



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

**“Farmacocinética de la lamotrigina en pacientes pediátricos
mexicanos con diagnóstico de epilepsia: Desarrollo de un modelo
matemático.”**

T E S I S

Que presenta

JOSÉ EDUARDO JUÁREZ HERNÁNDEZ

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE FARMACOLOGÍA

Directores de la Tesis:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández

Dra. Mara Medeiros Domingo

Ciudad de México

Diciembre, 2018

El presente trabajo de investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y la Dra. Mara Medeiros Domingo. El reclutamiento de pacientes y muestreo de farmacocinéticas se realizó en el laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”. La cuantificación de fármacos y el desarrollo del modelo se llevaron a cabo en el Laboratorio 34 del Departamento de Farmacología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Unidad Zacatenco.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Dr. Gilberto Castañeda, gracias por darme la oportunidad de poder trabajar en su laboratorio y aprender de usted. Gracias por los consejos, todo el apoyo que me ofreció y todas las experiencias que compartió conmigo. Me siento muy orgulloso y agradecido de ser su alumno.

Dra. Mara Medeiros, gracias por su apoyo durante la realización de este trabajo.

Dra. Claudia Pérez y Dra. Liliana Favari, gracias por su apoyo y sus comentarios que ayudaron a mejorar y enriquecer este trabajo.

Gracias Dr. Rafael Camacho Carranza por enseñarme el camino de la ciencia y abrirme las puertas de su laboratorio para que pudiera adentrarme en este mundo.

Dr. Bruce Carleton, gracias por la ayuda recibida para la realización de este trabajo y por la oportunidad que me brinda de continuar mis estudios bajo su guía.

Dr. Rodrigo González, muchas gracias por todo el apoyo, la paciencia y el conocimiento que compartiste conmigo, eres un gran maestro.

Gracias Lulú por recibirme en el laboratorio y ser siempre un apoyo para que todo saliera de la mejor manera posible.

Ari, Lore, Suset, Alan y Ray: gracias por su amistad y por permitirme aprender de ustedes y trabajar a su lado, estoy muy feliz de haberlos conocido y espero sigamos trabajando juntos.

Moni, Vicky, Yare y Jose, gracias por su amistad, definitivamente hicieron que estos dos años sean inolvidables para mi. Los quiero.

Daniella, Lina, Dave y Salvador: Gracias por su invaluable amistad, cada uno de ustedes ha formado parte fundamental de mi vida a través de los años, sin ustedes nada sería igual.

Mamá, papá, Maryfer y Estefa: gracias por siempre estar a mi lado y ayudarme a cumplir mis sueños, gracias por todo el esfuerzo que han hecho por mí y por el apoyo incondicional.

Para mi mamá y mi papá,
Gracias por su cariño y su apoyo incondicional.
Siempre serán mi ejemplo a seguir. Los amo.

Tabla de contenido

Resumen	IX
Abstract	X
1 Introducción	1
1.1 Epilepsia	1
1.1.1 Incidencia de epilepsia.....	1
1.1.2 Clasificación de la epilepsia.....	1
1.1.3 Tratamiento de la epilepsia.....	3
1.2 Farmacocinética	4
1.2.1 Absorción	4
1.2.2 Distribución	4
1.2.3 Metabolismo	5
1.2.4 Excreción	5
1.3 Monitoreo terapéutico	6
1.4 Lamotrigina	6
1.4.1 Propiedades fisicoquímicas	7
1.4.2 Mecanismo de acción	7
1.4.3 Propiedades farmacocinéticas.....	8
1.5 Métodos de cuantificación de concentraciones séricas de fármacos	10
1.6 Validación de un método analítico para la cuantificación de fármacos	10
1.6.1 Selectividad	11
1.6.2 Linealidad	11
1.6.3 Precisión.....	11
1.6.4 Exactitud	12
1.7 Genotipificación	12
1.8 Modelos matemáticos en farmacología	14
1.8.1 Modelo matemático farmacocinético.....	14
1.8.2 Modelo estructural	15
2 Antecedentes	17

3	<i>Planteamiento del problema</i>	18
4	<i>Justificación</i>	18
5	<i>Hipótesis</i>	19
6	<i>Objetivos</i>	19
6.1	Objetivo general	19
6.2	Objetivos específicos	19
7	<i>Materiales y métodos</i>	20
7.1	Reclutamiento de pacientes y toma de muestras	20
7.2	Cuantificación de lamotrigina	20
7.3	Genotipificación.....	21
7.4	Desarrollo del modelo matemático farmacocinético	22
8	<i>Resultados</i>	22
8.1	Validación	22
8.1.1	Selectividad	22
8.1.2	Linealidad	26
8.1.3	Precisión.....	27
8.1.4	Exactitud	29
8.2	Genotipificación	29
8.3	Demografía	30
8.4	Análisis Exploratorio	31
8.5	Análisis No Compartamental (NCA)	32
8.6	Desarrollo del modelo matemático farmacocinético	33
8.6.1	Elección del modelo.....	34
8.6.2	Evaluación de modelos estructurales	34
8.6.3	Evaluación de covariables	35
8.7	Evaluación del modelo completo	37

8.8	Simulación de datos.....	39
8.9	Modelo final	41
9	<i>Discusión</i>.....	42
10	<i>Conclusiones</i>	44
11	<i>Perspectivas</i>.....	45
12	<i>Referencias</i>	46

Resumen

La epilepsia es una enfermedad compleja que requiere de un tratamiento preciso y eficiente para evitar consecuencias severas en la vida de los pacientes. La lamotrigina es uno de los fármacos que se utiliza frecuentemente en el tratamiento de esta enfermedad, desafortunadamente, se ha demostrado una gran variabilidad tanto en la farmacocinética como en la respuesta terapéutica al fármaco.

Para intentar explicar dicha variabilidad en la farmacocinética de la lamotrigina, se decidió utilizar un modelo matemático farmacocinético. Utilizando el software Phoenix NLME 8.1 y un algoritmo condicional de primer orden (FOCE-ELS) se desarrollaron y probaron diferentes modelos, siendo el mejor un modelo de un compartimento con absorción de primer orden.

Con respecto al modelo estructural se obtuvieron los siguientes parámetros: K_a 4.94 ± 1.15 (h^{-1}), V 38.00 ± 3.56 (L) and Cl 0.87 ± 0.11 (L/h). Al realizar el análisis de covariables se determinó que la concomitancia con valproato afecta de manera importante la depuración de Lamotrigina, de igual manera los polimorfismos en el gen *UGT2B7* afectan la cinética de manera importante, por lo cual, de ser posible, estas dos covariables deberían evaluarse al momento de prescribir este fármaco.

