

POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y HEMORRAGIA DIGESTIVA

ADOLFO FIGUEIRAS GUZMÁN

**Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de Santiago de Compostela
Santiago de Compostela**

El estudio de la variabilidad interindividual en la respuesta a medicamentos (la denominada respuesta idiosincrásica)¹ es uno de los mayores desafíos de la farmacogenética y de la farmacoepidemiología.² La edad, las disfunciones hepáticas o renales, el consumo de alcohol y de tabaco son algunos de los factores que pueden explicar las diferencias de respuestas entre individuos. Pero también las diferentes formas de presentación (polimorfismos) en genes responsables de la codificación de enzimas metabolizadoras y de receptores de fármacos pueden jugar un importante papel en este proceso³⁻⁶.

La variabilidad en la respuesta a los medicamentos puede afectar tanto a sus beneficios como a su seguridad. Las reacciones adversas a medicamentos son cada vez más relevantes para la Salud Pública: Un estudio realizado en el Reino Unido revela que una de cada quince admisiones hospitalarias se atribuye a reacciones adversas a medicamentos.⁶ En EE.UU. se estima que anualmente fallecen más de 100.000 personas a consecuencia de las reacciones adversas a medicamentos, y más de 2 millones sufren procesos graves.⁷ Muchas de estas reacciones adversas se creían no prevenibles, pero actualmente se considera que pueden ser evitadas a través de la individualización de las terapias farmacológicas a partir de la información genética.⁸

Las hemorragias gastrointestinales (HGI) son una de las reacciones adversas a medicamentos (RAM) más frecuentes y potencialmente más graves: se calcula que su incidencia es cercana a 1,5 casos por cada 1.000 personas-año⁹ (6.6 casos en personas de más de 65 años).¹⁰ En nuestro medio, en torno al 40% de las hospitalizaciones por HGI son originadas por fármacos,^{11,12} y un 10% de estas hospitalizaciones terminan en muerte por sangrado o por perforación.¹³ Teniendo en cuenta que los costes por el tratamiento de cada ingreso se sitúan alrededor de 30.000 €, ¹⁴ en España los costes de los ingresos hospitalarios por hemorragias gastrointestinales producidas por fármacos se acerca a 200 millones de € anuales. Todo ello sin contabilizar los costes de los tratamientos de los medicamentos antiulcerosos y los costes de tiempo laboral perdido, así como los daños originados por los 2.400 fallecimientos anuales.

Medicamentos como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs),^{11,15} los antiagregantes plaquetarios¹⁶ y los anticoagulantes¹⁷ son importantes factores de riesgo de hemorragias gastrointestinales (HGI), pero recientemente también se han relacionado con otros grupos de medicamentos, como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS).^{18,19} También se ha observado un efecto sinérgico entre AINEs e ISRS para la aparición de HGI.¹⁸ Queda por conocer qué características genéticas hacen que, para individuos tratados con los mismos medicamentos y a las mismas dosis, unos desarrollen hemorragias gastrointestinales y otros no.

Mesa redonda 3: ponencia 2

El hecho de que la gastrolesividad por AINEs es dosis-dependiente,²⁰ sugiere que el mecanismo por el que algunas personas desarrollan HGI puede estar relacionado con polimorfismos de sus enzimas metabolizadoras (principalmente el CYP2C9)²¹ que, al metabolizarlos más lentamente, podría producir una sobredosis relativa, y así aumentar el riesgo de HGI. En cuanto a los ISRS, se han propuesto tres mecanismos para explicar el mayor riesgo de HGI en algunos individuos: (1) Puede estar relacionado con la inhibición de una sintetasa polimórfica del óxido nítrico, (2) con el bloqueo del receptores polimórficos 5HT_{2A} de la serotonina de las plaquetas, y (3) con una sobredosificación relativa por su metabolización lenta que puede aumentar el efecto hemorrágico de los dos mecanismos anteriores. La interacción entre ISRS y AINEs puede deberse a procesos de saturación-inhibición de enzimas conjugadas por los genes polimórficos CYP2C9 y CYP2D6 encargados del metabolismo de estos fármacos.

