es muy baja, calculada en menor al 1%. En la descendencia hay 25% de probabilidades que los hijos sean iguales en ambos haplotipos, 25% de que sean diferentes y 50% de que compartan uno de ellos entre sí (Godorezky *et al.*, 2012).

#### **2.4.1. Polimorfismos del MHC**

La región MHC es la más polimórfica del genoma. En el ser humano hay un total de 6603 alelos descritos hasta el momento que codifican un total de 5608 proteínas. Este polimorfismo está relacionado con el papel fundamental que desempeñan estas moléculas en la defensa inmunológica contra agentes patógenos, en donde se favorece la selección de alelos raros (Godorezky *et al.*, 2012). Se han descrito 1756, 2338 y 1304 alelos de *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C*, respectivamente; y para los *loci HLA-DRB1-DQA1*, *-DQB1-DPB1*, *DPA1* se han descrito 1052, 47, 162, 73 y 33 alelos (Granados *et al.*, 2012).

La variabilidad de los *loci* de clase II del MHC se localiza en el exón 2, mientras que en los genes de clase I el polimorfismo predomina en los exones 2 y 3. Además, dentro de esos exones la variabilidad se concentra en ciertos sitios, mientras que el resto de la secuencia permanece constante (Granados *et al.*, 2012).

Existen pocos estudios en la población mestiza mexicana sobre los alelos más comunes y su variabilidad a lo largo de la República Mexicana, ya que dependiendo de la zona estudiada la frecuencia alélica puede variar significativamente, asimismo si se trata de grupos indígenas. Sin embargo, Barquera y colaboradores (2008) realizaron un estudio en 191 familias (381 individuos no relacionados) del centro y norte del país, y reportaron como alelos más frecuentes los siguientes: en clase I *HLA-A\*02*, *-A\*24* y *-A\*68*; *HLA-B\*35*, *-B\*39* y *-B\*51*; para el sistema HLA clase II: *HLA-DRB1\*04*, *-DRB1\*08*, *-DRB1\*07*, *-DQB1\*03:02*, *-DQB1\*03:01* y *-DQB1\*02:01*. Asimismo, es importante mencionar otro estudio de Williams y su grupo de trabajo internacional (2001), en donde analizaron alelos de *HLA-B* de poblaciones de los cinco

continentes, se encontraron alelos únicos para la población mestizo mexicana: *HLA-B\*15:08*, -*B\*15:09*, -*B\*15:24*, -*B\*15:39*, -*B\*35:16*, -*B\*35:17*, -*B\*39:08* y -*B\*40:03*.

Además de que los *loci* de MHC son altamente polimórficos, también se encuentran ligados entre sí, esto es, que un conjunto de alelos específico de todos los *loci* de MHC son heredados en bloque a las siguientes generaciones (Mak y Saunders, 2006). Así, en México también se tienen ciertos haplotipos que se pueden encontrar con mayor frecuencia en la población mestiza mexicana: en Ciudad de México, *HLA-A\*02-B\*39-DRB1\*04-DQB1\*03:02*; *HLA-A\*68-B\*39-DRB1\*04-DQB1\*03:02*; *HLA-A\*24-B\*35-DRB1\*04-DQB1\*03:02*; en el estado de Puebla, *HLA-A\*02-B\*35-DRB1\*08-DQB1\*04*; *HLA-A\*02-B\*39-DRB1\*16-DQB1\*03:01*; y al norte del país en el estado de Sinaloa, *HLA-A\*24-B\*39-DRB1\*04-DQB1\*03:02*; *HLA-A\*02-B\*15:01-DRB1\*04-DQB1\*03:02* (Barquera *et al.*, 2008).

## 2.5. FARMACOGENÉTICA DE LAS RAMc

La farmacogenética estudia las variaciones hereditarias que afectan a la respuesta individual a los fármacos, con el objetivo de predecir la respuesta farmacológica (López-López *et al.*, 2004) y en el caso específico de las RAMc, poder prevenir y evitar este tipo de reacciones proporcionando una mayor seguridad del tratamiento prescrito.

Las RAMc son reacciones mediadas por el sistema inmunológico del organismo y están asociadas a cifras considerables de morbilidad y mortalidad. Es por ello que en los últimos años los estudios de hipersensibilidades a fármacos se han centrado en el sistema HLA y las variaciones genéticas del mismo gen que puedan ayudar a excluir pacientes de este tratamiento, que sean portadores del alelo de riesgo (Pavlos *et al.*, 2012).

De esta manera, existen algunos reportes de asociación entre alelos de HLA y RAMc por diversos medicamentos, que además ya están incluidos en las advertencias y/o recomendaciones como parte de la información proporcionada por la FDA. Algunos de los alelos ya estudiados son: *HLA-B\*58:01* para RAMc por alopurinol en chinos Han, *HLA-B\*57:01* por abacavir en población caucásica, *HLA-B\*35:05* para nevirapina en tailandeses, *HLA-B\*38* para sulfametoxazol en pacientes de origen europeo, entre otros. En el caso de los antiepilépticos, el alelo *HLA-B\*15:02* se ha asociado con RAMc inducido por CBZ en chinos Han, en otros estudios también se asocia con reacciones de hipersensibilidad producidas por



LTG, FNT y OXC, *HLA-A\*31:01* en poblaciones japonesas y del norte de Europa, entre otros (Aihara *et al.*, 2011; Pavlos *et al.*, 2012).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Varios estudios han reportado una asociación positiva entre algunas variantes alélicas de *HLA* y el desarrollo de reacciones adversas cutáneas a medicamentos, que dependen del origen de la población estudiada, el tipo de reacción desarrollada y el fármaco causante de dicha reacción. En México se desconoce esta información, por lo que es importante identificar las frecuencias de los alelos de *HLA-A*, *-B* y *-C* en pacientes bajo tratamiento de fármacos antiepilépticos que hayan presentado este tipo de reacciones adversas. Este conocimiento conducirá a un uso más seguro de estos fármacos, al utilizarlos como marcadores genéticos para la prevención de reacciones adversas cutáneas.

#### 4. HIPÓTESIS

La presencia de algún alelo de *HLA-A*, *-B* y *-C* está asociada a la manifestación de reacciones adversas cutáneas por fármacos antiepilépticos y la frecuencia de estos alelos en pacientes mestizos mexicanos son diferentes a las reportadas en otras poblaciones.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar los genotipos de *HLA-A*, *B* y *C* y su asociación con la presencia de reacciones adversas cutáneas en pacientes bajo tratamiento con antiepilépticos.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Establecer el genotipo para *HLA-A*, *-B* y *-C* en pacientes que presenten reacciones adversas cutáneas por fármacos antiepilépticos, y en aquellos que toleren la administración de estos fármacos sin desarrollar RAMc.
2. Evaluar si existe relación entre el genotipo de *HLA-A*, *-B* y *-C* y el desarrollo de reacciones adversas cutáneas a fármacos antiepilépticos.
3. Comparar los resultados de genotipos y haplotipos obtenidos en la muestra estudiada con lo reportado para otras poblaciones.

## 6. SUJETOS Y MÉTODOS

### 6.1. SUJETOS

Se estudiaron muestras de ADN genómico provenientes de dos grupos de pacientes de población mestizo mexicana: un grupo de casos que incluía 18 pacientes que presentaron RAMc por algún antiepiléptico y el grupo de comparación constituido de 18 pacientes que no hubieran desarrollado RAMc (tolerantes) a los mismos FAEs. Las características de los pacientes se muestran en la Tabla 2. Todos los individuos firmaron carta de consentimiento informado (Carta de Consentimiento Informado en Anexo 1). En ambos grupos se recolectó la información con respecto a diagnóstico, tratamiento farmacológico, presencia de RAMs y RAMc, lugar de procedencia. Adicionalmente, el grupo de casos respondieron el Algoritmo de Naranjo. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (INNNMVS) (No. 41/12).

**Tabla 2.** Características demográficas de los pacientes estudiados.

	<b>Grupo de Casos (Pacientes con RAMc a FAEs)</b>	<b>Grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)</b>
<b>Edad promedio (Rango de edad)</b>	36 ± 12 años (17-69) años	35 ± 13 años (17-65) años
<b>Hombres</b>	6 (33.3%)	8 (44.4%)
<b>Mujeres</b>	12 (66.7%)	10 (55.6%)
<b>Lugar de origen</b>	Distrito Federal: 7 Estado de México: 5 Michoacán: 2 Oaxaca: 1 Morelos: 1 Puebla: 1 San Luis Potosí: 1	Distrito Federal: 15 Guerrero: 2 Michoacán: 1
<b>RAMc por:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LTG: 11 pacientes</li> <li>• CBZ: 4 pacientes</li> <li>• FNT: 1 paciente</li> <li>• FNT y CBZ: 1 paciente</li> <li>• LEV: 1 paciente</li> </ul>	No aplica

Abreviaturas: LTG: Lamotrigina, CBZ: Carbamazepina, FNT: Fenitoína; LEV: Levetiracetam.

### **6.1.1. Criterios de Inclusión**

#### **6.1.1.1. Grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs)**

- Pacientes bajo tratamiento con FAEs que hayan desarrollado algún tipo de RAMc a cualquiera de ellos.
- Hombres y mujeres mestizos mexicanos (individuos con padres y abuelos mexicanos o con un sólo abuelo español).
- Edad mayor a 15 años.

#### **6.1.1.2. Grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)**

- Pacientes bajo tratamiento con FAEs y que no hayan desarrollado ningún tipo de RAMc a cualquiera de ellos.
- Hombres y mujeres mestizos mexicanos (individuos con padres y abuelos mexicanos o con un sólo abuelo español).
- Edad mayor a 15 años.
- Que hayan aceptado participar y firmado la carta de consentimiento informado.

### **6.1.2. Criterios de Exclusión**

#### **6.1.2.1. Grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs)**

- Pacientes que no acepten participar en el estudio.
- Pacientes extranjeros o con ascendencia diferente a la definición de mestizos mexicanos.
- Pacientes con polifarmacia en los que la presencia de reacción adversa cutánea sea debida a otros fármacos diferentes a los antiepilépticos.

#### **6.1.2.2. Grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs)**

- Pacientes que no acepten participar en el estudio.
- Pacientes extranjeros o con ascendencia diferente a la definición de mestizos mexicanos.

## **6.2. MÉTODOS**

### **6.2.1 Toma de muestra**

Se consideraron dos alternativas de toma de muestra a elección del paciente, a partir de los cuales se podía extraer ADN genómico: saliva o sangre.

#### **6.2.1.1. Toma de muestra de sangre periférica**

Se extrajeron 20 mL de sangre periférica con ACD (ácido cítrico, citrato y dextrosa) como anticoagulante. No se requirió que los pacientes tuvieran ayuno previo antes de la toma muestra. Los datos de los pacientes fueron registrados en una base de datos y se les asignó un código con el cual fueron identificadas cada una de las muestras (SJ-No. para muestras de pacientes y CSJ-No. para muestras del grupo de comparación). Las muestras fueron conservadas a 4°C hasta su procesamiento.

#### **6.2.1.2. Recolección de muestra de saliva**

Se utilizaron *kits* de recolección de ADN Oragene™, marca DNAgenotek, para obtener aproximadamente 2 mL de saliva de los pacientes. Al finalizar la recolección se mezcló con el agente conservador de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los datos de los pacientes fueron registrados en una base de datos y se les asignó un código con el cual fueron identificadas cada una de las muestras (SJ-No. para muestras de pacientes y CSJ-No. para muestras de individuos del grupo de comparación). Las muestras fueron conservadas a 4°C hasta su procesamiento.

### **6.2.2 Extracción de ADN genómico**

#### **6.2.2.1. A partir de muestra de sangre periférica**

En todos los casos se extrajo ADN genómico a partir de las muestras de sangre periférica mediante la siguiente técnica convencional:

1. Se dividió la muestra de sangre en alícuotas de 3 a 4 mL y se transfirieron a un tubo cónico de 15 mL.
2. Se adicionaron tres veces el volumen de BLGR (Buffer de Lisis de Glóbulos Rojos: cloruro de amonio 0.155 M, bicarbonato de potasio 10 mM, EDTA 0.1 mM).
3. Se agitó el tubo, invirtiendo varias veces para lisar los eritrocitos de la muestra.

4. Los tubos fueron centrifugados a 3,000 rpm por 6 minutos para posteriormente decantar el sobrenadante.
5. Se resuspendió el paquete de leucocitos en 1 mL de BLGR y se transfirió a un microtubo de 1.5 mL. La muestra fue agitada hasta homogenizar.
6. Los microtubos fueron centrifugados a 3,000 rpm por 2 minutos y posteriormente decantados, conservando el botón de leucocitos.
7. Se adicionó 1 mL de BLGR nuevamente a cada tubo con el paquete de leucocitos para resuspender la muestra. Esta operación se repitió hasta que se obtuvo un botón blanco, esto es un paquete de leucocitos libre de eritrocitos, evitando hacer más de 3 lavados para no perder muestra.
8. Se agregaron 570  $\mu$ L NaCl 5 mM y se agitó la muestra durante 2 minutos.
9. Posteriormente se adicionaron 40  $\mu$ L de SDS 10% (v/v) y se homogenizó la muestra durante 5 minutos.
10. Al término de este tiempo se añadieron 200  $\mu$ L de solución saturada de NaCl y se homogenizó la muestra durante 10 minutos.
11. A continuación las muestras fueron centrifugadas a 11,500 rpm por 20 minutos a 4°C.
12. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo de 1.5 mL.
13. Se adicionaron 600  $\mu$ L de una solución de cloroformo:alcohol isoamílico (49:1) a cada muestra y se homogenizaron manualmente.
14. Las muestras fueron centrifugadas a 14,000 rpm por 15 minutos.
15. Se transfirió la fase acuosa a un tubo de 1.5 mL y se adicionó etanol absoluto (600 a 800  $\mu$ L) para producir la precipitación del ADN.
16. Las muestras fueron homogenizadas lentamente verificando la presencia del material genético.  
Nota: en algunos casos las muestras se almacenaron a -20°C para favorecer la precipitación del ADN.
17. Los tubos con ADN fueron centrifugados a 14,000 rpm por 15 minutos y posteriormente se decantó el etanol.
18. Para el lavado del ADN se adicionaron 600  $\mu$ L de etanol al 70% y se homogenizaron manualmente hasta despegar el botón del fondo del microtubo.
19. Las muestras fueron centrifugadas a 14,000 rpm por 15 minutos y decantadas.
20. Para eliminar residuos de etanol y residuos de solventes orgánicos, el ADN fue secado en un concentrador con vacío por 20 minutos.