En general, el modelo desarrollado puede realizar predicciones acertadas de las concentraciones plasmáticas a través del tiempo. Sin embargo, el modelo aún es susceptible de mejora y continuará alimentándose con información obtenida de pacientes pediátricos, lo cual le dará un mejor valor predictivo. A futuro, el modelo requerirá de una validación externa para poder ser utilizado en la clínica, ayudará en la optimización de la dosis recomendada de manera personalizada, y por lo tanto, podría reducir la frecuencia de aparición de efectos adversos y mejorar la respuesta terapéutica.

Abstract

Epilepsy is a complex disease that requires a fast and efficient treatment to avoid severe consequences in patients' life. Lamotrigine is one of the main drugs used in the pharmacologic management of the disease, unfortunately, there exist several reports of great variability in the pharmacokinetics and the therapeutic outcomes has been demonstrated when Lamotrigine is prescribed.

To explain the large variability in the pharmacokinetics of Lamotrigine in Mexican children we decided to approach through a population pharmacokinetic model. Using Phoenix NLME 8.0 and the first-order conditional estimation extended least squares (FOCE ELS) algorithm several structural pharmacokinetic models were tested, and a one-compartment, first order absorption model was selected.

In regard to the structural model we obtained the following parameters: $K_a 4.94 \pm 1.15$ (h^{-1}), $V 38.00 \pm 3.56$ (L) and $Cl 0.87 \pm 0.11$ (L/h). After covariate assessment was performed we found that concomitance with Valproate impacts significantly over clearance, same goes for polymorphisms of the gen *UGT2B7*, therefore, we think that this covariables should be assessed by physicians when prescribing this drug.

Overall, the model can predict accurately the plasma concentrations through time, nevertheless it is still susceptible to improvement and will be enriched with extra monitoring points over time, this will enhance the model predictions. In the future the model will need an external validation and after that it may be used in clinic for dose optimization reducing the frequency of adverse effects and improving drug clinical outcomes.

1 Introducción

1.1 Epilepsia

La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, por sus siglas en inglés), define a la epilepsia como: “Una enfermedad caracterizada por una predisposición a generar crisis convulsivas, que además presenta consecuencias neurobiológicas cognitivas, fisiológicas y sociales asociadas a dicha condición”.^[1] La epilepsia puede tener consecuencias severas en la vida de los pacientes, por esta razón el tratamiento de la epilepsia debe ser lo más preciso, eficaz y rápido posible.

1.1.1 Incidencia de epilepsia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud en el mundo existen aproximadamente cincuenta millones de personas con epilepsia, lo cual la convierte en una de las enfermedades neurológicas más frecuentes. En el mismo reporte, la OMS establece que aproximadamente 80% de las personas que padecen epilepsia viven en países de bajo o mediano ingreso, de esta población tres cuartas partes no reciben tratamiento para la enfermedad, mientras que de aquellos que sí reciben tratamiento, aproximadamente el 70% presentan una respuesta favorable.^[2]

En México, el Programa Prioritario de Epilepsia reportó en el 2016 una prevalencia de 11 a 15 personas con epilepsia por cada diez mil habitantes, por lo que se calculó que en el país existían un millón y medio de personas con epilepsia.^[3]

1.1.2 Clasificación de la epilepsia

La misma ILAE presentó en el año 2017 una clasificación de la epilepsia que se basa en el tipo de convulsiones que presenta el paciente. De acuerdo con esta organización una convulsión se define como: “Un evento transitorio acompañado de signos y síntomas asociados a actividad anormal excesiva y/o sincrónica del cerebro.”

Esta clasificación presenta dos categorías: crisis focales y crisis generalizadas.^[4] Las crisis focales son aquellas donde únicamente se ve afectada una región específica del cerebro y se pueden subdividir de acuerdo con el estado de consciencia del paciente durante el episodio convulsivo. Las crisis conscientes son aquellas en las que el paciente se mantiene perceptivo y mantiene el conocimiento de si mismo y del ambiente aún si se encuentra inmóvil. Por otro lado, las crisis inconscientes son aquellas donde el paciente pierde el conocimiento de si mismo y el ambiente que lo rodea. Ambos tipos de epilepsia posteriormente se subclasifican en crisis motoras y crisis no motoras.^[4]

En las crisis generalizadas se ve afectada la totalidad del tejido encefálico, éstas se pueden subclasificar en motoras y no motoras (también llamadas crisis de ausencia); las crisis motoras se pueden subdividir de acuerdo con el tipo de movimiento que presentan en: crisis tónico-clónicas y otras motoras.

Si se desconoce el origen de las crisis convulsivas, estas se clasifican como “Crisis de origen desconocido”, esta categoría se puede dividir en motoras y no motoras. Si no existe la capacidad o no hay información suficiente para clasificar la epilepsia, la ILAE propone la categoría “no clasificable”.^[5]

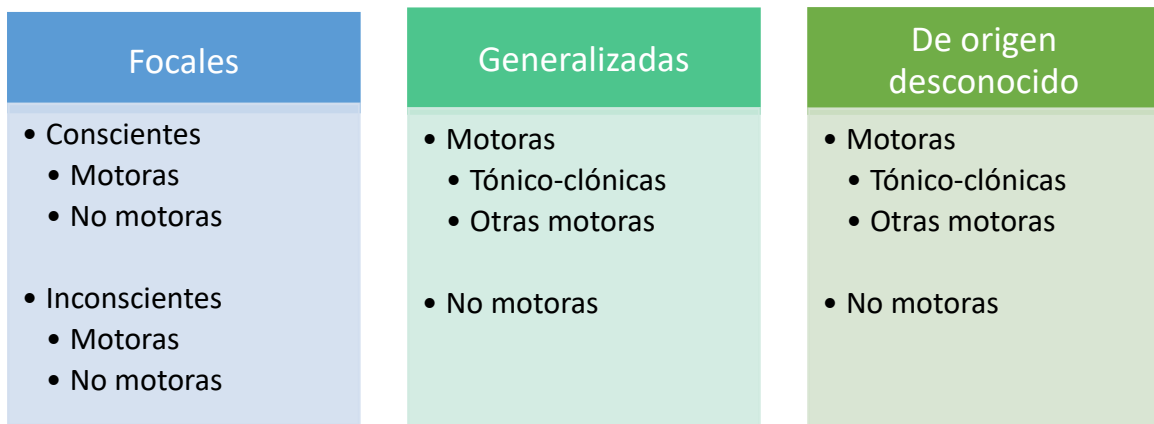


Figura 1: Clasificación de la epilepsia de acuerdo con la Liga Internacional Contra la Epilepsia.