Polimorfismos en el metabolismo: CYP2C9

El CYP2C9 interviene en la metabolización de estos medicamentos gastrolesivos: La warfarina³ y la mayoría de los AINEs²¹ (incluyendo inhibidores selectivos de la COX-2, como el celecoxib)²² son sustratos de la enzima CYP2C9, y algunos ISRS, sobre todo la fluvoxamina,²³ son inhibidores de esta enzima. De esta manera, los ISRS pueden favorecer la acumulación de AINEs y de warfarina y aumentar así su toxicidad. El efecto tóxico de los AINEs puede verse multiplicado si el sujeto pertenece al 10-30% de la población que presenta un polimorfismo de metabolización lenta en el gen CYP2C9.³

Polimorfismos en el metabolismo: CYP2D6

Otros genes presentan polimorfismos relacionados con el metabolismo de estos medicamentos. Este es el caso del CYP2D6, que divide a los sujetos en metabolizadores rápidos y lentos e interviene en el metabolismo de los ISRS³ y de otros muchos medicamentos (se considera que metaboliza el 25% de todos los medicamentos prescritos). Los metabolizadores lentos (entre un 3 y un 10% de los caucásicos) pueden aumentar el riesgo de HGI por la acumulación de ISRS, o a través de la saturación de la otra vía metabólica alternativa (enzima codificada por el gen CYP2C9) responsable de la metabolización de la mayoría de los AINEs.²³

El gen CYP2D6 presenta muchas variantes alélicas.⁸ Sin embargo, muchos de estos polimorfismos presentan una prevalencia extremadamente baja. Desde el punto de vista de la Salud Pública son de interés prioritario aquellos que presentan una prevalencia superior al 1 ó 2% en la población. En nuestro caso, las variantes alélicas CYP2D6*2A, CYP2D6*4A,B, y la CYP2D6*3A tienen prevalencias superiores en poblaciones caucásicas.⁸

La bibliografía revisada incide en que las HGI son una de las RAM más frecuentes y graves, y que están asociadas al consumo de determinados medicamentos (principalmente AINEs y ISRS), pero se observa que existe una respuesta idiosincrásica que hasta el momento no ha sido explicada. Algunos estudios han mostrado que el metabolismo de estos medicamentos está condicionado por la

Mesa redonda 3: ponencia 2

presencia de determinados polimorfismos de elevada prevalencia. Sin embargo, falta completar este modelo teórico, valorando el papel de los polimorfismos genéticos en la respuesta idiosincrásica de esta RAM de tanta relevancia en Salud Pública.

Recientemente se han publicado dos artículos que abordan la posible relación entre polimorfismos genéticos y mayor riesgo de hemorragias asociadas a fármacos. En el artículo de Martínez et al²⁴ encuentran que existe influencia de los polimorfismos del CYP2C9 en el sangrado (OR=2.5 para los metabolizadores altos). Este resultado contrasta con el estudio de Martín JH et al,²⁵ en el que no habían encontrado relación. Estos artículos utilizan una metodología de diseños de casos y controles "parciales". Así, el primero²⁴ sólo selecciona sujetos expuestos (consumidores de AINEs), y el segundo²⁵ estudia solo a casos. Estos diseños parciales pueden presentar importantes limitaciones,^{26,27} ya que, para que este tipo de estudios sea válido, es necesario asumir que existe independencia entre el factor ambiental (medicamento) y el genético. Esto puede que no sea así en el caso de los medicamentos, pues los antecedentes de trastornos digestivos (más probable en sujetos predispuestos genéticamente) pueden reducir la probabilidad de una segunda exposición al fármaco. Además, en el estudio de Martínez et al²⁴ no ajustan por ninguna variable de confusión (edad, sexo, dosis de los fármacos) que son distintas en ambos grupos: el grupo control es de mayor edad, toma más cantidad de medicamentos. Por ello, podemos pensar que las diferencias reales podrían ser aun mayores que las que encontraron.

Hemos planteado un estudio de casos y controles "completo" con los siguientes objetivos: (1) valorar la posible interacción entre consumo de AINEs y presencia de polimorfismos de metabolización lenta en el CYP2C9; (2) valorar la posible interacción entre consumo de ISRSs y presencia de polimorfismos de metabolización lenta en el CYP2D6; (3) valorar el incremento de riesgo de hemorragia gastrointestinal asociado al consumo de ISRS; (4) valorar la posible interacción entre consumo de AINEs e ISRS.