21. Finalmente cada muestra de ADN fue resuspendida en 200 ó 300  $\mu\text{L}$  de agua inyectable, y colocada en un *termomixer* 1 hora a 950 rpm con temperatura de 60°C para favorecer su disolución.

#### **6.2.2.2. A partir de muestra de saliva**

En todos los casos se extrajo ADN genómico a partir de las muestras de saliva de acuerdo a la técnica especificada en el inserto del producto.

1. A partir del recipiente de recolección de muestra, se transfirieron alícuotas de 1,000  $\mu\text{L}$  de saliva a microtubos de 1.5 mL.
2. Por cada volumen de 1,000  $\mu\text{L}$  se adicionaron 80  $\mu\text{L}$  del reactivo *Oragene Purifier (OG-L2P)* y se homogeneizaron en *vortex* durante unos segundos.
3. Las muestras fueron incubadas en baño de hielo durante 30 minutos.
4. Al transcurrir este tiempo, los microtubos fueron centrifugados 5 minutos a 13,000 rpm.
5. El sobrenadante fue transferido a un microtubo limpio y el botón con impurezas fue descartado.
6. Posteriormente, por cada 1,000  $\mu\text{L}$  de sobrenadante se adicionó un volumen igual de etanol absoluto a temperatura ambiente. Se homogenizó manualmente por inversión hasta que se observara la precipitación de ADN.

Nota: en algunos casos las muestras se almacenaron a -20°C para favorecer la precipitación del ADN.

7. Las muestras fueron centrifugadas a temperatura ambiente durante 2 minutos a 13,000 rpm.
8. El etanol fue decantado y las muestras fueron colocadas en un concentrador de vacío durante 20 minutos para eliminar residuos de solventes orgánicos.
9. Finalmente cada muestra de ADN fue resuspendida en 200 ó 300  $\mu\text{L}$  de agua inyectable, y colocada en un *termomixer* 1 hora a 950 rpm con temperatura de 60°C para favorecer su disolución.

#### **6.2.3. 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 120 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 el equipo NanoDrop 2000, marca Thermo Scientific. Asimismo con este equipo se verificó la pureza del ADN extraído mediante las relaciones de longitudes de onda 260/280 nm y 260/230 nm.

#### **6.2.4. Genotipificación de *HLA-A*, *-B* y *-C***

Para la identificación de los alelos de *HLA* se utilizaron placas de tipificación de ADN del *HLA* Micro SSP™ (*Sequence Specific Primers*) marca One Lambda Inc, (No. de catálogo SSP1L). Estos kits están validados por la ASHI (*American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*) y la ABHI (*American Board for Histocompatibility and Immunogenetics*).

Este método se basa en el uso de pares de oligonucleótidos diseñados para tener coincidencias específicas con un único alelo o un grupo de alelos. En condiciones de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) estrictamente controladas, los pares de oligonucleótidos específicos dan lugar a la amplificación de las secuencias diana (resultado positivo), mientras que los pares de oligonucleótidos no coincidentes no producen una amplificación (resultado negativo). Después del proceso de PCR, los fragmentos de ADN se separan por electroforesis en gel de agarosa y se visualizan por tinción con bromuro de etidio y exposición a la luz ultravioleta. La interpretación de los resultados se basa en la presencia o ausencia de amplificación de un fragmento específico. Debido a que diversos factores pueden afectar negativamente la amplificación (errores al pipetear, mala calidad del ADN, presencia de inhibidores, etc.), se incluye un par de oligonucleótidos como control interno en cada reacción de PCR; éstos amplifican una región conservada del gen de la  $\beta$ -globina humana, que se encuentra en todas las muestras de ADN. De esta manera por medio de 24 reacciones se determinan los alelos *HLA-A\*01:01:01* al *HLA-A\*80:02*; con 53 reacciones los alelos *HLA-B\*07:02* al *HLA-B\*83:01* y utilizando 18 reacciones se identifican los alelos *HLA-C\*01:02* al *HLA-C\*18:03*.

##### **6.2.4.1. Reacción de PCR**

Previo a la reacción de PCR, se consideraron los siguientes puntos:

- Las muestras de ADN deben tener una concentración de 175 ng/ $\mu$ L, con una pureza (relación 260/280 nm) entre 1.65 a 1.80 y en un volumen aproximado de 120  $\mu$ L.

- Atemperar la placa a utilizar la cual contiene los oligonucleótidos, tanto control como de prueba, liofilizados en los 96 pocillos de la misma; y descongelar el tubo de mezcla D-MIX Micro SSP™ compuesto por amortiguadores, dNTPs y cloruro de magnesio, necesarios para llevar a cabo la reacción.
- Mantener en hielo la ADN polimerasa *Taq* (5 U/μL) durante su uso.

Posteriormente se realizó la reacción de PCR siguiendo estos pasos:

1. Se mezclaron las muestras de ADN y el tubo de mezcla D-MIX Micro SSP™ utilizando un *vortex*.
2. Se colocó la placa de trabajo en una gradilla y se quitó la etiqueta que cubría cada uno de los pocillos.
3. Al pocillo de control negativo (H1) se adicionó 1 μL de diluyente de ADN, en este caso se utilizó agua inyectable.
4. A continuación, se adicionaron 5.6 μL de polimerasa al tubo de mezcla. Se mezcló en *vortex* durante 5 segundos y se centrifugó el tubo en una microcentrífuga para llevar al fondo del tubo la mezcla.
5. Se tomaron 9 μL de esta mezcla y se adicionaron al pocillo de control negativo de la placa.
6. Posteriormente, se adicionaron al tubo de mezcla 111 μL de ADN disuelto, con una concentración de 175 ng/μL. En caso de tener una concentración de ADN mayor se diluyó con agua inyectable.
7. Nuevamente el tubo de mezcla fue homogenizado en *vortex* por 5 segundos y centrifugado.
8. Se adicionó una alícuota de 10 μL de reacción a cada uno de los 95 pocillos restantes de la placa de trabajo, excepto en el pocillo de control negativo. Se tuvo especial cuidado en no introducir demasiado la punta de la micropipeta para no contaminar unos pocillos con otros.
9. Posteriormente, la placa fue cubierta cuidadosamente con las etiquetas auto-adheribles incluidas en el *kit* y marcadas con la muestra que se estaba trabajando.
10. La placa de trabajo fue centrifugada 1 minuto a 2000 rpm, para que todo el volumen de reacción se mezclara con los oligonucleótidos liofilizados en cada pocillo.

11. Finalmente, se colocó una almohadilla de presión sobre la placa, y se realizó la reacción en un termociclador marca Applied Biosystems, modelo 9700. El programa utilizado fue el siguiente:

No. de ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
<b>1</b>	96	2:10
	63	1:00
<b>9</b>	96	0:10
	63	1:00
<b>20</b>	96	0:10
	59	0:50
	72	0:30
<b>Fin</b>	4	∞

#### 6.2.4.2. Electroforesis en gel de agarosa

Para realizar la electroforesis en gel se utilizó el sistema de gel Micro SSP™ (No. de catálogo MGS108).

##### 6.2.4.2.1. Preparación del gel de agarosa al 2.5%

1. Se colocó la cubeta en la base del dispositivo de manera que coincidieran los huecos destinados a sujetar la base. Se fijó la cubeta a la base utilizando la clavija de fijación.
2. Utilizando la burbuja de nivelado se ajustó la base.
3. Se pesaron 1.25 g de agarosa y se disolvieron en 50 mL de solución amortiguadora TBE 1X, calentando 1:30 min en microondas para lograr la disolución.
4. La solución caliente fue vertida en la cubeta, se verificó que no existieran burbujas y se colocó rápidamente el soporte que contiene los peines de gel en la dirección adecuada (color negro del lado de la clavija de fijación y el color rojo del lado de la burbuja de nivelación).
5. Se dejó solidificar por 15 minutos y se retiraron los peines del gel quitando cuidadosamente el soporte completo.
6. Se añadieron entre 10 y 15 mL de solución amortiguadora TBE 1X de tal manera que cubriera todos los pocillos.

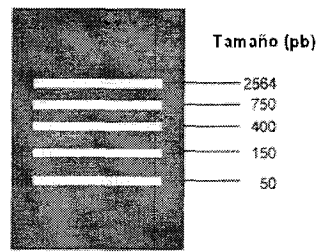
#### **6.2.4.2.2. Electroforesis**

1. Para cargar el gel se colocó en cada pocillo de la primera columna 4  $\mu\text{L}$  de marcador de peso (SSP-SM) marca One Lambda, Inc.
2. La placa fue orientada colocando el pocillo de control negativo (H1) en la esquina superior izquierda. Posteriormente se transfirió una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  de cada reacción de PCR contenido en cada uno de los pocillos por orden al gel, esto es, de izquierda a derecha y de arriba abajo.
3. La cubeta fue tapada con la cubierta del dispositivo y haciendo coincidir el código de colores. El sistema de gel fue conectado a una fuente de poder, y la electroforesis fue realizada a 140 voltios durante 5 minutos o hasta que se observara que el colorante había migrado 0.5 cm en el gel.
4. Al finalizar, el gel fue teñido directamente en bromuro de etidio durante 10 segundos y lavado en baño de agua durante 20 minutos.
5. Las fotos de los geles fueron tomadas utilizando el fotodocumentador marca Biorad, modelo ChemiDoc<sup>TM</sup> XRS+ System con el Software Image Lab<sup>TM</sup>, bajo la especificación de bandas tenues (*Faint bands*).

#### **6.2.4.3. Interpretación de resultados**

Para la identificación de las bandas se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

1. Siempre debía observarse una banda de control interno (de migración más lenta) en todos los pocillos negativos, excepto en el pocillo de control negativo, como control de una amplificación satisfactoria. De acuerdo al proveedor se aceptaron hasta tres bandas ausentes de control interno por placa para considerarla como válida.
2. Una banda de tipificación positiva se debía observar entre la banda de control de interno, la cual podía verse más tenue o incluso desaparecer, y la banda de restos de oligonucleótidos. Esta banda debía corresponder con el tamaño especificado en las hojas de trabajo Micro SSP<sup>TM</sup>, apoyándose del marcador de peso especial para su uso en el sistema de gel, ya que en un espacio de 0.5 cm y durante 5 minutos de aplicación de voltaje al gel, se alcanzan a separar 5 bandas con los siguientes tamaños en pares de bases: 50, 150, 400, 750 y 2564 (Figura 6).



**Figura 8.** Patrón de bandas esperado para el Marcador de peso en un gel de agarosa al 2.5% con TBE 1X, teñido con bromuro de etidio (Información del proveedor).

3. El número de pocillo con amplificación positiva para el par de oligonucleótidos específico, fue introducido en el *software HLA Fusion™* versión 2.0, para obtener los alelos de *HLA-A, B* y *C*. En caso de que el programa determinara ambigüedad entre los resultados, los alelos finales se determinaron de manera manual realizando el rayado en las hojas de trabajo (Anexo 2).

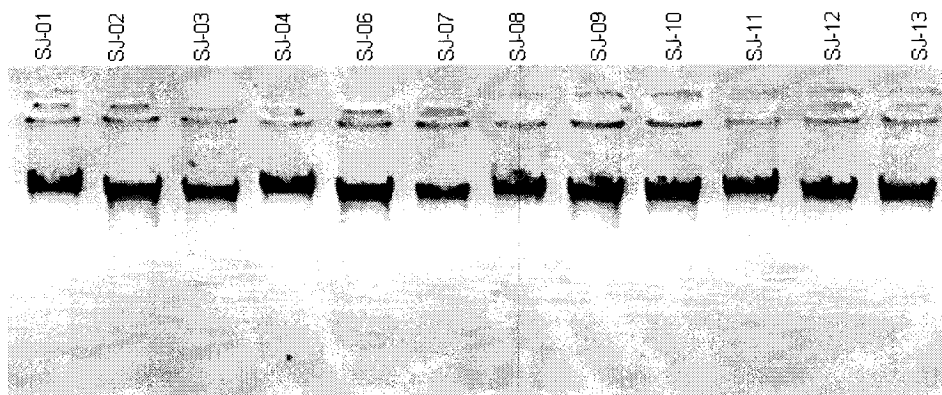
### 6.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se calcularon las frecuencias alélicas de cada uno de los alelos encontrados para *HLA-A, -B* y *-C* en pacientes con RAMc a FAEs y en pacientes tolerantes a los mismos. Los haplotipos fueron generados utilizando el software Arlequin y la base de datos Allele Frequency Net Database ([www.allelefrequencies.net](http://www.allelefrequencies.net)). Para determinar si existía diferencia entre las frecuencias de ambos grupos se utilizaron tablas de contingencia y se calcularon valores de Chi cuadrada, OR (*odds ratio*) y *p*, utilizando el software Epi Info™ 7.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Análisis cualitativo y cuantitativo de las muestras de ADN

El total de 36 muestras de ambos grupos de estudio fue analizado por electroforesis en gel de agarosa para verificar la integridad del ADN genómico. En todos los casos se observaron bandas de alto peso molecular y sin degradación, lo cual indica que el ADN se encuentra íntegro y en buena calidad para el análisis de genotipificación. En la figura 7 se muestra un gel representativo de prueba de integridad para 12 de las muestras estudiadas.