1.1.3 Tratamiento de la epilepsia

El Instituto Nacional para la Excelencia Clínica del Reino Unido (NICE) establece en sus lineamientos para el tratamiento farmacológico de la epilepsia que el fármaco a utilizar dependerá del tipo de convulsiones que presenta la epilepsia a tratar.

Para la epilepsia focal recién diagnosticada en pacientes pediátricos, la NICE recomienda el uso de lamotrigina o carbamazepina como tratamiento de primera línea. En el caso de epilepsia focal que no se ha podido controlar por carbamazepina se sugiere utilizar lamotrigina como fármaco concomitante.

En cuanto a la epilepsia generalizada tónico-clónica de pacientes pediátricos se considera tratamiento de primera línea al valproato, si el paciente no es apto para tomar este fármaco se recomienda utilizar lamotrigina. En el caso de que el paciente presente epilepsia generalizada de difícil control se recomienda utilizar como fármaco adyuvante lamotrigina (si no se ha administrado), clobazam o levetiracetam, mientras que para la epilepsia generalizada no motora (crisis de ausencia), se considera tratamiento de primera línea la lamotrigina, etosuximida o valproato.

De igual manera se recomienda el uso de lamotrigina en diferentes síndromes epileptogénicos como el síndrome de Lennox-Gastaut, síndrome de Dravet y síndrome de Panayiotopoulos. ^[6]

De acuerdo con estas guías tanto la lamotrigina como el valproato son los dos fármacos más utilizados en el tratamiento de la epilepsia en pacientes pediátricos, y frecuentemente se recomienda su uso de manera conjunta en epilepsias de difícil control.

En México, existe la guía para el manejo de la primera crisis convulsiva en pacientes pediátricos, publicada por el Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud (CENETEC)

donde se recomienda establecer el tratamiento con lamotrigina tanto para crisis focales como para crisis generalizadas.^[7]

1.2 Farmacocinética

Farmacocinética se define como el estudio de los procesos a los que es sometido un fármaco a través del tiempo posterior a su entrada en un sistema biológico, la farmacocinética se divide para su estudio en cuatro procesos fundamentales: absorción, distribución, metabolismo y excreción.^[8]

1.2.1 Absorción

Absorción se les denomina a todos los procesos que intervienen en la entrada del fármaco al cuerpo, desde el sitio de administración hacia el torrente sanguíneo desde donde se puede llevar a cabo su distribución.

El proceso de absorción se puede dividir en dos factores diferentes: la cantidad de absorción (la cual no depende del tiempo) y la tasa de absorción, que indica la velocidad a la que se absorbe el fármaco.^[9] En el proceso de absorción participan diferentes factores que ayudan o impiden que el fármaco sea capaz de atravesar las barreras biológicas. En el caso de la absorción por vía oral es importante considerar tanto las propiedades del medicamento (fármaco y excipientes) como las características y variaciones fisiológicas que presenta cada. ^[10]

1.2.2 Distribución

La distribución se refiere a aquellos procesos involucrados en el transporte del fármaco desde su sitio de entrada al organismo hasta el sitio de acción en donde podrá ejercer su efecto terapéutico. Para estudiar la distribución se utiliza el volumen aparente de distribución, este parámetro relaciona la cantidad del fármaco administrada con la concentración del fármaco que se encuentra en el compartimento donde se hace la

medición. La concentración de fármaco que se encuentra en ese fluido dependerá tanto de las propiedades fisicoquímicas del fármaco como de su capacidad para abandonar el espacio vascular (si la medición no se realiza en plasma) y atravesar las membranas celulares.

Muchos de los fármacos se distribuyen unidos a proteínas, la proteína más abundante en el plasma es la albúmina. La unión a proteínas entorpece la eliminación alargando el tiempo que el fármaco permanece en el cuerpo y la competencia de dos fármacos por la unión a proteínas puede producir interacciones cinéticas importantes.^[10, 11]

1.2.3 Metabolismo

El metabolismo de fármacos se lleva a cabo principalmente en el hígado, metabolismo son todos los procesos de modificación al fármaco que generalmente lo inactivan, los procesos de metabolismo generalmente son por oxidación, reducción hidrólisis, hidratación, conjugación, condensación e isomerización.

Para muchos fármacos, el metabolismo ocurre en dos fases, en la fase I se incluyen reacciones que involucran la formación o modificación de un grupo funcional, mientras que las reacciones de fase II involucra la conjugación del fármaco con compuestos endógenos como glucoronato, sulfito, glicina, etc.^[12]

1.2.4 Excreción

La fase de excreción involucra todos los procesos que se encargan de sacar un fármaco del cuerpo, uno de los parámetros más importantes que se utilizan para describir la excreción es el aclaramiento (CL), el aclaramiento correlaciona la concentración con la tasa de eliminación del fármaco. Es importante destacar las diferencias entre eliminación y aclaramiento: eliminación describe la tasa de pérdida (mg/h, es decir, cantidad sobre tiempo) mientras que el aclaramiento contiene unidades de flujo (L/h), por lo tanto, si el

aclaramiento es constante, entonces la eliminación del fármaco será linealmente proporcional a la concentración del fármaco.

Las principales vías de excreción son la vía renal y la vía biliar y es importante conocer la vía de eliminación de los fármacos en estudio ya que es posible que se presente competencia por las vías de excreción. ^[13]

1.3 Monitoreo terapéutico

Al prescribir un fármaco el objetivo es lograr el efecto terapéutico, para alcanzarlo es necesario que las concentraciones de este se encuentren dentro de la ventana terapéutica. Concentraciones por encima de la ventana terapéutica aumentan la probabilidad de que se presenten efectos adversos, mientras que concentraciones subterapéuticas provocarán que no se logre el efecto deseado.

El monitoreo terapéutico es particularmente útil cuando se utilizan fármaco de ventana terapéutica estrecha ya que permite suponer el efecto obtenido dependiendo de las concentraciones medidas. ^[14]

1.4 Lamotrigina

La lamotrigina es una feniltriazina sintética con propiedades antiepilépticas y analgésicas. ^[15] Fue sintetizada por primera vez en el año de 1970, sin embargo, fue aprobada para su uso en humanos como tratamiento para la epilepsia hasta la década de 1990. En el año 2003, la FDA aprobó el uso de la lamotrigina como terapia para el trastorno bipolar. ^[16]

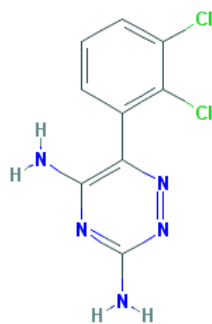


Figura 2: Estructura química de la lamotrigina.

3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina. Tomada de Pubchem.