Métodos

Se diseñó un estudio multicéntrico de casos y controles incidentes. En el estudio participan el Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, el Hospital Vall d'Hebron (Barcelona) el Hospital de Galdakao y Basurto (Vizcaya), y el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. El total de la población adscrita a los centros de estudio supera el millón y medio de habitantes.

El diseño de casos y controles se adapta bien a los objetivos de nuestro estudio, ya que permite estudiar eventos de baja incidencia relativa, como es el caso de HGI (1.5/1.000 personas-año en población general (Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12: 175-81)). Además es un diseño muy adecuado para estudiar exposiciones estables en el tiempo, como es el caso de los genes de susceptibilidad (Eur J Pharmacol 2000; 410: 121-30). Se considera como casos a todos los sujetos ingresados en los hospitales participantes entre el 12 de Enero de 2003 y el 31 de Octubre de 2005 con diagnóstico principal de perforación ulcerosa o hemorragia gastrointestinal alta, diagnosticada a través de endoscopia o mediante intervención quirúrgica. Se considerarán los diagnósticos de úlcera gástrica benigna, úlcus cardial, úlcus pilórico, úlcera duodenal, erosiones cardiales, erosiones pilóricas, lesiones agudas de la mucosa gástrica o duodenitis erosiva. Se excluirán otros diagnósticos endoscópicos

Mesa redonda 3: ponencia 2

como gastritis crónica, esofagitis, angiodisplasia, diverticulitis, intoxicación aguda por alcohol, hernia de hiato, pápula, varices esofágicas o gástricas, úlceras anastomóticas, carcinoma gástrico o duodenal y síndrome de Mallory-Weiss.

Como controles se seleccionarán sujetos que acudan a preoperatorio para ser sometidos a cirugía general de procesos clínicos no relacionados con el consumo de AINEs ni de ISRS. Se incluirán sujetos con intervenciones quirúrgicas programadas por procesos no dolorosos (cataratas, hernias inguinales, exeresis de procesos no dolorosos). Se utilizarán como criterios de exclusión tanto para casos como para controles, tener menos de 18 años de edad, antecedentes patológicos: antecedentes de neoplasia gástrica o duodenal, discrasias hemáticas, neoplasia hematológica, CID, hemodiálisis por insuficiencia renal crónica terminal, SIDA, VIH+ (tratamiento con antiretrovirales en los últimos 3 meses), adicción a drogas por vía parenteral o tratamiento de deshabituación en los últimos 3 meses, tratamiento de neoplasia con citostáticos o radioterapia en los últimos 5 meses. También se excluirán los portadores de sonda nasogástrica, los sujetos institucionalizados o a los que no sea posible realizar la entrevista en los 15 días posteriores al ingreso, las personas en las que la entrevista no resultase fiable, sujetos no residentes en el área sanitaria y aquellos que no den su consentimiento informado para participar en el estudio.

Se considera como variables dependientes la condición de caso o control del sujeto. En el análisis estadístico también se hará distinción entre dos tipos de hemorragias: gástricas y duodenales. Estas variables se recogerán basándose en los datos clínicos. Como variables independientes se incluyen el consumo de medicamentos, hábitos de salud y variables sociodemográficas, la susceptibilidad genética y la presencia de *H. Pylori*. El consumo de medicamentos, hábitos de salud y variables sociodemográfica se valoran mediante entrevista realizada por un monitor entrenado y cualificado (un profesional sanitario). En esta entrevista, además de la anamnesis farmacológica, se recoge información sobre otras variables como edad, sexo, hábito tabáquico, consumo de alcohol, de cafeína, y episodios previos de enfermedades gástricas. Para valorar la exposición a medicamentos se establece como día índice el día de los primeros signos o síntomas de la enfermedad. También se valora el origen del consumo (prescripción o automedicación), y si ha tomado medicamentos gastroprotectores. Para determinar la relación dosis-riesgo y el posible periodo de inducción y latencia se registra la dosis, el momento del inicio del consumo y la duración.