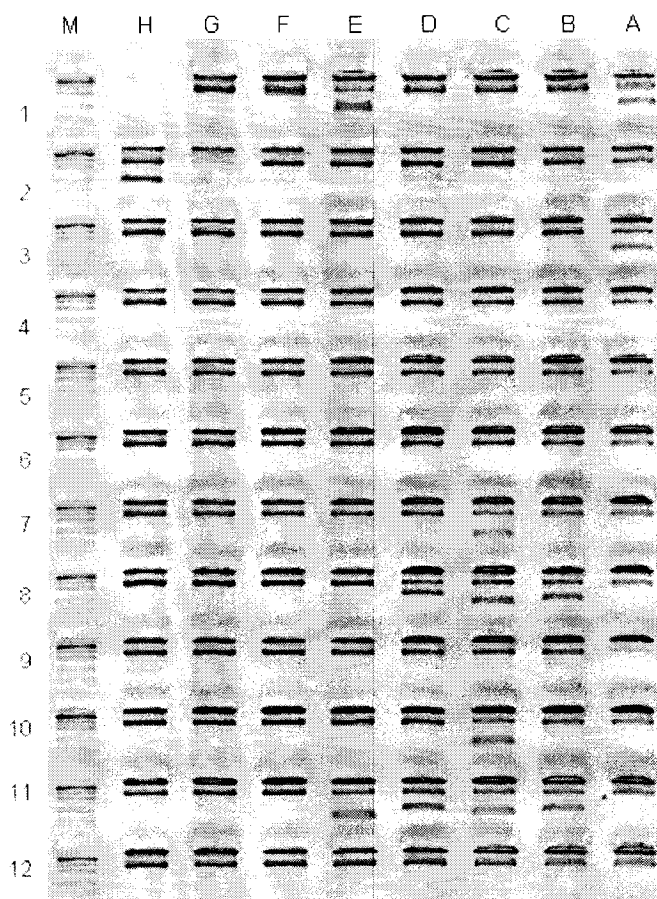


**Figura 9.** Imagen representativa de análisis de integridad de ADN por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X, teñido con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV.

Respecto al análisis espectrofotométrico de las muestras de ADN utilizando el equipo NanoDrop, se obtuvieron valores de relación 260/280 nm superiores a 1.65 y concentraciones de 170 a 300 ng/ $\mu$ L, en ambos casos de acuerdo a lo requerido para la genotipificación.

### 7.2. Genotipificación de *HLA-A*, *B* y *C*

Mediante esta técnica se determinaron los alelos de *HLA* clase I correspondientes a las muestras de ADN de ambos grupos. Después de la reacción de PCR se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2.5% en TBE para identificar los sitios en donde existiera amplificación positiva. En la figura 8 se observa el gel representativo de una muestra.



**Figura 10.** Fotografía de gel representativo de electroforesis de reacción de PCR para genotipificación de *HLA* clase I utilizando las placas Micro SSP™.

En el gel de la Figura 8 se observa el marcador de peso molecular en la primera columna de la izquierda. A continuación, el pocillo correspondiente al control negativo (H1) se encuentra sin bandas, lo cual es necesario para considerar a la placa como válida, ya que en este pocillo se coloca únicamente disolvente de ADN y mezcla de reacción. En cada uno de los pocillos se encuentra la banda de amplificación del control interno de *β-globina* de un tamaño de 750 pb. Las bandas de amplificación positiva se observan en algunos de los demás pocillos, por debajo de la banda de control interno. Los tamaños de estas bandas deben ser verificados de acuerdo a lo que se especifica en la hoja de trabajo (Figura 9).



	H	G	F	E	D	C	B	A	Tray Position
Well #	1	2	3	4	5	6	7	8	
bps	750	200	200	150-250	250	200	200	175-225	1
Well #	9	10	11	12	13	14	15	16	
bps	200-225	75	175	75-100	125-150	175	100	200	2
Well #	17	18	19	20	21	22	23	24	
bps	175	200	100	175-200	150	175-200	350	175	3
Well #	25	26	27	28	29	30	31	32	
bps	125-175	150	200	100	100-225	75	125	150	4
Well #	33	34	35	36	37	38	39	40	
bps	100	175	225-250	100-250	175	200	200	175	5
Well #	41	42	43	44	45	46	47	48	
bps	125	150	75	100	125-150	200	100	175	6
Well #	49	50	51	52	53	54	55	56	
bps	225	150	100	250	125	125	200	175	7
Well #	57	58	59	60	61	62	63	64	
bps	225	100-225	225	150-200	275	125	175	100-200	8
Well #	65	66	67	68	69	70	71	72	
bps	300	100-125	150	125	125	150	200	150	9
Well #	73	74	75	76	77	78	79	80	
bps	150	100	100	225	150	100	150-225	150	10
Well #	81	82	83	84	85	86	87	88	
bps	275	250	200	100-275	175-225	125	150	125	11
Well #	89	90	91	92	93	94	95	96	
bps	200	150	150	250	100	200	125	100	12

**Figura 11.** Sección de la hoja de trabajo en donde se indican los pesos correspondientes a bandas de amplificación positiva observadas en el gel (Figura 8).

Estos resultados fueron introducidos al *software* HLA Fusion v.2.0 y éste proporcionó las primeras discriminaciones para determinar los alelos de HLA-A, -B y -C; así mismo, fue realizado el rayado de las hojas de trabajo para determinar los alelos completos. Para el ejemplo mostrado en las figuras 8 y 9, los alelos fueron: HLA-A\*02:01:01/A\*24:02:01, -B\*35:01:01/B\*18:01:01, -C\*04:01:01/C\*05:01:01.

### 7.3. Análisis estadístico de los resultados

#### 7.3.1. Alelos de HLA identificados en los pacientes (grupo de casos)

Al realizar el estudio en pacientes se identificaron 8 alelos de HLA-A, 21 de HLA-B y 12 de HLA-C. En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos, el FAE que causó la RAMc, las características de la RAMc y la puntuación del Algoritmo de Naranjo para la evaluación de la causalidad de la RAMc.

**Tabla 3.** Resultados obtenidos en el grupo de casos (Pacientes con RAMc a FAEs).

No. paciente (Código)	<sup>1</sup> FAE causante de RAMc	<sup>1</sup> FAEs a los que es tolerante	Tipo de RAMc	<sup>2</sup> Puntuación Algoritmo de Naranjo	Alelos HLA-A	Alelos HLA-B	Alelos HLA-C	Haplotipos
1 (SJ-02)	LTG Pregabalina y gabapentina	VPA y LEV	Rash moderado	5	A*02:01:01 A*24:02:01	B*35:01:01 B*18:01:01	C*04:01:01 C*05:01:01	A*02/B*35/C*04 A*24/B*18/C*05

No. paciente (Código)	<sup>1</sup> FAE causante de RAMc	<sup>1</sup> FAEs a los que es tolerante	Tipo de RAMc	<sup>2</sup> Puntuación Algoritmo de Naranja	Alelos HLA-A	Alelos HLA-B	Alelos HLA-C	Haplotipos
2 (SJ-03)	LTG	VPA	Reacción a fármacos de tipo morbilliforme, involucra mucosas	5	A*24:02:01 A*01:01:01	B*39:01:01 B*57:01:01	C*06:02:01 C*07:02:01	A*24/B*39/C*06 A*01/B*57/C*07
3 (SJ-06)	LTG	Primidona y FNT	Síndrome de Stevens-Johnson	7	A*68:01:02 A*02:01:01	B*39:01:01 B*40:02:01	C*03:02:01 C*07:02:01	A*68/B*39/C*03 A*02/B*40/C*07
4 (SJ-08)	LTG	CBZ y VPA	Eritema y pápulas en la cara	7	A*03:01:01 A*31:01:02	B*58:01:01 B*15:05:01	C*06:02:01 C*01:02:01	A*03/B*58/C*06 A*31/B*15/C*01
5 (SJ-10)	LTG	VPA y LEV	Rash en todo el cuerpo, afectó mucosa oral con sangrado	11	A*02:01:01 A*02:01:01	B*35:01:01 B*35:01:01	C*04:01:01 C*04:01:01	A*02/B*35/C*04 A*02/B*35/C*04
6 (SJ-11)	LTG	CBZ	Afectación de mucosa oral, labio y faringe (No piel)	3	A*02:01:01 A*02:01:01	B*35:01:01 B*35:02:01	C*04:01:01 C*04:01:01	A*02/B*35/C*04 A*02/B*35/C*04
7 (SJ-12)	LTG	Clonazepam, VPA, LEV, CBZ	Rash urticariforme	5	A*68:01:02 A*29:01:01	B*27:05 B*44:02:01	C*02:02:02 C*16:01:01	A*68/B*27/C*02 A*29/B*44/C*16
8 (SJ-13)	LTG	VPA	Erupción cutánea	5	A*24:02:01 A*30:02:01	B*39:01:01 B*50:01:01	C*06:02:01 C*07:02:01	A*24/B*39/C*06 A*30/B*50/C*07
9 (SJ-14)	LTG	CBZ, VPA	Rash	5	A*02:01:01 A*68:01:02	B*35:01:01 B*44:02:01	C*04:01:01 C*18:01:01	A*02/B*35/C*04 A*68/B*44/C*18
10 (SJ-19)	LTG	VPA	Rash en cara, abdomen, piernas, brazos y espalda. Sangrado de mucosa oral	7	A*68:01:02 A*68:01:02	B*39:01:01 B*40:02:01	C*03:02:01 C*07:02:01	A*68/B*39/C*03 A*68/B*40/C*07
11 (SJ-20)	LTG	LEV	Descamación en cara, párpados y piernas	7	A*02:01:01 A*02:01:01	B*15:01:01 B*52:01:02	C*03:03:01 C*03:02:01	A*02/B*15/C*03 A*02/B*52/C*03
12 (SJ-04)	CBZ	FNT y primidona	Rash grave	6	A*02:01:01 A*31:01:02	B*35:01:01 B*40:03	C*04:01:01 C*03:02:01	A*02/B*35/C*04 A*31/B*40/C*03
13 (SJ-16)	CBZ	FNT	Prurito generalizado	8	A*01:01:01 A*01:01:01	B*57:01:01 B*58:01:01	C*07:02:01 C*06:02:01	A*01/B*57/C*07 A*01/B*58/C*06
14 (SJ-17)	CBZ	LTG, TPM, clobazam, y FNT	Rash moderado en cuerpo	5	A*24:02:01 A*31:01:02	B*39:06 B*50:01:01	C*06:02:01 C*07:02:01	A*24/B*39/C*06 A*31/B*50/C*07
15 (SJ-18)	CBZ	VPA y primidona	Úlceras en tracto GI, garganta y esófago	7	A*02:01:01 A*01:01:01	B*35:02:01 B*37:01:01	C*04:01:01 C*12:03:01	A*02/B*35/C*04 A*01/B*37/C*12
16 (SJ-07)	FNT	LEV	Rash leve intermitente	6	A*02:01:01 A*03:01:01	B*14:02:01 B*49:01:01	C*08:01 C*07:02:01	A*02/B*14/C*08 A*03/B*49/C*07
17 (SJ-01)	FNT y CBZ	LEV y VPA	Rash generalizado en todo el cuerpo, afectación en manos y genitales	7	A*02:01:01 A*68:01:02	B*51:01 B*48:01:01	C*08:01 C*08:01	A*02/B*51/C*08 A*68/B*48/C*08
18 (SJ-09)	LEV	*	Pénfigo	4	A*02:01:01 A*02:01:01	B*35:02:01 B*14:01:01	C*04:01:01 C*12:03:01	A*02/B*35/C*04 A*02/B*14/C*12

<sup>1</sup> Abreviaturas: LTG: Lamotrigina; FNT: Fenitoína; CBZ: Carbamazepina; LEV: Levetiracetam; TPM: Topiramato; VPA: Ácido Valproico. GI: gastrointestinal

<sup>2</sup> Las categorías correspondientes a la puntuación total son: >9 (RAMc segura); 5-8 (RAMc probable); 1-4 (RAMc posible); 0 (Improbable). (WHO, 2013).

\* El paciente era tratado por un glioblastoma, por lo que el resto de sus medicamentos eran antitumorales, antieméticos y antidepressivos.

Los FAEs LTG, CBZ y FNT, entre otros, pertenecen al grupo terapéutico de anticonvulsivantes amino-aromáticos, en los que se ha estudiado la relación que existe entre la estructura química de los mismos con una mayor incidencia de RAMc (Figura 1). Ellos proponen que la formación del metabolito resultante de la oxidación es el inductor de este tipo de reacciones adversas (Figura 2) (Wang, *et al.*, 2011). No obstante esto debe ser tomado con reserva, puesto que la oxcarbazepina no forma el metabolito epóxido y también se ha reportado como causante de RAMc (Hu *et al.*, 2011).

En el estudio presente se tuvieron 11 casos de RAMc por LTG (61.1 %), 4 por CBZ (22.2%), 1 por FNT (5.6%), 1 por FNT y CBZ (5.6%) y 1 por levetiracetam (5.5%), por lo que en la muestra de población estudiada, la mayoría de las RAMc son causadas por LTG. Este dato contrasta con otros estudios que reportan una mayor incidencia de RAMc por FNT en Nueva York (Arif *et al.*, 2007) o CBZ en Reino Unido y Corea (Jeung *et al.*, 2010; Andrew *et al.*, 2012). Estas diferencias pueden ser debidas al origen de las poblaciones estudiadas o también a la frecuencia con que estos FAEs son prescritos, aunque todos ellos son considerados tratamiento de primera línea por lo que su prescripción no aparentaría ser muy diferente. Por ejemplo, en el reporte de Arif y colaboradores (2007) se tienen 1,037 pacientes bajo tratamiento con LTG, 655 con CBZ y 538 con FNT; mientras que en el trabajo de Andrew y su equipo de trabajo (2012) son 46 pacientes tratados con CBZ, 42 con LTG y 37 con LEV.

El paciente que presentó RAMc por FNT y CBZ es un ejemplo de la recomendación que se hace en la literatura en donde se explica que cuando se presentan este tipo de reacciones por FAEs aromáticos es mejor cambiar a una alternativa que no pertenezca al mismo grupo debido a lo mencionado anteriormente (Stern, 2012).

Por otro lado, levetiracetam se había considerado como una alternativa segura para los pacientes que habían desarrollado RAMc por algún FAE aromático. Sin embargo, ya han sido descritos algunos casos de este tipo de reacciones bajo tratamiento con LEV (Zou *et al.*, 2012; Duong *et al.*, 2013), de manera similar al paciente de este estudio.

En cuanto a los tipos de RAMc que desarrollaron los pacientes estudiados, sólo un caso fue de SSJ, y los demás fueron de severidad leve a moderada. Los diagnósticos precisos fueron difíciles de establecer, ya que, en muy pocos casos, los pacientes acudieron al Servicio de Urgencias del INNNMVS para ser atendidos, y de ellos sólo algunos fueron enviados a interconsulta con el área de Dermatología. No obstante, las características de las RAMc en los casos estudiados mostraron ser diversas, con afectaciones de distinto grado de severidad en

extremidades, cara, genitales y mucosa oral, en donde varios pacientes indicaron haber presentado sangrados orales.