1.4.1 Propiedades fisicoquímicas

La lamotrigina es un sólido color crema pálido cuyo peso molecular es de 256.09 g/mol, su punto de fusión es 216 °C, es soluble en agua hasta una concentración de 170 mg/L a 25 °C, en ácido clorhídrico 0.1 M es soluble hasta una concentración de 4.1 mg/L a 25 °C. La lamotrigina presenta dos constantes de disociación: $pK_{a1} = 8.53$ y $pK_{a2} = 9.21$.^[15]

1.4.2 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de la lamotrigina consiste en estabilizar las terminales presinápticas, esto lo logra al incrementar la actividad de las terminales GABA, cuya acción es principalmente inhibitoria (Figura 3).^[17]

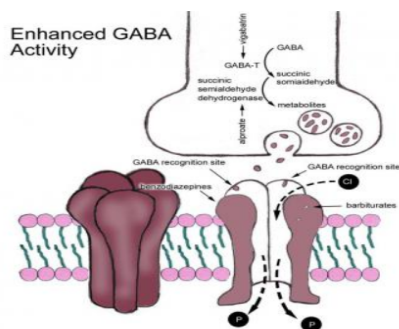


Figura 3. La activación de las terminales GABA es uno de los mecanismos de acción propuestos para la lamotrigina. Tomada de medscape.

Adicionalmente, se ha demostrado que puede actuar inhibiendo el disparo en ráfaga de los canales de sodio dependientes de voltajes e inhibiendo la liberación de glutamato, un neurotransmisor excitatorio (Figura 4). [17, 18, 19]

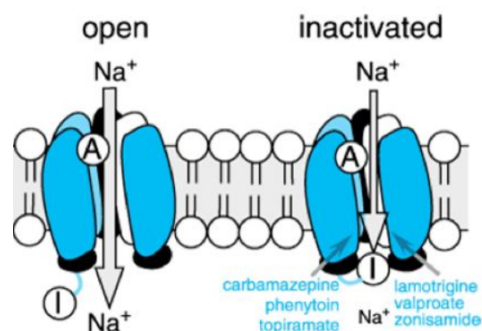


Figura 4. Inhibición del disparo en ráfaga de los canales de sodio. Tomada de medscape.

1.4.3 Propiedades farmacocinéticas

1.4.3.1 Absorción

La lamotrigina se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal tras su administración vía oral, con una T_{max} promedio de 1 hora con una biodisponibilidad de aproximadamente el 98%. [20, 21]

1.4.3.2 Distribución

La lamotrigina se une a proteínas en un 55%, por lo tanto, no es frecuente que se presenten interacciones por competencia en la fase de distribución; el volumen aparente de distribución va de 0.9 a 1.3 L/kg. [18]

1.4.3.3 Metabolismo

Este fármaco presenta un metabolismo principalmente hepático que se lleva a cabo por las enzimas UDP-glucoronil-transferasas, particularmente las enzimas codificada por los genes *UGT1A4* y *UGT2B7*. Los principales metabolitos generados por la degradación de la

lamotrigina son el 2-N-glucurónido, el 5-N-glucurónido y el 2N metilo, los cuales no tienen actividad biológica demostrada.^[22]

1.4.3.4 Excreción

La lamotrigina se excreta por vía renal en un 71-94%, mientras que 2% se elimina por vía biliar. Presenta una vida media de 29 horas. Se ha demostrado que los inductores del sistema de enzimas hepáticas como fenobarbital, fenitoína y carbamazepina pueden reducir la vida media de la lamotrigina de manera importante. Por otro lado, la coadministración con valproato disminuye la eliminación de la lamotrigina y puede prolongar su vida media de manera importante.^[22]

1.4.3.5 Eventos adversos

Los eventos adversos más frecuentemente asociados con el uso de lamotrigina son en términos generales considerados leves, siendo el más común el rash cutáneo con una frecuencia de 8.3% de los pacientes que usan el fármaco, seguido por cefalea que es presentada por 7.9% de los pacientes. Aunque estos eventos no son graves provocan desapego o abandono del tratamiento.^[23]

Eventos adversos más comunes asociados al uso de lamotrigina.	
Efecto adverso	Frecuencia
Rash cutáneo	8.3%
Cefalea	7.9%
Nasofaringitis	5.5%
Somnolencia	1.5%
Dolor abdominal	1.5%

Tabla 1. Tomada de Egunsola et al. (2015).

1.5 Métodos de cuantificación de concentraciones séricas de fármacos

Existen diferentes métodos para lograr la cuantificación de las concentraciones séricas de fármacos, las más comúnmente utilizadas son: las técnicas de cromatografía, la cuantificación por inmunoensayo y las pruebas mediadas por enzimas.

Las técnicas por cromatografía consisten en la separación de los componentes de una mezcla (plasma), para su posterior cuantificación por alguna técnica espectrométrica (luz ultravioleta o masas).

Por otro lado, la cuantificación por inmunoensayo se realiza utilizando anticuerpos que son capaces de reconocer específicamente la molécula de interés, estos anticuerpos van marcados con fluorescencia o isotopos que permitan la posterior cuantificación del fármaco en estudio.

Las pruebas mediadas por enzimas se realizan aprovechando la capacidad de algunos fármacos de detener la acción catalítica de algunas enzimas, dicha inhibición puede ser cuantificada y posteriormente relacionada con las concentraciones del fármaco.

La técnica de cuantificación que se debe utilizar dependerá siempre de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, así como de su mecanismo de acción.^[24]

1.6 Validación de un método analítico para la cuantificación de fármacos

La validación de un método de cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a luz ultravioleta en México se debe llevar a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-177-SSA1-2013).^[25]

1.6.1 Selectividad

La Norma Oficial Mexicana establece que se debe demostrar la no interferencia de compuestos de la matriz biológica mediante la evaluación inicial de al menos seis unidades diferentes de plasma, además de considerar posibles interferencias con fármacos de uso común.^[25]

1.6.2 Linealidad

Una vez que se cuenta con los datos de selectividad se inicia el desarrollo de la curva de calibración, la Norma establece que el límite inferior de cuantificación (LIC) debe ser al menos el 5% de la C_{max} reportada para el analito de interés, a partir de ese valor se debe elaborar una curva que contenga al menos seis puntos diferentes y elegir un modelo matemático que describa la relación entre la cantidad del fármaco y la respuesta obtenida.

Para demostrar la linealidad del método se evalúan tres curvas diferentes donde los datos de concentración recuperada no deben presentar una variación mayor al 15% en cada uno de los puntos, excepto para el límite inferior de cuantificación donde puede existir una variación hasta del 20%.