La anamnesis farmacológica consiste, en primer lugar, en una serie de preguntas acerca de los medicamentos consumidos en los últimos meses. A continuación, se pregunta por una serie de síntomas frecuentes para los cuales están indicados los medicamentos objeto de estudio, y se valora qué tratamientos han tomado para ellos. Para disminuir una mala clasificación en la anamnesis, se elaboró una lista de nombres comerciales y un catálogo con las fotografías ("pront-cards") de los medicamentos que supongan el mayor porcentaje del consumo en el área de estudio en los grupos terapéuticos objeto de estudio. Se realizan llamadas al domicilio del paciente cuando no se pueda determinar el nombre del medicamento.

Para obtener los datos de susceptibilidad genética, a todos los sujetos del estudio se les extrae, previo consentimiento informado, 3 ml de sangre total, para la determinación de los polimorfismos genéticos. Para ello se aprovecharán los procedimientos ordenados por el especialista para evitar venopunciones innecesarias. La extracción de DNA se llevará a cabo utilizando las IsoCode Cards en el centro

Mesa redonda 3: ponencia 2

coordinador. Estas tarjetas están constituidas por una matriz de papel 903 que contiene productos químicos que provocan la lisis de las células. Sobre cada tarjeta se vierten aproximadamente unos 160µl de sangre. Las células al entrar en contacto con el papel son lisadas, liberando el DNA y permitiendo que éste se una a la matriz. Además, durante la lisis se produce una inactivación de las enzimas celulares e inhibidores de la amplificación, tales como la hemoglobina, que se unen a la matriz cuando el DNA es liberado. El aislamiento del DNA a partir de una muestra de sangre será posible mediante una simple elución con agua.

La determinación de polimorfismos de los genes CYP2C9, CYP2D6 se realizará mediante la técnica de SNaPshots. El SNaPshot TM Multiplex System (Applied Biosystems) permite el análisis de hasta diez SNPs (single nucleotide polymorphisms) mediante una única reacción de "single base primer extension" y su posterior detección en un secuenciador automático de electroforesis capilar. Esta tecnología permite analizar de forma sencilla y precisa un gran número de SNPs, hasta 7680 SNPs por día en el ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer. Por otra parte, no resulta excesivamente cara, ya que no necesita primer marcador.

La presencia de *H. Pilory* se determina en suero mediante técnicas ELISA. Para ello se extrae otro tubo de 3ml de sangre. Esta no es la técnica de referencia para la determinación de *Helicobacter*, pero la determinación mediante otras técnicas (ureasa positivo en aliento o cultivo de mucosa) son muy costosas o muy invasivas.

Cada centro se encarga de realizar la anamnesis farmacológica, del almacenamiento y procesamiento de las muestras de sangre, y también de las determinaciones genéticas y de *H. Pilory*. Los datos de los pacientes de todos los centros se incluyen en una base de datos común, que presenta sistemas para minimizar el riesgo de errores a la hora de introducir los datos.

Para el análisis de datos se elaborarán modelos de regresión logística, considerando como variable dependiente la condición de caso o de control del sujeto, y como variables independientes las variables de exposición (consumo de medicamentos y presencia de polimorfismos) y variables de control.

Resultados

Desde la recogida de datos hasta el 30 de octubre de 2004 se han obtenido un total de 172 casos y 307 controles. En la tabla siguiente se muestran la distribución de los pacientes según el centro de reclutamiento.

CENTRO	Casos			Controles
	Excluidos		Incluidos	
	1º	2º		
Santiago de Compostela	52	18	42	89
Vall d'Hebron	182	23	50	74
Galdakao/Basurto	100	15	37	67
Valladolid	74	26	43	76
TOTAL			172	307

Mesa redonda 3: ponencia 2

Conclusiones

En total se tiene previsto recoger un total de 500 casos y 1500 controles. La participación de cada centro en todas las fases del proceso implica que cada centro necesita coordinar hasta seis servicios hospitalarios, y trabajar con técnicas epidemiológicas, genéticas e inmunológicas, y también aumenta la necesidad de coordinación global. En contrapartida, los centros participan directamente en todos los pasos de la investigación, lo que fomenta la formación multidisciplinar de investigadores noveles en cada centro.