Respecto al Algoritmo de Naranja, la puntuación obtenida estuvo comprendida entre 3 y 11, lo que indica que en los casos estudiados las RAMc fueron posibles, probables o seguras por el FAE especificado. Este algoritmo ayuda a evaluar que la aparición de cualquier reacción adversa a medicamentos es debida al fármaco administrado y no a otro tipo de causas como alimentos, interacción medicamentosa, etc. Valores más altos no es posible obtener debido a que hay algunos parámetros que no eran posibles de evaluar, por ejemplo: niveles plasmáticos del fármaco, puesto que el paciente en cuanto presenta la reacción suspende el tratamiento y es probable que regrese a consulta en el INNMMVS mucho tiempo después. Otra pregunta indica si la RAMc fue confirmada por medio de pruebas objetivas o administrando el fármaco nuevamente, lo cual era imposible hacer por la seguridad del paciente.

### 7.3.2. Alelos de HLA encontrados en el grupo de comparación

En el grupo de pacientes que no presentaron RAMc a FAEs se identificaron 10 alelos de *HLA-A*, 17 para *HLA-B* y 11 de *HLA-C*. En la Tabla 4 se muestran los alelos encontrados para cada individuo del grupo de comparación, así como los fármacos antiepilépticos bajo los cuales han sido tratados sin haber presentado RAMc.

**Tabla 4.** Resultados obtenidos en el grupo de comparación (Pacientes sin RAMc a FAEs).

No. Individuo (Código)	FAEs a los que es tolerante	Alelos <i>HLA-A</i>	Alelos <i>HLA-B</i>	Alelos <i>HLA-C</i>	Haplotipos
1 (Ctrl. SJ-01)	FNT, CBZ y LEV	A*02:01:01 A*32:01	B*35:01:01 B*55:01:01	C*04:01:01 C*03:02:01	A*02/B*35/C*04 A*32/B*35/C*03
2 (Ctrl. SJ-02)	LTG, VPA, CBZ, LEV	A*02:01:01 A*25:01:01	B*18:01:01 B*50:01:01	C*12:03:01 C*06:02:01	A*02/B*18/C*12 A*25/B*50/C*06
3 (Ctrl. SJ-03)	LTG, VPA	A*24:02:01 A*02:01:01	B*45:01:01 B*51:01	C*16:01:01 C*14:02:01	A*24/B*45/C*16 A*02/B*51/C*14
4 (Ctrl. SJ-04)	FNT, CBZ y primidona	A*68:01:02 A*02:01:01	B*39:01:01 B*50:01:01	C*06:02:01 C*07:02:01	A*68/B*39/C*06 A*02/B*50/C*07
5 (Ctrl. SJ-06)	LTG, CBZ y TPM	A*02:01:01 A*25:01:01	B*15:08 B*45:01:01	C*06:02:01 C*01:02:01	A*02/B*15/C*06 A*25/B*45/C*01
6 (Ctrl. SJ-07)	FNT y CBZ	A*02:01:01 A*24:02:01	B*18:01:01 B*40:01:01	C*12:03:01 C*04:01:01	A*02/B*18/C*12 A*24/B*40/C*04
7 (Ctrl. SJ-08)	LTG, VPA, CBZ	A*68:01:02 A*02:01:01	B*39:01:01 B*40:02:01	C*03:02:01 C*07:02:01	A*68/B*39/C*03 A*02/B*40/C*07
8 (Ctrl. SJ-09)	LTG y LEV	A*02:01:01 A*68:01:02	B*35:02:01 B*39:01:01	C*04:01:01 C*07:02:01	A*02/B*35/C*04 A*68/B*39/C*07

No. Individuo (Código)	<sup>1</sup> FAEs a los que es tolerante	Alelos HLA-A	Alelos HLA-B	Alelos HLA-C	Haplotipos
9 (Ctrl. SJ-10)	LTG, VPA y CBZ	A*02:01:01 A*33:01:01	B*35:02:01 B*14:02:01	C*04:01:01 C*08:01	A*02/B*35/C*04 A*33/B*14/C*08
10 (Ctrl. SJ-11)	LTG, CBZ, VPA y clonazepam	A*02:01:01 A*01:01:01	B*51:01 B*49:01:01	C*07:02:01 C*16:01:01	A*02/B*51/C*07 A*01/B*49/C*16
11 (Ctrl. SJ-12)	LTG, VPA y CBZ	A*01:01:01 A*02:01:01	B*08:01:01 B*18:01:01	C*07:02:01 C*05:01:01	A*01/B*08/C*07 A*02/B*18/C*05
12 (Ctrl. SJ-13)	LTG y VPA	A*68:01:02 A*31:01:02	B*39:01:01 B*39:01:01	C*07:02:01 C*07:02:01	A*68/B*39/C*07 A*31/B*39/C*07
13 (Ctrl. SJ-14)	LTG y CBZ	A*02:01:01 A*02:01:01	B*35:02:01 B*15:08	C*04:01:01 C*01:02:01	A*02/B*35/C*04 A*02/B*15/C*01
14 (Ctrl. SJ-16)	LTG, CBZ y FNT	A*32:01 A*02:01:01	B*40:02:01 B*50:01:01	C*06:02:01 C*06:02:01	A*32/B*40/C*06 A*02/B*50/C*06
15 (Ctrl. SJ-17)	LTG, FNT y CBZ	A*02:01:01 A*24:02:01	B*35:01:01 B*39:01:01	C*04:01:01 C*07:02:01	A*02/B*35/C*04 A*24/B*39/C*07
16 (Ctrl. SJ-18)	LTG, VPA y CBZ	A*68:01:02 A*29:01:01	B*44:02:01 B*15:01:01	C*16:01:01 C*01:02:01	A*68/B*44/C*16 A*29/B*15/C*01
17 (Ctrl. SJ-19)	LTG y VPA	A*02:01:01 A*02:01:01	B*35:02:01 B*42:01:01	C*04:01:01 C*17:01:01	A*02/B*35/C*04 A*02/B*42/C*17
18 (Ctrl. SJ-20)	LTG y LEV	A*24:01:01 A*68:01:02	B*39:01:01 B*35:14:01	C*07:02:01 C*03:02:01	A*24/B*39/C*07 A*68/B*35/C*03

<sup>1</sup> Abreviaturas de FAEs: LTG: Lamotrigina; FNT: Fenitoína; CBZ: Carbamazepina; LEV: Levetiracetam; TPM: Topiramato; VPA: Ácido Valproico.

Debido a que los pacientes pertenecientes al grupo de comparación se encuentran bajo politerapia, se considerarán en más de uno de los análisis estadísticos de RAMc por FAE específico más adelante.

### 7.3.3. Estudio de asociación de alelos de HLA con presencia de RAMc por antiepilépticos

#### 7.3.3.1. Pacientes no tolerantes vs pacientes tolerantes a FAEs

Para realizar el estudio de asociación en primer lugar se compararon todos los pacientes que habían presentado RAMc por FAEs contra todos los individuos tolerantes a los mismos. En las Tablas 5 - 7 se muestran los resultados de frecuencias de alelos de HLA-A, B y C, respectivamente.

**Tabla 5.** Frecuencias alélicas de HLA-A de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs.

	HLA-A	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	A*02:01:01	15	0.417	41.67	17	0.472	47.22	0.225	0.6353	0.79	0.3146-2.0259
2	A*68:01:02	6	0.167	16.67	6	0.167	16.67	0.000	1.0000	1.00	0.2895-3.4543

	HLA-A	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
3	A*24:02:01	4	0.111	11.11	4	0.111	11.11	0.000	1.0000	1.00	0.2299-4.3492
4	A*01:01:01	4	0.111	11.11	2	0.056	5.56	0.727	0.3938	2.13	0.3639-12.4099
5	A*31:01:02	3	0.083	8.33	1	0.028	2.78	1.059	0.3035	3.18	0.3150-32.1397
6	A*03:01:01	2	0.056	5.56	0	0.000	0.00	2.057	0.1515	--	--
7	A*29:01:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
8	A*30:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
9	A*32:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
10	A*25:01:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
11	A*33:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
Total		36	1.000	100.00	36	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 6.** Frecuencias alélicas de *HLA-B* de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs.

	HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	B*35:01:01	6	0.167	16.67	2	0.056	5.56	2.250	0.1336	3.40	0.6375-18-1329
2	B*39:01:01	4	0.111	11.11	7	0.194	19.44	0.966	0.3257	0.52	0.1373-1.9528
3	B*35:02:01	3	0.083	8.33	4	0.111	11.11	0.158	0.6908	0.73	0.1507-3.5097
4	B*44:02:01	2	0.056	5.56	1	0.028	2.78	0.348	0.5553	2.06	0.1783-23.7740
5	B*58:01:01	2	0.056	5.56	0	0.000	0.00	2.057	0.1515	--	--
6	B*57:01:01	2	0.056	5.56	0	0.000	0.00	2.057	0.1515	--	--
7	B*50:01:01	2	0.056	5.56	3	0.083	8.33	0.215	0.6429	0.65	0.1015-4.1243
8	B*40:02:01	2	0.056	5.56	2	0.056	5.56	0.000	1.0000	1.00	0.1331-7.5144
9	B*48:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
10	B*39:06	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
11	B*51:01	1	0.028	2.78	2	0.056	5.56	0.348	0.5553	0.49	0.0421-5.6087
12	B*14:02:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
13	B*18:01:01	1	0.028	2.78	3	0.083	8.33	1.059	0.3035	0.31	0.0311-3.1746
14	B*49:01:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
15	B*14:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
16	B*27:05	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
17	B*15:05:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--

HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
18 B*37:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139		
19 B*40:03	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
20 B*15:01:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
21 B*52:01:02	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
22 B*45:01:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
23 B*15:08	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
24 B*40:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
25 B*08:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
26 B*55:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
27 B*35:14:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
28 B*42:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
Total	36	1.000	100.00	36	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 7.** Frecuencias alélicas de *HLA-C* de pacientes con RAMc y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs.

HLA-C	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 C*04:01:01	9	0.250	25.00	7	0.194	19.44	0.321	0.5707	1.38	0.4514-4.2249
2 C*07:02:01	7	0.194	19.44	9	0.250	25.00	0.321	0.5707	0.72	0.2367-2.2154
3 C*06:02:01	5	0.139	13.89	5	0.139	13.89	0.000	1.0000	1.00	0.2629-3.8032
4 C*08:01	3	0.083	8.33	1	0.028	2.78	0.158	0.6908	1.38	0.2849-6.6355
5 C*03:02:01	4	0.111	11.11	3	0.083	8.33	1.059	0.3035	3.18	0.3150-32.1397
6 C*12:03:01	2	0.056	5.56	2	0.056	5.56	0.000	1.0000	1.00	0.1331-7.5144
7 C*16:01:01	1	0.028	2.78	3	0.083	8.33	1.059	0.3035	0.31	0.0311-3.1746
8 C*01:02:01	1	0.028	2.78	3	0.083	8.33	1.059	0.3035	0.31	0.0311-3.1747
9 C*02:02:02	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
10 C*05:01:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
11 C*18:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
12 C*03:03:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
13 C*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
14 C*17:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
Total	36	1	100	36	1	100				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

En este estudio comparativo no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las frecuencias de los alelos encontrados en el grupo de pacientes con RAMc y el grupo de pacientes tolerantes.

A continuación se realizó el análisis por FAE causante de RAMc en el grupo de pacientes, siguiendo lo reportado en la literatura en donde se indica que el alelo de *HLA* asociado a las RAMc es específico para ciertos fármacos (Pavlos *et al.*, 2012; Profaizer y Eckels, 2012; Yip *et al.*, 2012).

### 7.3.3.2. Pacientes con RAMc por LTG vs pacientes tolerantes a LTG

Se agruparon todos los pacientes con RAMc por LTG y del total de tolerantes, se tomaron todos aquellos que habían sido tratados con LTG y que no habían desarrollado ningún tipo de hipersensibilidad. En las Tablas 8 - 10 se muestran las frecuencias alélicas del grupo de casos y individuos tolerantes, de alelos de *HLA-A*, *B* y *C*, respectivamente. Del total de alelos encontrados, en este nuevo agrupamiento se tienen 8 alelos *HLA-A* en el grupo de pacientes, 9 en el grupo de comparación; para *HLA-B*, 13 y 16 respectivamente; y de *HLA-C* 10 alelos entre los pacientes y 11 entre los individuos del grupo de comparación.

**Tabla 8.** Frecuencias alélicas de *HLA-A* de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG.

	HLA-A	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	A*02:01:01	9	0.409	40.91	14	0.467	46.67	0.171	0.6796	0.79	0.2602-2.4060
2	A*68:01:02	5	0.227	22.73	5	0.167	16.67	0.300	0.5838	1.47	0.3684-5.8706
3	A*24:02:01	3	0.136	13.64	3	0.100	10.00	0.164	0.6851	1.42	0.2584-7.8143
4	A*01:01:01	1	0.045	4.55	2	0.067	6.67	0.105	0.7459	0.67	0.0566-7.8524
5	A*31:01:02	1	0.045	4.55	1	0.033	3.33	0.050	0.8223	1.38	0.0816-23.3583
6	A*03:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
7	A*29:01:01	1	0.045	4.55	1	0.033	3.33	0.050	0.8223	1.38	0.0816-23.3583
8	A*30:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
9	A*25:01:01	0	0.000	0.00	2	0.067	6.67	1.525	0.2168	--	--
10	A*32:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
11	A*33:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
Total		22	1.000	100.00	30	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%



**Tabla 9.** Frecuencias alélicas de *HLA-B* de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG.

HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 B*35:01:01	5	0.227	22.73	1	0.033	3.33	4.677	0.0306	8.53	0.9181-79.2418
2 B*39:01:01	4	0.182	18.18	6	0.200	20.00	0.027	0.8695	0.89	0.2181-3.6229
3 B*44:02:01	2	0.091	9.09	2	0.067	6.67	0.105	0.7459	1.40	0.1816-10.7914
4 B*40:02:01	2	0.091	9.09	1	0.033	3.33	0.774	0.3790	2.90	0.2460-34.1884
5 B*58:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
6 B*35:02:01	1	0.045	4.55	4	0.133	13.33	1.128	0.2882	0.31	0.0321-2.9827
7 B*57:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
8 B*50:01:01	1	0.045	4.55	2	0.067	6.67	0.105	0.7459	0.67	0.0566-7.8524
9 B*18:01:01	1	0.045	4.55	2	0.067	6.67	0.105	0.7459	0.67	0.0566-7.8524
10 B*27:05	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
11 B*15:05:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
12 B*15:01:01	1	0.045	4.55	1	0.033	3.33	0.050	0.8223	1.38	0.0816-23.3583
13 B*52:01:02	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
14 B*51:01	0	0.000	0.00	2	0.067	6.67	1.525	0.2168	--	--
15 B*45:01:01	0	0.000	0.00	2	0.067	6.67	1.525	0.2168	--	--
16 B*15:08	0	0.000	0.00	2	0.067	6.67	1.525	0.2168	--	--
17 B*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
18 B*49:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
19 B*08:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
20 B*35:14:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
21 B*42:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
Total	22	1.000	100.00	30	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 10.** Frecuencias alélicas de *HLA-C* de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG.