Posteriormente, a estas curvas se deben agregar tres puntos control, denominados: bajo, medio y alto, estos puntos deben encontrarse dentro del intervalo de la curva pero no deben ser iguales a ningún punto de la misma.^[25]

1.6.3 Precisión

La precisión se debe de evaluar en términos de exactitud y de repetibilidad.^[25]

1.6.3.1 Repetibilidad

Para evaluar la repetibilidad se debe analizar en un mismo día, al menos por quintuplicado, el LIC y los controles bajo, medio y alto. El coeficiente de variación en porcentaje (CV%) no

debe ser mayor del 15% para todos los puntos control, para el límite inferior de cuantificación que no debe ser mayor del 20%.^[25]

1.6.3.2 Reproducibilidad

La evaluación de reproducibilidad requiere analizar por quintuplicado en tres corridas analíticas y en al menos dos días diferentes las muestras control bajo, medio y alto, así como el límite inferior de cuantificación; para cada muestra control se debe calcular la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración. El coeficiente de variación en porcentaje (CV%) no debe exceder el 15% para los puntos control y el 20% para el límite inferior de cuantificación.^[25]

1.6.4 Exactitud

Para evaluar exactitud se utilizan los datos de repetibilidad y reproducibilidad y se calcula la desviación de la concentración obtenida respecto al valor nominal empleando la siguiente ecuación:

$$\%Desviación = (100) \frac{(Concentración\ adicionada)(Concentración\ obtenida)}{(Concentración\ adicionada)}$$

El valor promedio del porcentaje de desviación no debe ser mayor al 15%, excepto para el límite inferior de cuantificación, el cual debe ser menor o igual al 20%.^[25]

1.7 Genotipificación

Genotipificación es el proceso por el cual se determina la secuencia exacta de ADN de un individuo, a través de diferentes técnicas, para posteriormente comparar dicha secuencia con la de otro individuo o con una secuencia de referencia.

Actualmente, existen diferentes métodos para poder genotipificar, entre los cuales se encuentran la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las sondas específicas para oligonucleótidos (ASO) y la hibridación a microarreglos, entre otras.

Dadas las limitaciones tecnológicas que existen actualmente, la genotipificación se realiza de manera parcial, es decir, se realiza de una manera dirigida y específica, buscando el gen de interés con la finalidad de encontrar polimorfismos de un nucleótido (SNPs) en posiciones específicas.^[26]

En estudios farmacológicos el conocer el genotipo puede ayudar a conocer si el paciente presenta algún polimorfismo en los genes que codifican las enzimas encargadas de metabolizar el fármaco de interés, esto puede, en algunos casos, explicar de manera parcial la variabilidad en la respuesta terapéutica de algunos fármacos. Lo anterior se torna relevante para aquellos fármacos que se utilizan en el tratamiento de enfermedades cuyo tratamiento requiere ser preciso.^[27, 28]

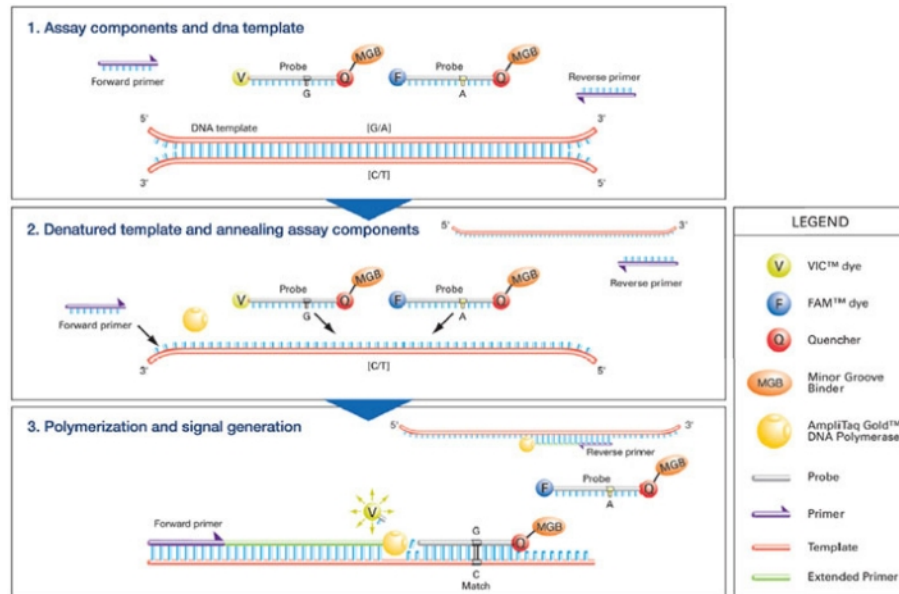


Figura 5: Proceso de secuenciación utilizando el ensayo TaqMan. Imagen tomada de ThermoFisher.

1.8 Modelos matemáticos en farmacología

Un modelo es una representación de un sistema diseñada para proveer conocimiento y ayudarnos a entender dicho sistema; generalmente esta representación es una simplificación y dicha simplificación se realizará dependiendo del objetivo que se busca cumplir.^[29]

Un modelo matemático es la representación de un sistema a través de ecuaciones que relacionan los componentes que conforman el sistema entre si y explica el impacto de cada componente en el sistema de una manera numérica.^[29]

En farmacología existen diferentes tipos de modelos que pueden ayudar a entender diferentes fenómenos, entre ellos se encuentran los modelos de correlación *in vivo- in vitro* (IVIVC), los modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD), los modelos fisiológicos farmacocinéticos (PBPK) y los modelos farmacocinéticos (PK).^[29, 30, 31]

1.8.1 Modelo matemático farmacocinético

Un modelo farmacocinético es la representación simplificada de un organismo al cual se le administra una cantidad determinada de un fármaco y su finalidad es ayudar a explicar y caracterizar la variabilidad que existe en la concentración de un fármaco a través del tiempo tanto de manera interindividual como intraindividual.

La información generada a través de este tipo de modelos permite entender de mejor manera los cuatro procesos farmacocinéticos (absorción, distribución, metabolismo y excreción), explicar la variabilidad interindividual que existe entre pacientes, realizar predicciones del comportamiento cinético de un fármaco en una población a determinar, la simulación de información a partir de las observaciones realizadas en un estudio, así como la optimización de la dosificación basada en las predicciones realizadas.^[29]

1.8.2 Modelo estructural

La base de todo modelo matemático farmacocinético es el establecer tres parámetros, y determinar como se relacionan estos tres parámetros entre si: La constante de absorción (K_a) explica la tasa a la que un fármaco entra al organismo, el volumen de distribución (V_d) ayuda a entender en dónde se está distribuyendo el fármaco administrado, mientras que el aclaramiento (CL) proporciona información acerca de la velocidad a la que un fármaco está siendo eliminado. Conocer esta información podemos predecir el comportamiento farmacocinético de un medicamento en el paciente, ya que cada parámetro se encuentra relacionado con una fase del tránsito de la sustancia a través del organismo.