Bibliografía

1. Pirmohamed M, Madden S, Park BK. Idiosyncratic drug reactions. Metabolic bioactivation as a pathogenic mechanism. Clin Pharmacokinet 1996; 31: 215-30.
2. Maitland-van der Zee AH, de Boer A, Leufkens HG. The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics. Eur J Pharmacol 2000; 410: 121-30.
3. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. Lancet 2000; 356: 1667-71.
4. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Science 1999; 286: 487-91.
5. Wolf CR, Smith G, Smith RL. Pharmacogenetics. Science, medicine, and the future. BMJ 2000; 320: 987-90.
6. Editorial. The cost of adverse drug reaction. Adverse Drug React Toxicol Rev 1997; 16: 75-8.
7. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA 1998; 279: 1200-5.
8. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. JAMA 2001; 286: 2270-9.
9. Czernichow P, Hochain P, Noursbaum JB, Raymond JM, Rudelli A, Dupas JL, Amouretti M, Gouerou H, Capron MH, Herman H, Colin. Epidemiology and course of acute upper gastro-intestinal haemorrhage in four French geographical areas. Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12: 175-81.
10. Smalley WE, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the incidence of hospitalizations for peptic ulcer disease in elderly persons. Am J Epidemiol 1995; 141: 539-45.
11. Laporte JR, Carne X, Vidal X, Moreno V, Juan J. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Catalan Countries Study on Upper Gastrointestinal Bleeding. Lancet 1991; 12: 337: 85-9.
12. Laporte JR, Ibanez L, Vidal X, Vendrell L, Leone R. Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDs: newer versus older agents. Drug Saf 2004; 27: 411-20.
13. Peterson GM, Bergin JK, Nelson BJ, Stanton LA. Improving drug use in rheumatic disorders. J Clin Pharm Ther 1996; 21: 215-20.

Mesa redonda 3: ponencia 2

14. Vargas E, Cabrera L, Morón A, et al. Evaluación del coste hospitalario derivado del diagnóstico y tratamiento de las hemorragias digestivas en pacientes tomadores de antiinflamatorios no esteroideos. *Rev Esp Enferm Dig (Mad)* 2001; 93: 390-3.
15. Hernandez Diaz S, Rodriguez LA. Association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper gastrointestinal tract bleeding/perforation: an overview of epidemiologic studies published in the 1990s. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2093-9.
16. Boysen G. Bleeding complications in secondary stroke prevention by antiplatelet therapy: a benefit-risk analysis. *J Intern Med* 1999; 246: 239-45.
17. Gallus AS, Baker RI, Chong BH, Ockelford PA, Street AM. Consensus guidelines for warfarin therapy. Recommendations from the Australasian Society of Thrombosis and Haemostasis. *Med J Aust* 2000; 172: 600-5.
18. De Abajo FJ, Rodriguez LA, Montero D. Association between selective serotonin reuptake inhibitors and upper gastrointestinal bleeding: population based case-control study. *BMJ* 1999; 319: 1106-9.
19. Van Walraven C, Mamdani MM, Wells PS, Williams JI. Inhibition of serotonin reuptake by antidepressants and upper gastrointestinal bleeding in elderly patients: retrospective cohort study. *BMJ* 2001; 323: 655-8.
20. Henry D, Lim LL, García Rodríguez LA, Perez Gutthann S, et al. Variability in risk of gastrointestinal complications with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs: results of a collaborative meta-analysis. *BMJ* 1996; 312: 1563-6.
21. Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 525-38.
22. Davies NM, McLachlan AJ, Day RO, Williams KM. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of celecoxib: a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38: 225-42.
23. Hemeryck A, De Vriendt C, Belpaire FM. Inhibition of CYP2C9 by selective serotonin reuptake inhibitors: in vitro studies with tolbutamide and (S)-warfarin using human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999; 54: 947-51.
24. Martinez C, Blanco G, Ladero JM, Garcia-Martin E, Taxonera C, Gamito FG, Diaz-Rubio M, Agundez JA. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 205-8.
25. Martin JH, Begg EJ, Kennedy MA, Roberts R, Barclay ML. Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID gastric ulceration? *Br J Clin Pharmacol* 2001; 51: 627-30.
26. Albert PS, Ratnasinghe D, Tangrea J, Wacholder S. Limitations of the case-only design for identifying gene-environment interactions. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 687-93.
27. Liu X, Fallin MD, Kao WH. Genetic dissection methods: designs used for tests of gene-environment interaction. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14: 241-5.