HLA-C	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 C*04:01:01	6	0.273	27.27	5	0.167	16.67	0.856	0.3549	1.88	0.4897-7.1787
2 C*07:02:01	4	0.182	18.18	8	0.267	26.67	0.515	0.4731	0.61	0.1581-2.3627

HLA-C	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
3 C*06:02:01	3	0.136	13.64	4	0.133	13.33	0.001	0.9748	1.03	0.2052-5.1325
4 C*03:02:01	3	0.136	13.64	2	0.067	6.67	0.709	0.3996	2.21	0.3367-14.5111
5 C*16:01:01	1	0.045	4.55	3	0.100	10.00	0.532	0.4658	0.43	0.0415-4.4233
6 C*01:02:01	1	0.045	4.55	3	0.100	10.00	0.532	0.4658	0.43	0.0415-4.4234
7 C*02:02:02	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
8 C*05:01:01	1	0.045	4.55	1	0.033	3.33	0.050	0.8223	1.38	0.0816-23.3583
9 C*18:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
10 C*03:03:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
11 C*08:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
12 C*12:03:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
13 C*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
14 C*17:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
Total	22	1.000	100.00	30	1.000	100.00				

pC = Valor de *p*; OR = *odds ratio*; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

De los alelos previamente reportados para RAMc inducidas por LTG, *HLA-B\*15:02* (An *et al.*, 2010) y *HLA-B\*38* (Pavlos *et al.*, 2012) no se encontraron en estos dos grupos estudiados, mientras que el alelo *HLA-A\*31:01*, asociado a RAMc por CBZ y estudiado para RAMc por LTG y FNT (McCormack *et al.*, 2012), se encontró en un paciente con RAMc por LTG y un individuo tolerante al mismo.

Por otro lado, se encontró que el alelo *HLA-B\*35:01:01* se encuentra con mayor frecuencia en el grupo de los pacientes que desarrollaron RAMc por LTG (4 pacientes, uno en estado homocigoto y tres heterocigotos) que en el grupo de comparación (uno en estado heterocigoto), con una diferencia estadísticamente significativa teniendo un valor de  $p < 0.05$ . El intervalo de confianza es amplio e incluye a la unidad, pero esto puede deberse al tamaño pequeño de la muestra; no obstante, la diferencia entre ambos grupos existe.

Al comparar las frecuencias alélicas de ambos grupos en estudio con la población en general, en este caso se utilizó población mestizo mexicano-americana, habitantes de Estados Unidos de América con ancestría mexicana (Klitz, *et al.*, 2009), se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de casos y la frecuencia en la población general. Asimismo, al comparar el grupo de comparación, no se encontró diferencia (Tabla 11). Esto indica que la

presencia del alelo *HLA-B\*35:01:01* se encuentra en mayor frecuencia en el grupo de pacientes con RAMc específicamente inducidas por LTG, que desarrollaron las formas de mediana severidad con afectación de la mucosa oral en la mayoría de los casos.

**Tabla 11.** Comparación de frecuencias de *HLA-B\*35:01:01* de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general.

	Alelo <i>HLA-B*35:01:01</i>			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%				
<b>Pacientes RAMc (n = 22)</b>	<b>5</b>	<b>0.227</b>	<b>22.73</b>	<b>7.688</b>	<b>0.0056*</b>	<b>3.99</b>	<b>1.3946-11.3927</b>
Tolerantes no RAMc (n=30)	1	0.034	3.448	0.571	0.4500**	0.47	0.0620-3.5248
Controles MM americanos (n=553)	38	0.068	6.80	--	--	--	--

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

\* Comparación grupo de pacientes RAMc contra datos de controles MM americanos.

\*\* Comparación grupo de tolerantes contra datos de controles MM americanos.

El alelo *HLA-B\*35:01:01* ya había sido evaluado con el fin de ver si se encontraba asociado a algún tipo de RAMc por FAEs (Ikeda, *et al.*, 2010) sin obtener resultados significativos. Por otra parte, Charantarangsu y cols. (2009) encontraron una fuerte asociación (OR:18.96, IC 95%: 4.87-73.44,  $p$ :  $4.6 \times 10^{-6}$ ) entre la variante *HLA-B\*35:05* y erupciones cutáneas inducidas por nevirapina, un antirretroviral utilizado en pacientes infectados con VIH, en población tailandesa. No obstante estos alelos son diferentes, ya que codifican para proteínas de HLA diferentes, como lo indica el segundo dígito de la nomenclatura de los alelos. En el artículo de Pavlos y colaboradores (2012) comparan ambos alelos y observan sustituciones en los residuos L95I y S97R (Leu95Ile y Ser97Arg), además ambos tienen un residuo de serina en la posición 116 que parece ser importante en el proceso de unión del péptido a la molécula de MHC (Figura 12).



**Figura 12.** Alineamiento de los alelos *HLA-B\*35:05:01* y *-B\*35:01:01* con el alelo considerado normal *HLA-B\*07:02:01* y uno que difícilmente aparece en los pacientes con RAMc (*HLA-B\*37:01:01*) (Modificada de Pavlos *et al.*, 2012).

### 7.3.3.3. Pacientes con RAMc por CBZ vs pacientes tolerantes a CBZ

De igual manera en que se reagruparon los pacientes con RAMc por LTG, se realizó el análisis específico para CBZ. Se identificaron 5 alelos de *HLA-A* en el grupo de pacientes y 8 en el de tolerantes a CBZ, 10 y 16 de *HLA-B*, y 6 y 9 para *HLA-C*. En las Tablas 12 - 14, se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla 12.** Frecuencias alélicas de *HLA-A* de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ.

	HLA-A	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	A*02:01:01	3	0.300	30.00	13	0.500	50.00	1.170	0.2794	0.43	0.0904-2.0308
2	A*01:01:01	3	0.300	30.00	2	0.077	7.69	3.005	0.0831	5.14	0.7119-37.1525
3	<b>A*31:01:02</b>	<b>2</b>	<b>0.200</b>	<b>20.00</b>	<b>0</b>	<b>0.000</b>	<b>0.00</b>	<b>5.506</b>	<b>0.0190</b>	*	*
4	A*24:02:01	1	0.100	10.00	2	0.077	7.69	0.050	0.8225	1.33	0.1073-16.5679
5	A*68:01:02	1	0.100	10.00	3	0.115	11.54	0.017	0.8953	0.85	0.0780-9.3043
6	A*32:01	0	0.000	0.00	2	0.077	7.69	0.815	0.3668	--	--
7	A*25:01:01	0	0.000	0.00	2	0.077	7.69	0.815	0.3668	--	--
8	A*29:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
9	A*33:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
Total		10	1.000	100.00	26	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

\* Datos no comparables por tener valor de 0 en uno de los grupos.

**Tabla 13.** Frecuencias alélicas de *HLA-B* de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ.

	HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	B*35:01:01	1	0.100	10.00	2	0.077	7.69	0.050	0.8225	1.33	0.1073-16.5679
2	B*58:01:01	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
3	B*35:02:01	1	0.100	10.00	2	0.077	7.69	0.050	0.8225	1.33	0.1073-16.5679
4	B*57:01:01	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
5	B*50:01:01	1	0.100	10.00	3	0.115	11.54	0.017	0.8953	0.85	0.0780-9.3043
6	B*48:01:01	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
7	B*39:06	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
8	B*51:01	1	0.100	10.00	1	0.038	3.85	0.521	0.4730	2.78	0.1568-49.2209

HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)	
	n	FA	%	n	FA	%					
9	B*37:01:01	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
10	B*40:03	1	0.100	10.00	0	0.000	0.00	2.674	0.1020	--	--
11	B*18:01:01	0	0.000	0.00	3	0.115	11.54	1.259	0.2619	--	--
12	B*39:01:01	0	0.000	0.00	3	0.115	11.54	1.259	0.2619	--	--
13	B*15:08	0	0.000	0.00	2	0.077	7.69	0.815	0.3668	--	--
14	B*40:02:01	0	0.000	0.00	2	0.077	7.69	0.815	0.3668	--	--
15	B*44:02:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
16	B*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
17	B*49:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
18	B*45:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
19	B*40:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
20	B*08:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
21	B*15:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
22	B*55:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
Total		10	1.000	100.00	26	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 14.** Frecuencias alélicas de HLA-C de pacientes con RAMc por CBZ y pacientes que no desarrollaron RAMc por CBZ.

HLA-C	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)	
	n	FA	%	n	FA	%					
1	C*04:01:01	2	0.200	20.00	5	0.192	19.23	0.003	0.9583	1.05	0.1683-6.5516
2	C*07:02:01	2	0.200	20.00	5	0.192	19.23	0.003	0.9583	1.05	0.1683-6.5517
3	C*06:02:01	2	0.200	20.00	5	0.192	19.23	0.003	0.9583	1.05	0.1683-6.5518
4	C*08:01	2	0.200	20.00	1	0.038	3.85	2.467	0.1163	6.25	0.4983-78.3875
5	C*03:02:01	1	0.100	10.00	2	0.077	7.69	1.108	0.2926	3.00	0.3612-24.9196
6	C*12:03:01	1	0.100	10.00	2	0.077	7.69	1.108	0.2926	3.00	0.3612-24.9197
7	C*01:02:01	0	0.000	0.00	3	0.115	11.54	1.259	0.2619	--	--
8	C*16:01:01	0	0.000	0.00	2	0.077	7.69	0.815	0.3668	--	--
9	C*05:01:01	0	0.000	0.00	1	0.038	3.85	0.396	0.5294	--	--
Total		10	1	100	26	1	100				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

Respecto a los alelos previamente descritos para RAMc por CBZ (Pavlos *et al.*, 2012; Yip *et al.*, 2012), no se identificaron *HLA-A\*11*, *-B\*15:02*, *-B\*59:01*, *-B\*15:11*, *-B\*15:18*, *-B\*38*, *-B\*13:01*, y *-C\*07:04*; pero, sí se encontraron tres pacientes positivos para *HLA-A\*01:01*, dos para *HLA-A\*31:01*, uno para *-B\*48:01:01* y uno para *-B\*51*.

No se encontró diferencia entre los alelos de *HLA-B* y *-C* de los grupos de casos y el grupo de comparación analizados específicamente para CBZ. En el caso de *HLA-A* se encontró una diferencia estadísticamente significativa en *HLA-A\*31:01:02* al encontrarse con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con RAMc.

Este alelo ha sido previamente reportado para RAMc inducidas por CBZ en población japonesa (Ozeki *et al.*, 2010) y del norte de Europa (McCormack *et al.*, 2011), utilizando estudio de asociación del genoma completo (GWAS) en ambos casos, en donde encontraron una fuerte asociación (OR = 10.8, IC 95% = 5.9–19.6,  $P = 3.64 \times 10^{-15}$ ; y, OR = 12.41, IC 95% = 1.27–121.03,  $P = 1.1 \times 10^{-6}$ ).

Se realizó el análisis estadístico para comparar la frecuencia de *HLA-A\*31:01:02* en el grupo de pacientes y el de comparación con la documentada para la población general, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los grupos (Tabla 15). Esto puede indicar que la diferencia encontrada entre el grupo de pacientes y el grupo de comparación se debe al tamaño de muestra pequeño, ya que sólo se contaron con 5 pacientes que presentaron RAMc por CBZ, no obstante, no se puede descartar el hallazgo puesto que es un alelo previamente reportado por otras poblaciones, además de tener una  $P < 0.05$ , y teniendo 2 pacientes positivos para este alelo de 5 totales contra ningún individuo tolerante positivo de 13 estudiados.

**Tabla 15.** Comparación de frecuencias de *HLA-A\*31:01:02* de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general.

	Alelo <i>HLA-A*31:01:02</i>			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%				
Pacientes RAMc (n = 10)	2	0.200	20.00	3.276	0.0703*	3.91	0.7980-19.1973
Tolerantes no RAMc (n=26)	0	0.000	0.00	1.656	0.1982**	***	***
Controles MM americanos (n=553)	32	0.060	6.00	--	--	--	--

pC = Valor de  $p$ ; OR = *odds ratio*; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

\* Comparación grupo de pacientes RAMc contra datos de controles MM americanos.

\*\* Comparación grupo de tolerantes contra datos de controles MM americanos.

\*\*\* Datos no comparables por tener valor de 0 en uno de los grupos.

### 7.3.3.4. Pacientes con RAMc por FNT vs pacientes tolerantes a FNT

Para el estudio de pacientes con RAMc por FNT se encontraron 3 alelos de *HLA-A* en el grupo de pacientes y 4 en el grupo de comparación; para *HLA-B*, fueron 4 y 7, respectivamente; y para *HLA-C* se identificaron 2 en pacientes y 5 diferentes en el grupo de comparación. En las Tablas 16 - 18 se muestran los resultados obtenidos en este análisis.

**Tabla 16.** Frecuencias alélicas de *HLA-A* de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT.

HLA-A	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 A*02:01:01	2	0.500	50.00	5	0.500	50.00	0.000	1.0000	1.00	0.0984-10.1666
2 A*68:01:02	1	0.250	25.00	1	0.100	10.00	0.525	0.4687	3.00	0.1400-64.2651
3 A*03:01:01	1	0.250	25.00	0	0.000	0.00	2.692	0.1008	--	--
4 A*24:02:01	0	0.000	0.00	2	0.200	20.00	0.933	0.3340	--	--
5 A*32:01	0	0.000	0.00	2	0.200	20.00	0.933	0.3340	--	--
Total	4	1.000	100.00	10	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 17.** Frecuencias alélicas de *HLA-B* de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT.