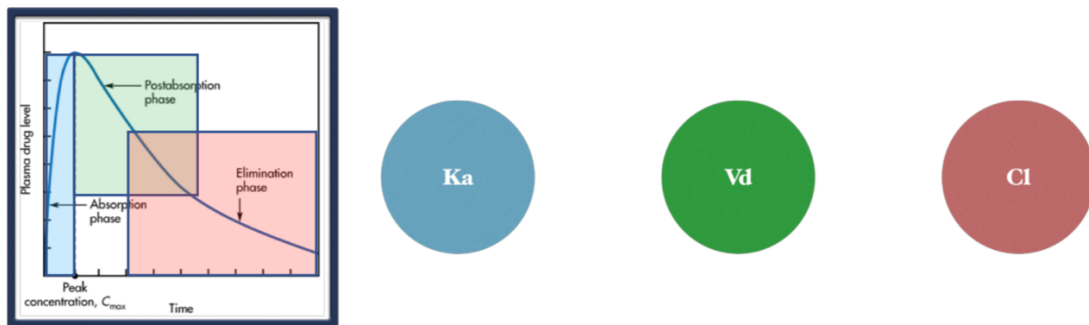


Figura 6: La constante de absorción, volumen de distribución y aclaramiento son los parámetros estructurales que permiten explicar el comportamiento de un fármaco. Es importante recordar que los tres procesos ocurren de manera simultánea. Tomada y modificada de Shargel et al. (2012).

1.8.2.1 Modelo de un compartimento

En el modelo de un compartimento se asume que el fármaco tiene capacidad de distribuirse por todo el organismo. En la Figura 7 se presenta un esquema de un modelo de un compartimento, donde se tiene una cantidad determinada que entra al sistema a una tasa determinada (K_a). En ese compartimento, llamado compartimento central, es donde se realiza la medición (C_{obs}) y desde ese mismo sitio se dará la salida a un flujo determinado (CL).^[29]

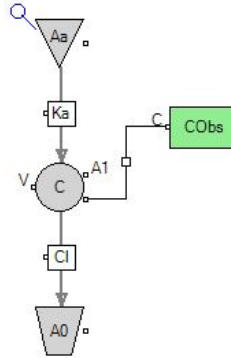


Figura 7. Representación gráfica de un modelo de un compartimento. Obtenida de Phoenix NLME 8.1

1.8.2.2 Modelo de dos compartimentos

Un modelo de dos compartimentos presenta una estructura muy similar al modelo de un compartimento, salvo que se asume que el fármaco presenta cierta dificultad para llegar a algún sitio en el organismo. A ese sitio se le denomina compartimento periférico y como se puede observar en la figura 8 existe un intercambio entre el compartimento central y el periférico a un determinado flujo (CL_2). Tanto la eliminación como las demás mediciones ocurren a partir del compartimento central.^[29]

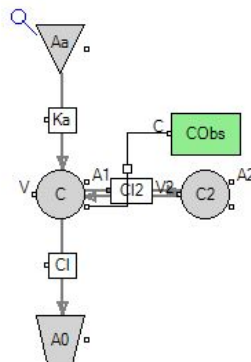


Figura 8. Representación gráfica de un modelo de dos compartimentos. Obtenida de Phoenix NLME 8.1

1.8.2.3 Modelo de absorción y tiempo de tránsito intestinal (GITT)

Este tipo de modelos se desarrollaron con la finalidad de poder describir y representar de mejor manera el proceso de absorción en el tracto gastrointestinal, para lograr esto se realizan compartimentos que describen la fisiología del tracto gastrointestinal considerando el pH de cada segmento, la motilidad intestinal, las propiedades fisicoquímicas del fármaco, entre otras.^[32, 33] Este tipo de modelos son especialmente útiles cuando se encuentra comprometido o existe mucha variabilidad en el proceso de absorción (Figura 9).

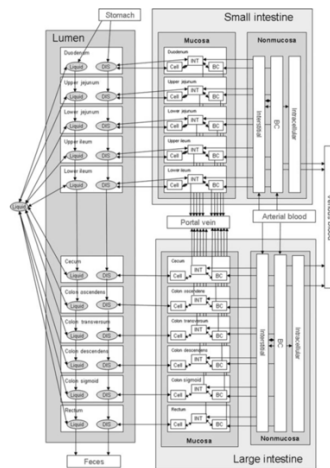


Figura 9. Representación gráfica de un modelo de absorción y tránsito gastrointestinal.

Tomada de Thelen, K. et al. (2011).

2 Antecedentes

La epilepsia es una enfermedad de gran importancia a nivel nacional ya que se estima que el 1% de la población es afectada con esta condición. Se ha reportado que para el tratamiento es importante no solo diagnosticar que tipo de crisis se presentan en el enfermo, sino personalizar la dosis para cada paciente. Esto con el fin de garantizar la eficacia terapéutica, así como evitar la refractariedad de la enfermedad.

Existen reportes en diversas partes del mundo que han demostrado una gran variabilidad en la respuesta terapéutica asociada a diferentes factores.^[34, 35] En México, estudios realizados en voluntarios sanos que tomaron lamotrigina han demostrado que existe una alta variabilidad en los parámetros farmacocinéticos, esta variabilidad es incluso mayor que la reportada en otros países.^[36, 37] Adicionalmente, se ha reportado que en la población mexicana existen variantes alélicas asociadas a la aparición de efectos adversos asociados con el consumo de lamotrigina.^[38]

3 Planteamiento del problema

En la actualidad la lamotrigina es uno de los fármacos antiepilépticos más utilizados, sin embargo, a pesar de la necesidad de tener un tratamiento preciso y eficaz la dosificación en pacientes pediátricos se realiza por peso, obteniendo resultados muy variables en la respuesta terapéutica, lo anterior provoca que las dosis se tengan que ajustar de manera paulatina siguiendo un esquema de “dosis-respuesta”, en el cual además entran en juego otros fármacos, esto provoca que en algunos pacientes tarde mucho lograr el control farmacológico de la enfermedad mientras se intenta alcanzar la ventana terapéutica de todos los fármacos antiepilépticos en juego.^[6, 7]

4 Justificación

La epilepsia es una enfermedad que requiere de un tratamiento preciso, rápido y eficaz para evitar consecuencias biológicas, psicológicas y sociales en la vida de los pacientes.^[5] La lamotrigina es uno de los fármacos más utilizados en el mundo y su uso continúa en aumento,^[39] sin embargo, se ha demostrado que existe una gran variabilidad en la respuesta que se obtiene al utilizar el fármaco.^[40]

En México se han realizado estudios en adultos que han permitido obtener información sobre el comportamiento farmacocinético de la lamotrigina,^[36] sin embargo, la información

en pacientes pediátricos es escasa. Por esta razón, se considera necesaria una herramienta que ayude a explicar la variabilidad en la respuesta y a optimizar la dosificación en pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia.