HLA-B	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 B*48:01:01	1	0.250	25.00	0	0.000	0.00	2.692	0.1008	--	--
2 B*51:01	1	0.250	25.00	0	0.000	0.00	2.692	0.1008	--	--
3 B*14:02:01	1	0.250	25.00	0	0.000	0.00	2.692	0.1008	--	--
4 B*49:01:01	1	0.250	25.00	0	0.000	0.00	2.692	0.1008	--	--
5 B*35:01:01	0	0.000	0.00	2	0.200	20.00	0.933	0.3340	--	--
6 B*39:01:01	0	0.000	0.00	2	0.200	20.00	0.933	0.3340	--	--
7 B*50:01:01	0	0.000	0.00	2	0.200	20.00	0.933	0.3340	--	--
8 B*18:01:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
9 B*40:01:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
10 B*55:01:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
11 B*40:02:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
Total	4	1	100	10	1	100				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

**Tabla 18.** Frecuencias alélicas de *HLA-C* de pacientes con RAMc por FNT y pacientes que no desarrollaron RAMc por FNT.

HLA-C	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%	n	FA	%				
1 C*08:01	3	0.750	75.00	0	0.000	0.00	9.546	0.0020	*	*
2 C*07:02:01	1	0.250	25.00	2	0.200	20.00	0.042	0.8368	1.33	0.0859-20.7079
3 C*04:01:01	0	0.000	0.00	3	0.300	30.00	1.527	0.2165	--	--
4 C*06:02:01	0	0.000	0.00	3	0.300	30.00	1.527	0.2165	--	--
5 C*03:02:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
6 C*12:03:01	0	0.000	0.00	1	0.100	10.00	0.431	0.5116	--	--
Total	4	1.000	100.00	10	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

\*Datos no comparables por tener valor de 0 en uno de los grupos.

Existen pocos estudios en los que se haya reportado una asociación de alelos de *HLA* con RAMc por FNT. Entre ellos se menciona el *HLA-B\*15:02* (Man *et al.*, 2007; Lochareernkul *et al.*, 2008) el cual no se identificó en el presente estudio, al igual que *HLA-B\*13:01* (Hung *et al.*, 2010). No obstante se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la frecuencia del alelo *HLA-C\*08:01* de los grupos en estudio. Este alelo había sido reportado previamente por Hung y colaboradores (2010) en donde estudiaron pacientes chinos Han con SSJ inducido por FNT, LTG y oxcarbazepina; aunque el principal alelo con el que encontraron asociación fue *HLA-B\*15:02*, también observaron asociación con otros tres alelos y RAMc causada por FNT: *HLA-B\*13:01*, *Cw\*08:01* y *DRB1\*16:02*.

Al comparar con la frecuencia del alelo *HLA-C\*08:01* en población general, encontramos diferencia con el grupo de pacientes y no con el grupo de comparación (Tabla 19). Es importante mencionar que el tamaño de muestra en este caso es bastante pequeño con sólo dos pacientes con RAMc por FNT, sin embargo, los resultados demuestran la existencia de una diferencia importante. Es interesante que el paciente homocigoto para *HLA-C\*08:01* mostró mayor severidad de la RAMc que la paciente en estado heterocigoto quien tuvo lesiones menores en la piel.



**Tabla 19.** Comparación de frecuencias de *HLA-C\*08:01* de ambos grupos en estudio con las reportadas para población en general.

	Alelo <i>HLA-C*08:01</i>			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
	n	FA	%				
<b>Pacientes RAMc (n = 4)</b>	<b>3</b>	<b>0.750</b>	<b>75.00</b>	<b>43.055</b>	<b>&lt;0.0001*</b>	<b>66.52</b>	<b>6.6597-664.4656</b>
Tolerantes no RAMc (n=10)	0	0.000	0.00	0.451	0.5020**	***	***
Controles MM americanos (n=553)	23	0.043	4.32	--	--	--	--

pC = Valor de p; OR = *odds ratio*; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

\* Comparación grupo de pacientes RAMc contra datos de controles MM americanos.

\*\* Comparación grupo de tolerantes contra datos de controles MM americanos.

\*\*\* Datos no comparables por tener valor de 0 en uno de los grupos.

### 7.3.3.5. Pacientes con RAMc por LEV vs pacientes tolerantes a LEV

En este caso sólo tuvimos un paciente con RAMc inducido por LEV por lo que no se tienen datos para comparar, en la Tabla 20 se muestran los alelos obtenidos para el paciente y el individuo de comparación respectivo, tolerante a LEV. Es importante destacar que tanto el paciente como el individuo tolerante comparten al menos un alelo igual para cada gen de *HLA*.

**Tabla 20.** Resultados de paciente e individuo tolerante estudiados para RAMc por LEV.

Paciente con RAMc por LEV	Paciente tolerante a LEV
A*02:01:01	A*68:01:02
A*02:01:01	A*02:01:01
B*35:02:01	B*35:02:01
B*14:01:01	B*39:01:01
C*04:01:01	C*04:01:01
C*12:03:01	C*07:02:01

### 7.3.4. Estudio de asociación de haplotipos de HLA con presencia de RAMc por antiepilépticos

En el análisis de haplotipos se encontraron 26 diferentes en los pacientes y 29 en el grupo de comparación. Se compararon los haplotipos identificados en el grupo total de pacientes contra el grupo de individuos tolerantes, sin obtener diferencia estadísticamente significativa (Tabla 21).

**Tabla 21.** Frecuencias haplotípicas de HLA clase I de pacientes con RAMc por FAEs y pacientes que no desarrollaron RAMc por FAEs.

	Haplotipos	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	A*02:01:01 / B*35:01:01 / C*04:01:01	6	0.167	16.67	2	0.056	5.56	2.250	0.1336	3.40	0.6375-18.1329
2	A*02:01:01 / B*35:02:01 / C*04:01:01	3	0.083	8.33	4	0.111	11.11	0.158	0.6908	0.73	0.1507-3.5097
3	A*24:02:01 / B*39:01:01 / C*06:02:01	2	0.056	5.56	0	0.000	0.00	2.957	0.1515	--	--
4	A*01:01:01 / B*57:01:01 / C*07:02:01	2	0.056	5.56	0	0.000	0.00	2.957	0.1515	--	--
5	A*68:01:02 / B*39:01:01 / C*03:02:01	2	0.056	5.56	1	0.028	2.78	0.348	0.5553	2.06	0.1783-23.7740
6	A*02:01:01 / B*51:01 / C*08:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
7	A*68:01:02 / B*48:01 / C*08:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
8	A*24:02:01 / B*18:01:01 / C*05:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
9	A*31:01:02 / B*40:03 / C*03:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
10	A*02:01:01 / B*40:02:01 / C*07:02:01	1	0.028	2.78	1	0.028	2.78	0.000	1.0000	1.00	0.0601-16.6295
11	A*02:01:01 / B*14:02:01 / C*08:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
12	A*03:01:01 / B*49:01:01 / C*07:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
13	A*03:01:01 / B*58:01:01 / C*06:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
14	A*31:01:02 / B*15:05:01 / C*01:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
15	A*02:01:01 / B*14:01:01 / C*12:03:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
16	A*68:01:02 / B*27:05 / C*02:02:02	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
17	A*29:01:01 / B*44:02:01 / C*16:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
18	A*30:02:01 / B*50:01:01 / C*07:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
19	A*68:01:02 / B*44:02:01 / C*18:01:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
20	A*01:01:01 / B*58:01:01 / C*06:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
21	A*24:02:01 / B*39:06 / C*06:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
22	A*31:01:02 / B*50:01:01 / C*07:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
23	A*01:01:01 / B*37:01:01 / C*12:03:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
24	A*68:01:02 / B*40:02:01 / C*07:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
25	A*02:01:01 / B*15:01:01 / C*03:03:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
26	A*02:01:01 / B*52:01:02 / C*03:02:01	1	0.028	2.78	0	0.000	0.00	1.014	0.3139	--	--
27	A*02:01:01 / B*18:01:01 / C*12:03:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
28	A*68:01:02 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
29	A*24:02:01 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	2	0.056	5.56	2.057	0.1515	--	--
30	A*32:01 / B*55:01:01 / C*03:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
31	A*25:01:01 / B*50:01:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
32	A*24:02:01 / B*45:01:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--

	Haplotipos	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
33	A*02:01:01 / B*51:01:01 / C*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
34	A*68:01:02 / B*39:01:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
35	A*02:01:02 / B*50:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
36	A*02:01:01 / B*15:08 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
37	A*25:01:01 / B*45:01:01 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
38	A*24:02:01 / B*40:01:01 / C*04:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
39	A*33:01:01 / B*14:02:01 / C*08:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
40	A*02:01:01 / B*51:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
41	A*01:01:01 / B*49:01:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
42	A*01:01:01 / B*08:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
43	A*02:01:01 / B*18:01:01 / C*05:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
44	A*31:01:02 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
45	A*02:01:01 / B*15:08 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
46	A*32:01 / B*40:02:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
47	A*02:01:01 / B*50:01:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
48	A*68:01:02 / B*44:02:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
49	A*29:01:01 / B*15:01:01 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
50	A*02:01:01 / B*42:01:01 / C*17:01:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
51	A*68:01:02 / B*35:14:01 / C*03:02:01	0	0.000	0.00	1	0.028	2.78	1.014	0.3139	--	--
Total		36	1.000	100.00	36	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

De manera interesante, si revisamos la Tabla 3 podemos observar que todos los pacientes positivos para el alelo *HLA-B\*35:01:01* (alelo con asociación a RAMc por LTG en este estudio) presentan el mismo haplotipo: *HLA-A\*02:01:01/B\*35:01:01/C\*04:01:01*. Debido a ello, a continuación (Tabla 22) se presentan los resultados del estudio de haplotipos entre pacientes con RAMc por LTG y los pacientes tolerantes al mismo FAE.

**Tabla 22.** Frecuencias haplotípicas de *HLA* de clase I de pacientes con RAMc por LTG y pacientes que no desarrollaron RAMc por LTG.

	Haplotipos	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
1	A*02:01:01 / B*35:01:01 / C*04:01:01	5	0.227	22.73	1	0.033	3.33	4.677	0.0306	8.53	0.9181-79.2418
2	A*24:02:01 / B*39:01:01 / C*06:02:01	2	0.091	9.09	0	0.000	0.00	2.836	0.0922	--	--
3	A*68:01:02 / B*39:01:01 / C*03:02:01	2	0.091	9.09	2	0.067	6.67	0.105	0.7459	--	--
4	A*02:01:01 / B*35:02:01 / C*04:01:01	1	0.045	4.55	4	0.133	13.33	1.128	0.2882	0.31	0.0321-2.9827
5	A*01:01:01 / B*57:01:01 / C*07:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
6	A*24:02:01 / B*18:01:01 / C*05:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
7	A*02:01:01 / B*40:02:01 / C*07:02:01	1	0.045	4.55	1	0.033	3.33	0.050	0.8223	1.38	0.0816-23.3583
8	A*03:01:01 / B*58:01:01 / C*06:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
9	A*31:01:02 / B*15:05:01 / C*01:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--

	Haplotipos	RAMc-P			No RAMc-C			$\chi^2$	pC	OR	IC (95%)
		n	FA	%	n	FA	%				
10	A*68:01:02 / B*27:05 / C*02:02:02	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
11	A*29:01:01 / B*44:02:01 / C*16:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
12	A*30:02:01 / B*50:01:01 / C*07:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
13	A*68:01:02 / B*44:02:01 / C*18:01:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
14	A*68:01:02 / B*40:02:01 / C*07:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
15	A*02:01:01 / B*15:01:01 / C*03:03:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
16	A*02:01:01 / B*52:01:02 / C*03:02:01	1	0.045	4.55	0	0.000	0.00	1.390	0.2383	--	--
17	A*24:02:01 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	2	0.067	6.67	1.525	0.2168	--	--
18	A*02:01:01 / B*18:01:01 / C*12:03:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
19	A*68:01:02 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
20	A*25:01:01 / B*50:01:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
21	A*24:02:01 / B*45:01:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
22	A*02:01:01 / B*51:01:01 / C*14:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
23	A*02:01:01 / B*15:08 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
24	A*25:01:01 / B*45:01:01 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
25	A*33:01:01 / B*14:02:01 / C*08:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
26	A*02:01:01 / B*51:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
27	A*01:01:01 / B*49:01:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
28	A*01:01:01 / B*08:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
29	A*02:01:01 / B*18:01:01 / C*05:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
30	A*31:01:02 / B*39:01:01 / C*07:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
31	A*02:01:01 / B*15:08 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
32	A*32:01 / B*40:02:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
33	A*02:01:01 / B*50:01:01 / C*06:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
34	A*68:01:02 / B*44:02:01 / C*16:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
35	A*29:01:01 / B*15:01:01 / C*01:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
36	A*02:01:01 / B*42:01:01 / C*17:01:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
37	A*68:01:02 / B*35:14:01 / C*03:02:01	0	0.000	0.00	1	0.033	3.33	0.748	0.3872	--	--
Total		22	1.000	100.00	30	1.000	100.00				

pC = Valor de p; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo de Confianza al 95%

Como era de esperarse, se encontró la misma diferencia estadísticamente significativa para el haplotipo que contiene el alelo *HLA-B\*35:01:01*, lo que nos indica que este alelo se encuentra en desequilibrio de ligamiento con los alelos *HLA-A\*02:01:01* y *HLA-C\*04:01:01*. En México, la frecuencia de este haplotipo únicamente está reportada para población Tarahumara con una frecuencia del 3.40% (Allele Frequency Net Database) y en este porcentaje se incluye a los haplotipos *HLA-A\*02:01:01/02:01:09-B\*35:01/35:02/35:03-C\*04:01:01*, por ello y por ser resultado de una zona específica de la República Mexicana no es válido para comparar los resultados obtenidos. En la base de datos no se encuentra información de este haplotipo en

americanos con ancestría mexicana que han sido de más utilidad puesto que ofrecen resultados más globales, información de la cual no se dispone aún en México. De cualquier manera, es necesario confirmar los haplotipos estudiados con el análisis de tríos, esto es, añadir el genotipo de *HLA* de los padres de los pacientes.

En la actualidad son pocos los haplotipos de susceptibilidad para RAMc por FAEs reportados. Ikeda y colaboradores reportaron dos haplotipos para la población japonesa: *HLA-A\*24:01/-B\*59:01/-C\*01:02* y *HLA-A\*02:01/-B\*15:18/-C\*07:04* con valores de riesgos relativos de 16.09 y 28.94, respectivamente. Por su parte, para los caucásicos se ha asociado el haplotipo ancestral 8.1 (*HLA-A\*01:01/-Cw\*07:01/-B\*08:01/-DRB1\*03:01/-DQA1\*05:01/-DQB1\*02:01*) con el desarrollo de síndrome de hipersensibilidad inducido por CBZ (Pavlos *et al.*, 2012).

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ En el grupo de pacientes estudiado el fármaco antiepiléptico causante de mayor número de RAMc fue lamotrigina (61.1 %), en segundo lugar carbamazepina (22.2%) y en tercero fenitoína (5.6%).
- ✓ Se observó una alta variabilidad entre los alelos de *HLA* encontrados tanto en el grupo de pacientes como en el de comparación.
- ✓ Se identificaron tres alelos de *HLA* como potenciales marcadores genéticos para predecir RAMc a FAEs en población mestizo mexicana: el alelo, no reportado previamente, *HLA-B\*35:01:01* para RAMc por LTG, y los alelos ya antes estudiados *HLA-A\*31:01:02* para RAMc por CBZ y *HLA-C\*08:01* por FNT.
- ✓ Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por otros investigadores, acerca de que los alelos de *HLA* asociados a RAMc dependen del fármaco causante de la reacción y del origen de la población estudiada.
- ✓ Este estudio puede ser la pauta para una mayor investigación de RAMc por FAEs en población mestizo mexicana en donde no existe información previa, de manera que se pueda realizar un uso más seguro de antiepilépticos en nuestro país para beneficio de los pacientes y del sistema de salud pública.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acevedo-Whitehouse, K., Cunningham, AA. (2006). Is MHC enough for understanding wildlife immunogenetics? *Trends in Ecology & Evolution*;21(8):433-8.
2. Achour, A. (2001). Major Histocompatibility Complex: Interaction with Peptides. *Encyclopedia of life sciences*, John Wiley & Sons (p. 1-8).
3. Aihara, M. (2011). Pharmacogenetics of cutaneous adverse drug reactions. *Journal of Dermatology*;38:246-54.
4. Allele Frequency Net Database. En sitio web <http://www.allelefrequencies.net/>. Fecha de consulta: marzo de 2013.
5. An, D-M., Wu, X-T., Hu, F-Y, Bo, Y., Stefan, H., Zhou, C. (2010). Association study of lamotrigine-induced cutaneous adverse reactions and HLA-B\*1502 in a Han Chinese population. *Epilepsy Research*;92:226-30.
6. Andrew, T., Milinias, K., Baker, G., Wiesmann, U. (2012). Self reported adverse effects of mono and polytherapy for epilepsy. *Seizure*;21:610-3.
7. Aouam, K., Bel Hadj, H., Youssef, M., Chaabane, A., Amri, M., Boughattas, NA., Zili, JE. (2008). Carbamazepine-induced DRESS and HHV6 primary infection: the importance of skin tests. *Epilepsia*;49:1630-3.
8. Arif, H., Buchsbaum, R., Weintraub, D., Koyfman, S., Salas-Humara, C., Bazil, CW., Resor, SR., Hirsch, LJ. (2007). Comparison and predictors of rash associated with 15 antiepileptic drugs. *Neurology*;68(20):1701-9.
9. Barquera, R., Zúñiga, J., Hernández-Díaz, R., Acuña-Alonzo, V., Montoya-Gama, K. (2008). HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Molecular Immunology*;45:1171-8.
10. Brodie, M.J. (2010). Antiepileptic drug therapy the story so far. *Seizure*;19:650-5.
11. Coulson, IH. (2009). Drug eruptions. *Medicine*;37(5):263-6.
12. Chantarangsu, S., Mushiroda, T., Mahasirimongkol, S., Kiertiburanakul, S., Sungkanuparph, S., Manosuthi, W., Tantisiriwat, W., Charoenyingwattana, A., Sura, T., Chantratita, W., Nakamura, Y. (2009). HLA-B\*3505 allele is a strong predictor for nevirapine-induced skin adverse drug reactions in HIV-infected Thai patients. *Pharmacogenetics and Genomics*;19(2):139-46.

13. Duong, TA., Haddad, C., Valeyrie-Allanore, L., Sbidian, E., Chosidow, O., Wolkenstein, P. (2013). Levetiracetam: A possible new inducer of toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome in 2 cases. *JAMA Dermatology*; 149(10):113-115.
14. Edwards, I.R., Aronson, J.K. (2000). Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *The Lancet*;356:1255-59.
15. FDA (Food and Drug Administration) (2007). Consultado en página web <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm124718.htm>, en 17 de marzo de 2013.
16. French, L.E. (2006). Toxic epidermal necrolysis and Stevens Johnson syndrome: our current understanding. *Allergology International*;55:9-16.
17. Godorezky, C., Aláez, C., Pérez, F., Vázquez, A., Rodríguez, D., Flores, H. (2012). Aplicaciones terapéuticas de las células progenitoras y aspectos éticos. En Del Castillo-Ruiz, V., Uranga-Hernández, RD., Zafra-de la Rosa, G., *Genética clínica* (pp. 421-37). México: El Manual Moderno.
18. Granados-Arriola, J., Álvarez-Carreño, C., Lara-Mejía, A., Reyes-Servín, MA., Valdés-Corona, LF. (2012). Inmunogenética del complejo principal de histocompatibilidad. En Del Castillo-Ruiz, V., Uranga-Hernández, RD., Zafra-de la Rosa, G., *Genética clínica* (pp. 445-60). México: El Manual Moderno.
19. Hu, F-y., Wu, X-t., An, D-m., Yan, B., Stefan, H., Zhou, D. (2011). Pilot association study of oxcarbazepine-induced mild cutaneous adverse reactions with HLA-B\*1502 allele in Chinese Han population. *Seizure* 20:160-2.
20. Hung, SI., Chung, WH., Jee, SH., Chen, WC., Chang, YT., *et al.* (2006). Genetic susceptibility to carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions. *Pharmacogenet Genomics*;16(4):297-306.
21. Hung, SI., Chung, WH., Liu, ZS., Chen CH., Hsih, MS., Hui, RC., Chu, CY., Chen, YT. (2010). Common risk allele in aromatic antiepileptic-drug induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Han Chinese. *Pharmacogenomics*;11(3):349-56.
22. ILAE (International League Against Epilepsy) (1993). Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. Commission on Epidemiology and Prognosis. *Epilepsia*;34:592-6.
23. IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system (fundador y director: Marie-Paule Lefranc, Montpellier, Francia). Consultado en página web <http://www.imgt.org>, en 03 de abril 2013.



24. Jarernsiripornkul, N., Senacom, P., Uchaipichat, V., Chaipichit, N., Krska, J. (2012). Patient reporting of suspected adverse drug reactions to antiepileptic drugs: Factors affecting attribution accuracy. *Epilepsy Behavior*;24:102-6.
25. Jeung, Y-J., Lee, J-Y., Oh, M-H., Choi, D-C., Lee, B-J. (2010). Comparison of the causes and clinical features of drug rash with eosinophilia and systemic symptoms and Stevens-Johnson Syndrome. *Allergy, Asthma & Immunology Research*;2(2):123-6.
26. Kaniwa, N., Saito, Y., Ahijara, M., Matsunaga, K., Tohkin, M., Kurose, K., Furuya, H., Takahashi, Y., Muramatsu, M., Kinoshita, S., Abe, M., Ikeda, H., Kashiwagi, M., Song, Y., Ueta, M., Sotozono, C., Ikezawa, Z., Hasegawa, R. (2010). HLA-B\*1511 is a risk factor for carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. *Epilepsia*;51(12):2461-5.
27. Krasowski, M.D. (2010). Therapeutic drug monitoring of the newer antiepilepsy medications. *Pharmaceuticals (Basel)*;3:1909-35.
28. Kwan, P., Brodie, M.J. (2007). Emerging drugs for epilepsy. *Expert Opinion Emerging Drugs*;12:407-22.
29. Lee, A. (2006). Adverse drug reactions. (2<sup>nd</sup> edition). Pharmaceutical Press. Great Britain. Pp. 7
30. Lonjou, C., Thomas, L., Borot, N., Ledger, N., de Toma, C., *et al.* (2006). A marker for Stevens-Johnson syndrome...: ethnicity matters. *Pharmacogenomics Journal*;6(4):265-8.
31. López-López, M., Guerrero-Camacho, JL., Familiar-López, IM., Jung-Cook, H., Coronó-Vázquez, T., *et al.* (2004). Farmacogenómica: búsqueda de la terapia personalizada. *Revista de Neurología*;39(11):1063-71.
32. Lundgren, T., Dahl, J., Yardi, N., Melin, L. (2008). Acceptance and Commitment Therapy and yoga for drug-refractory epilepsy: A randomized controlled trial. *Epilepsy Behavior*;13:102-8.
33. Lochareernkul, C., Loplumlert, J., Limotai, C., Korkij, W., Desudchit, T., Tongkobpetch, S., Kangwanshiratada, O., Hirankarn, N., Suphapeetiporn, K., Shotelersuk, V. (2008) Carbamazepine and phenytoin induced Stevens-Johnson syndrome is associated with HLA-B\*1502 allele in Thai population. *Epilepsia*;49(12):2087-91.
34. Mak, TW., Saunders, ME. (2006). *The Immune Response: basic and clinical principles.* Elsevier Academic Press. China. p. 248-76.

35. Man, CB., Kwan, P., Baum, L., Yu, E., Lau, KM., Alice, Cheng, ASH., Ng, MHL. (2007). Association between HLA-B\*1502 allele and antiepileptic drug-induced cutaneous reactions in Han Chinese. *Epilepsia*;48(5):1015-8.
36. Marsh, SGE., Albert, ED., Bodmer, WF., Bontrop, RE., Dupont, B., Erlich, HA., Fernández-Viña, M., Geraghty, DE., Holdsworth, R., Hurley, CK., Lau, M., Lee, KW., Mach, B., Maiers, M., Mayr, WR., Müller, CR., Parham, P., Petersdorf, EW., Sasazuki, T., Strominger, JL., Svejgaard, A., Terasaki, PI., Tiercy, JM., Trowsdale, J. (2010). Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens*;75:291-455.
37. McCormack, M., Alfirevic, A., Bourgeois S., Farrell, J., Carrington, M., Sills, GJ., Kasperavičiūtė, D., Marson, T., Jia, X., de Bakker, PIW., Chinthapalli, K., Molokhia, M., Johnson, MR., O'Connor, GD., Chaila, E., Alhusaini, S., Shianna, K., Radtke, RA., Heinzen, EL., Walley, N., Pandolfo, M., Pichler, W., Park, K., Depondt, C., Sisodiya, SM., Goldstein, DB., Deloukas, P., Delanty, N., Cavalleri, GL., Pirmohamed, M. (2011). HLA-A\*3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans. *The New England Journal of Medicine*;364:1134-43.
38. McCormack, M., Urban, TJ., Shianna, KV., Walley, N., Pandolfo, M., Depondt, C., Chaila, E., O'Conner, GD., Kasperavičiūtė, D., Radtke, RA., Heinzen, EL., Sisodiya, SM., Delanty, N., Cavalleri, GL. (2012). Genome-wide mapping for clinically relevant predictors of lamotrigine- and phenytoin-induced hypersensitivity reactions. *Pharmacogenomics*;13(4):399-405.
39. McKenna, J.K., Leiferman, K.M. (2004). Dermatologic drug reactions. *Immunology and allergy clinics of North America*;24:399-423.
40. Meldrum, B.S., Rogawski, M.A. (2007). Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics*;4:18-61.
41. Morais, A., Alves, H., Lima, B., Delgado, L., Gonçalves, R., Tafulo, S. (2008). HLA class I and II and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in sarcoidosis patients. *Revista Portuguesa de Pneumologia*;XIV(6):727-46.
42. Naisbitt, D.J., Farrel, J., Wong, G., Depta J., Dodd, CC., Hopkins, JE., Gibney, CA., Chadwick, DW., Pichler, WJ., Pirmohamed, M., Park, BK. (2003). Characterization of drug-specific T cells in lamotrigine hypersensitivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*; 111:1393-403.

43. Naisbitt, D.J., Gordon, S.F., Prirmohamed, M., Park, B.K. (2000). Immunological principles of adverse drug reactions: the initiation and propagation of immune responses elicited by drug treatment. *Drug Safety*;23(6):483-507.
44. Ozeki, T., Mushiroda, T., Yowang, A., Takahashi, A., Kubo, M., Shirakata, Y., Ikezawa, Z., Iijima, M., Shiohara, T., Hashimoto, K., Katamani, N., Nakamura, Y. (2011). Genome-wide association study identifies *HLA-A\*3101* allele as a genetic risk factor for carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions in Japanese population. *Human Molecular Genetics*;20(5):1034-41.
45. Pavlos, R., Mallal, S., Phillips, E. (2012). HLA and pharmacogenetics of drug hypersensitivity. *Pharmacogenomics*;13(11):1285-1306.
46. Pichler, W.J. (2003). Delayed drug hypersensitivity reactions. *Annals of Internal Medicine*;139:683-93.
47. Pichler, W.J., Beeler, A., Keller, M., Lerch, M., Posadas, S., Schmid, D., Spanou, Z., Zawodniak, A., Gerber, B. (2006). Pharmacological interaction of drugs with immune receptors: The p-i concept. *Allergy International*;55:17-25.
48. Profaizer, T., Eckels, D. (2012). HLA alleles and drug hypersensitivity reactions. *International Journal of Immunogenetics*;39:99-105.
49. Rogawski, M.A., Löscher, W. (2004). The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat Rev Neuroscience*;5:553-64.
50. Roujeau, J.C. (2006). Immune mechanisms in drug allergy. *Allergol International*;55:27-33.
51. Roujeau, J.C., Stern, R.S. (1994). Severe adverse cutaneous reactions to drugs. *The New England Journal of Medicine*;331: 1272-85.
52. Schnyder, B., Pichler, W.J. (2009). Mechanisms of Drug-Induced Allergy. *Mayo Clinic Proceedings*;84(3):268-72).
53. Scott, S., Thompson, J. (2011). Adverse drug reactions. *Anesthesia and intensive care medicine*;12(7):319-23.
54. Shi, Y-W., Min, F-L., Liu, X-R., Zan, L-X., Gao, M-M., Yu, M-J., Liao, W-P. (2010). HLA-B alleles and lamotrigine-induced cutaneous adverse drug reactions in the Han chinese population. *Basis & Clinical Pharmacology & Toxicology*;109:42-6.
55. Sills, G.J., Brodie, M.J. (2001). Update on the mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Epileptic Disorders*;3:165-72.