5 Hipótesis

El desarrollo de un modelo matemático farmacocinético podrá ayudar a explicar y conocer cuáles son los factores que modifican el perfil farmacocinético de la lamotrigina.

6 Objetivos

6.1 Objetivo general

Elaborar un modelo matemático farmacocinético que permita estudiar y predecir la farmacocinética de la lamotrigina en pacientes pediátricos mexicanos diagnosticados con epilepsia.

6.2 Objetivos específicos

- Validar un método para determinación de la lamotrigina en plasma por HPLC-UV de acuerdo con la NOM-177-SSA1-2013.
- Invitar a participar en el estudio a pacientes pediátricos mexicanos que cumplan con los criterios de inclusión establecidos en el protocolo.
- Realizar la cuantificación del fármaco para obtener los perfiles farmacocinéticos de los pacientes que decidan participar en el estudio.
- Realizar el análisis no compartamental (NCA), que servirá como base para el desarrollo del modelo farmacocinético.
- Desarrollar un modelo farmacocinético que explique el comportamiento farmacocinético de la lamotrigina en pacientes pediátricos mexicanos.

7 Materiales y métodos

7.1 Reclutamiento de pacientes y toma de muestras

Para el estudio se reclutaron pacientes del Hospital Infantil de México “Dr. Federico Gómez”, los pacientes fueron invitados a participar si contaban con el diagnóstico de epilepsia establecido por un neurólogo pediatra y utilizaban lamotrigina como tratamiento, en monoterapia o como fármaco concomitante, durante al menos dos semanas (con la finalidad de asegurar que se encontraran en estado estacionario).

Antes de iniciar la toma de muestras se explicaron las condiciones, así como los riesgos y los beneficios del estudio y se solicitó al padre o tutor que firmara el consentimiento informado, si el paciente era mayor de 8 años se les solicitó que firmaran un asentimiento informado.

Para obtener las muestras sanguíneas se colocó un catéter en circulación venosa, preferentemente en el brazo no dominante, de este catéter se tomaban las muestras en seis tiempos diferentes: a las 0 horas previo a la administración de la lamotrigina y posteriormente a las 1, 2, 4, 6 y 12 horas; de las muestras obtenidas se realizó la separación de plasma para la cuantificación de lamotrigina y la extracción de leucocitos para la genotipificación.

7.2 Cuantificación de lamotrigina

Para la cuantificación de la lamotrigina se utilizó cromatografía líquida de alta resolución acoplada a UV, las condiciones cromatográficas se muestran en la tabla 2.

Condiciones cromatográficas para la cuantificación de lamotrigina	
Fase móvil	70:20:10 v/v/v de solución de KH_2PO_4 0.03 M pH 4.5/ Acetonitrilo/ Metanol
Longitud de onda	210 nm
Columna	Symmetry C18 de fase reversa 150 mm de longitud, 4.6 mm de diámetro 5 μm de tamaño de partícula.
Velocidad de flujo	1.2 mL/min
Temperatura	37°C
Estándar interno	Metilparabeno (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
Sistema cromatográfico	Cromatógrafo marca Hitachi Modelo LeChrome
Software	EZchrome

Tabla 2.

7.3 Genotipificación

Para la genotipificación se buscaron los siguientes polimorfismos de un nucleótido en los genes que codifican para las enzimas encargadas del metabolismo de la lamotrigina. Para la enzima UGT2B7 se buscaron los SNP rs7662029 y el rs12233719 mientras que para la enzima UGT1A4 se buscaron los polimorfismos rs6755571 y rs2011425 utilizando un ensayo TaqMan, el cual consiste en la adición un par de *primers* y la colocación de dos sondas fluorescentes (una para cada polimorfismo); cada sonda se encuentra marcada con una proteína fluorescente diferente que al unirse con la hebra complementaria de DNA suprime su emisión de luz, permitiendo de esta manera determinar cuál fue la sonda complementaria a la secuencia de interés.^[41]

7.4 Desarrollo del modelo matemático farmacocinético

Para el análisis no compartamental (NCA) se utilizó el software Phoenix WinNonlin, mientras que para el desarrollo y evaluación del modelo matemático farmacocinético se utilizó Phoenix NLME, ambos licenciados por la compañía Certara y ejecutando la versión 8.1.

8 Resultados

8.1 Validación

La validación se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-177-SSA1-2013).

8.1.1 Selectividad

Para demostrar la no interferencia de compuestos endógenos de la matriz biológica se inyectó la muestra blanco usando las condiciones del método, cuyo cromatograma se muestra en la figura 10.

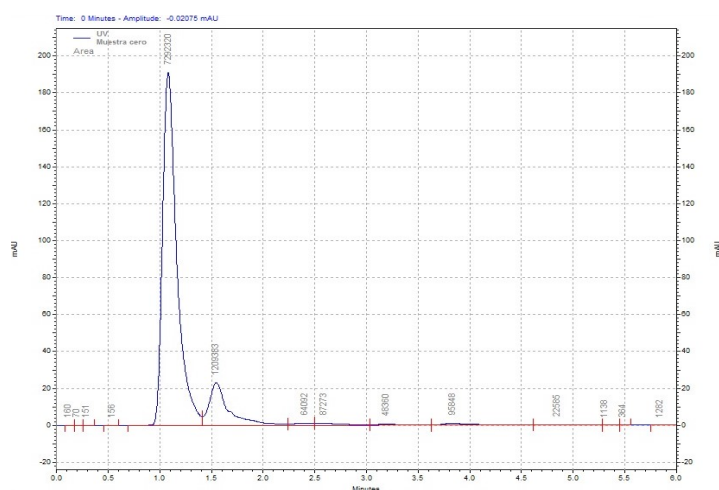


Figura 10: Cromatograma característico de la muestra blanco. Se puede observar al frente de solvente con un tiempo de retención de 1.2 minutos.

Posteriormente y como lo establece la Norma Oficial Mexicana se adicionó el estándar interno, probando seis unidades diferentes de plasma, se muestra el cromatograma de la muestra cero en la figura 11.