56. Stern, R. (2012). Exanthematous drug eruptions. *The New England Journal of Medicine*;366:2492-501.
57. Tait, BD. (2011). The ever-expanding list of HLA alleles: changing HLA nomenclature and its relevance to clinical transplantation. *Transplantation Reviews*;25:1-8.
58. Ueta, M., Tokunaga, K., Sotozona, C., Inatomi, T., Yabe, T., Matsushita, M., Mitsuishi, Y., Kinoshita, S. (2008). HLA class I and II gene polymorphisms in Stevens-Johnson syndrome with ocular complications in Japanese. *Molecular vision*;14:550-5.
59. Wang, X-q., Shi, X-b., Au, R., Chen, F-s., Wang, F., Lang, S-y. (2011). Influence of chemical structure on skin reactions induced by antiepileptic drugs – The role of the aromatic ring. *Epilepsy Research*;94:213-217.
60. Wang, Q., Zhou, J-q., Zhou, L-m., Chen, Z-y., Fang, Z-y., Chen, S-d., Yang, L-b., Cai, X-d., Dai, Q-l., Hong, H., Wang, H-x. (2011). Association between HLA-B\*15:02 allele and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions in Han people of southern China mainland. *Seizure*;20:446-8.
61. Wang, X-q., Lang, S-y., Shi, X-b., Tian, H-j., Wang, R-f., Yang, F. (2012). Antiepileptic drug-induced skin reactions: A retrospective study and analysis in 3793 Chinese patients with epilepsy. *Clinical Neurology and Neurosurgery*;114(7):862-5.
62. WHO (World Health Organization) (1972). International drug monitoring: the role of national centers. Tech Rep Ser WHO, no. 498.
63. WHO (World Health Organization) (1996). *Comités de Farmacoterapia – Guía Práctica*. Consultado en línea en <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js8121s/7.7.html> en Marzo 25, 2013.
64. Williams, F., Meenagh, A., Darke, C., Acosta, A., Daar, AS., Gorodezky, C., Hammond, M., Nascimento, E., Middleton, D. (2001). Analysis of the distribution of HLA-B alleles in populations from five continents. *Human Immunology*;62:645-50.
65. Wu, XT., Hu, FY., An, DM., Yan, B., Jiang, X., Kwan, P., Stefan, H., Zhou, D. (2010). Association between carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions and the HLA-B\*15:02 allele among patients in central China. *Epilepsy & Behavior*;19:405-8.
66. Zou, L-P., Ding, C-H., Song, Z-J., Li, X-F. (2012). Stevens-Johnson syndrome induced by levetiracetam. *Seizure*;21:823-5.

## ANEXO 1

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIURGÍA  
MANUEL VELASCO SUÁREZ  
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Insurgentes Sur 3877  
Col. La Fama, C.P. 14269  
Mexico, D.F., Tel. 56-06-14-07  
[www.innn.salud.gob.mx](http://www.innn.salud.gob.mx)

Fecha: \_\_\_\_\_

Protocolo: **FRECUENCIA DEL ALELO *HLA-B\*15:02* EN POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA Y SU ASOCIACIÓN CON LA PRESENCIA DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS A ANTIEPILÉPTICOS.**

Antes de participar en el estudio que se le ha propuesto, es importante que esté informado acerca de las características del mismo y que esté de acuerdo con los procedimientos a los que será sometido. **SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO ES COMPLETAMENTE VOLUNTARIA.** Esta investigación está respaldada por el Comité de Ética y de Investigación del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN).

#### Objetivo del estudio

El estudio tiene como objetivo investigar si existe una relación entre la variabilidad genética del sistema Antígeno Leucocitario Humano (HLA) y la presencia de reacciones adversas cutáneas a fármacos antiepilépticos.

#### Procedimiento:

Su participación en el estudio consistirá en lo siguiente:

- a. Se le tomarán dos tubos de sangre.
- b. Se le solicitará que responda un cuestionario sencillo para registrar cuántas crisis epilépticas ha tenido, si ha presentado efectos indeseables asociados al fármaco antiepiléptico, la marca del medicamento y qué otros medicamentos toma.

#### Riesgos

Dado que usted se encuentra ya bajo tratamiento con fármaco antiepiléptico, se considera que no se presentarán situaciones imprevistas o diferentes a las que eventualmente puede estar manifestando (cefalea, cansancio, erupciones cutáneas leves, náuseas, mareos, somnolencia e insomnio). Se le informa que puede sufrir enrojecimiento o ardor en la zona de punción durante la toma de muestra.

#### Confidencialidad

La información clínica recopilada es estrictamente confidencial. El nombre de los participantes nunca aparecerá en ningún reporte o publicación, pues para el desarrollo del estudio se siguen los reglamentos internos del INNN.

#### Contactos

Para cualquier duda o aclaración sobre este estudio puede comunicarse al teléfono 56063822 con la Dra. Iris Martínez (ext. 2052) o con la Dra. María Elisa Alonso (ext. 2022).

#### Resultados

Este estudio es a largo plazo (3 años) y requiere de la participación de un gran número de pacientes que tomen fármacos antiepilépticos. Una vez terminado el estudio si los resultados son de relevancia para usted se le contactará para comunicárselos y explicárselos.

## Consentimiento

**Gracias por tomarse el tiempo de leer detenidamente esta información y por participar en el estudio.**

A través de la presente, otorgo mi consentimiento para participar como voluntario en el protocolo de investigación **FRECUENCIA DEL ALELO *HLA-B\*15:02* EN POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA Y SU ASOCIACIÓN CON LA PRESENCIA DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS A ANTIEPILÉPTICOS.**

Hago constar que he recibido toda la información acerca de la naturaleza y propósito del estudio. He recibido, leído y entendido la carta de información del estudio, así como el riesgo descrito. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento. Entiendo que recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento. Estoy de acuerdo que la información clínica derivada del estudio de mi caso sea informada a la comunidad médica verbalmente o por escrito, pero sin revelar mi identidad.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del voluntario

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del testigo 1

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del investigador que obtuvo el consentimiento

## HOJA DE CAPTURA DE DATOS

BASE DE DATOS DE RAMc A ANTIEPILEPTICOS			
Registro:		Teléfono:	
Nombre:			
Edad (años) :	Peso:	kg	Talla: m
Género:			
0 = Hombre ( )		1 = Mujer ( )	
Mujer FUR:			
Diagnóstico:		Enfermedades concomitantes	
1 = Epilepsia idiopática		- _____	
2 = Epilepsia criptogénica		- _____	
3 = Epilepsia sintomática		- _____	
Diagnóstico completo:			
Antecedentes familiares de epilepsia: (0) No _____ (1) Sí _____			
Fármaco:			
I. Monoterapia con qué fármaco antiepiléptico _____			
0) No _____ 1) Sí _____			
1) Marca: _____			
Dosis _____ Niveles _____			
II. Politerapia			
	FAEs	Dosis	Niveles séricos
1)	_____	_____	_____
2)	_____	_____	_____
3)	_____	_____	_____
4)	_____	_____	_____
III. Uso de otros fármacos no antiepilépticos			
_____			
_____			
_____			
IV. Tabaquismo:			
No _____ Si _____ ¿Cuántos/ día? _____			
Libre de crisis:			
0) No (persiste con crisis) _____ Número de crisis por mes:			
1) Libre de crisis (por lo menos un año sin ningún tipo de crisis)			
2) Hospitalizaciones por las crisis ( ) No ( ) Sí			
¿Cuántas? _____			
3) Eventos de estado epiléptico ( ) No ( ) Sí			

<p><b>Efectos adversos Generales:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Fatiga o cansancio</li> <li>( ) Somnolencia</li> <li>( ) Nerviosismo o angustia</li> <li>( ) Sensación de atontamiento</li> <li>( ) Insomnio</li> <li>( ) Caída de cabello</li> <li>( ) Hiperactividad</li> <li>( ) Aumento de peso</li> <li>( ) Pérdida de peso</li> <li>( ) Encías gruesas o inflamadas</li> <li>( ) Impotencia o bajo deseo sexual</li> <li>( ) Hirsutismo</li> </ul>	<p><b>Efectos adversos Gastrointestinales:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Náusea y/o vómito</li> <li>( ) Estreñimiento</li> <li>( ) Diarrea</li> <li>( ) Dolor abdominal o gastritis</li> </ul>
<p><b>Efectos adversos Neurológicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Mareo o vértigo</li> <li>( ) Visión doble o borrosa o nistagmus</li> <li>( ) Temblor</li> <li>( ) Dificultad para concentración</li> <li>( ) Confusión</li> <li>( ) Inestabilidad</li> <li>( ) Diplopía</li> <li>( ) Parkinsonismo</li> <li>( ) Coreoatetosis</li> <li>( ) Lentitud de pensamiento</li> <li>( ) Cefalea</li> <li>( ) Falla en la memoria</li> <li>( ) Dificultad para caminar (ataxia)</li> <li>( ) Parestesias</li> <li>( ) Problemas para hablar</li> </ul>	<p><b>Efectos adversos Cutáneos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Alergia (rash leve)</li> <li>( ) Alergia (rash moderado o grave o Steven Johnson)</li> <li>( ) Edema Facial</li> <li>( ) Necrosis epidérmica tóxica (síndrome de Lyell)</li> </ul> <p><b>Efectos adversos Neurológicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Episodio de manía</li> <li>( ) Ideación suicida</li> <li>( ) Agresividad o irritabilidad</li> <li>( ) Depresión o tristeza</li> <li>( ) Alucinaciones, Agitación, Delirium</li> <li>( ) Cambios de humor</li> </ul>
<p><b>Efectos adversos Sistémicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Retención hídrica</li> <li>( ) Hepatomegalia</li> <li>( ) Insuficiencia Renal</li> <li>( ) Ictericia</li> <li>( ) Adenopatias</li> <li>( ) Daño hepático o falla hepática</li> <li>( ) Síndrome de hipersensibilidad con coagulación intravascular diseminada, fallo hepático o fracaso multiorgánico</li> <li>( ) Pancreatitis</li> </ul>	<p><b>Efectos adversos, Alteraciones Analíticas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>( ) Anemia</li> <li>( ) Eosinofilia</li> <li>( ) Leucopenia</li> <li>( ) Plaquetopenia</li> <li>( ) Elevación de creatinina</li> <li>( ) Hipertransaminasemia</li> <li>( ) Litiasis Renal</li> <li>( ) Trombocitopenia</li> </ul>
<p><b>Observaciones:</b></p>	



## ALGORITMO DE NARANJO PARA EVALUAR LAS RAMc

Pregunta	Sí	No	No se sabe
¿Existen informes previos concluyentes acerca de esta reacción?	+1	0	0
El acontecimiento adverso ¿apareció después de que se administrara el fármaco sospechoso?	+2	-1	0
La reacción adversa ¿mejoró al interrumpirse el tratamiento o cuando se administró un antagonista específico?	+1	0	0
¿Reapareció la reacción adversa cuando se volvió a administrar el fármaco?	+2	-1	0
¿Hay otras causas (distintas de la administración del fármaco) que puedan por sí mismas haber ocasionado la reacción?	-1	+2	0
¿Se ha detectado el fármaco en sangre (o en otros humores) en una concentración cuya toxicidad es conocida?	+1	0	0
¿Aumentó la gravedad de la reacción al aumentarse la dosis o disminuyó al reducirla?	+1	0	0
¿Había sufrido el paciente una reacción similar al mismo fármaco o a fármacos análogos en alguna exposición previa?	+1	0	0
¿Se confirmó el acontecimiento adverso mediante pruebas objetivas?	+1	0	0
Puntuación total			

Las categorías correspondientes a la puntuación total son las siguientes:

La RAMc es: segura: > 9; probable: 5-8; posible: 1-4; improbable: 0.

Fuente: *www.who.int*



Name \_\_\_\_\_ Sample ID \_\_\_\_\_

**A Locus**

Reaction Results (mark positive locations)		1				2				3				4				6				9				11																													
		H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C
Serology Equivalent	A Locus Allele Group																																																						
N.C.	Negative Control (269/269)																																																						
A1, A'Blank, A	A*01:01:01:01-01:11 01:13-03:16N15N-16N18N 22N-25:27N29-40:42:44- 50:52N-54:56N-55:57-71 73-82:84-88:90-94:96-97/ 100-10:11:103-104																																																						
A, A1, A11	A*01:12:15; A*11:02:03:06 12:18:45:111; A*23:04:34 A*24:51-62:57:61:62:64 105:120:139:188																																																						
A*	A*01:13																																																						
A*	A*01:14																																																						
A*	A*01:17; A*53:18																																																						
A*	A*01:28																																																						
A*	A*01:43																																																						
A*	A*01:51																																																						
A*	A*01:83																																																						
A*	A*01:85																																																						
A*	A*01:98																																																						
A*	A*01:99																																																						
A*	A*01:98																																																						
A2, A2'Low, A, A23, A210, A'Blank	A*02:01:01:01-01:03 01:04-01:08:01:10-01:33/ 01:34-01:39:01:41-05:04/ 06:01-06:06:09:09-10:12- 34:36-41:43N-47:49:51-54/ 57-68:70-73:74:01-76:01/ 77:79:01-80:82N-86:88N- 89:91-102:104-111:113N- 115:117-121:123:125N-127/ 130-134:137-140:142-145/ 147-155:157-183:185-242/ 244:246:248-280:282-296/ 299-307:309:311-330:332- 333:335-336																																																						
A2, A'	A*02:01:03:01:09:01:33 01:40:05:06:06:07:11:01- 11:04:35:01-35:03:42:48/ 59:61:67:69:112:115:124/ 129:136:141:148:194:247/ 251:257-298:308:310:331 A*02:122; A*68:01:01:01- 04:06-14:16-18N:21:01-28/ 30-35:37-45:47:49N:51-52/ 65																																																						
A*	A*02:135																																																						
A*	A*02:243																																																						
A2	A*02:50																																																						
A*	A*02:55																																																						
A*	A*02:96:01-56:03:103																																																						
A*, A2	A*02:73:155:245:234																																																						