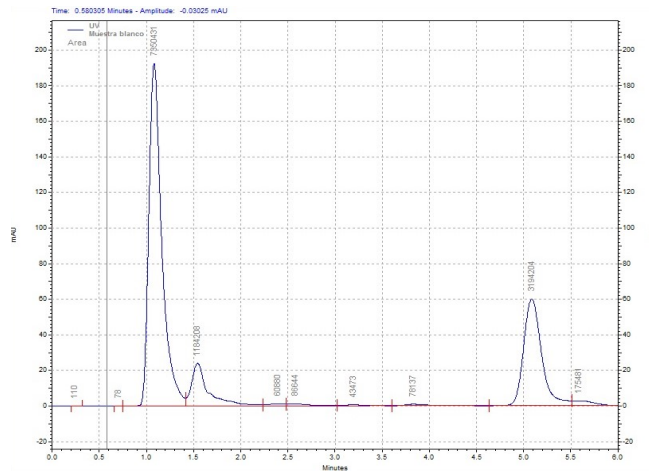


Figura 11: Cromatograma típico de la muestra cero, se puede observar al igual que en la muestra blanco el frente de solvente y adicionalmente el estándar interno con un tiempo de retención de 5.1 minutos.

Al agregar la lamotrigina se pudo obtener el cromatograma típico del método donde muestra la lectura del analito de interés (lamotrigina) y el estándar interno.

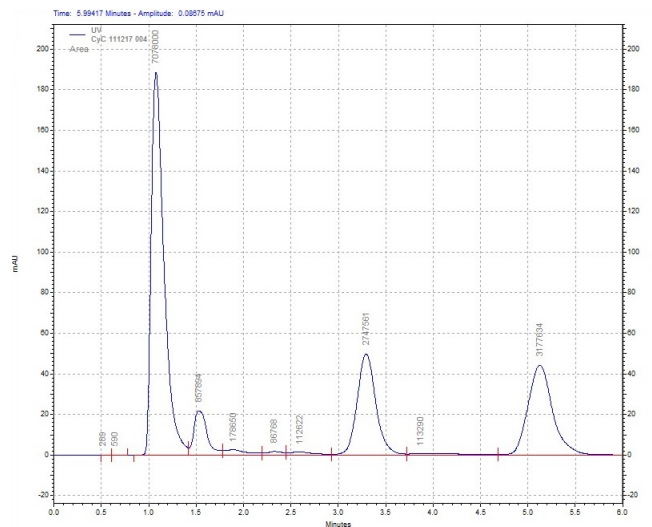


Figura 12: Se pueden observar de izquierda a derecha: el pico característico del frente de solvente, posteriormente, la lectura de lamotrigina con un tiempo de retención de 3.25 minutos y por último el estándar interno con un tiempo de retención de 5.10 minutos.

Para demostrar la no interferencia de fármacos utilizados frecuentemente en concomitancia con lamotrigina se seleccionaron fármacos antiepilépticos y algunos analgésicos de uso común, cuya detección se realizó en una longitud de onda similar a la de la lamotrigina

Los fármacos antiepilépticos seleccionados fueron: topiramato, levetiracetam y oxcarbacepina, mientras que los analgésicos seleccionados fueron: acetaminofén, naproxeno y diclofenaco. Los cromatogramas obtenidos se muestran en la figura 13.

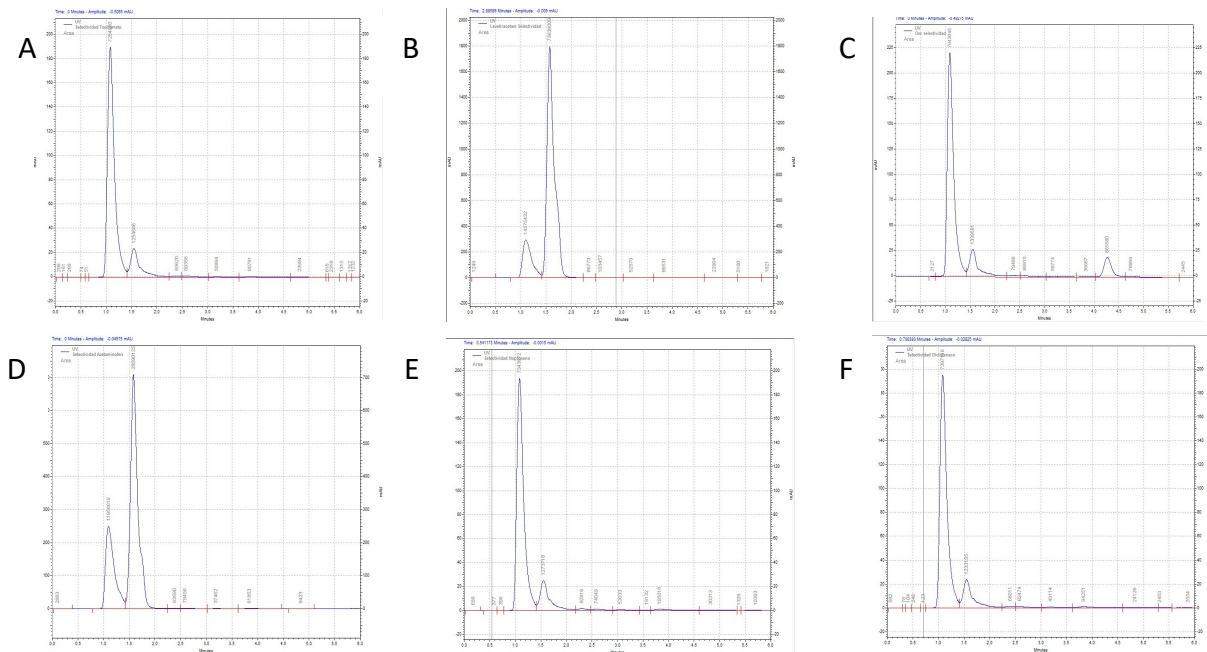


Figura 13: Cromatogramas obtenidos para demostrar la selectividad con fármacos frecuentemente utilizados en concomitancia con la lamotrigina. Se probaron los siguientes fármacos: Topiramato (A), levetiracetam (B), oxcarbacepina (C), acetaminofén (D), naproxeno (E) y diclofenaco (F).

Con base en los cromatogramas anteriores se realizó la tabla 3 con los tiempos de retención obtenidos para los analitos de interés y para cada uno de los fármacos evaluados utilizando el método descrito.

Analito	Tiempo de retención (min)
Lamotrigina	3.25
Metilparabeno (Estándar Interno)	5.1
Topiramato	n/a
Levetiracetam	1.15
Oxcarbazepina	4.2
Acetaminofén	1.65
Naproxeno	n/a
Diclofenaco	n/a

Tabla 3: Tiempos de retención para los analitos de interés y fármacos frecuentemente utilizados de manera concomitante con la lamotrigina

Utilizando la fórmula mostrada en la figura 14 se realizó el cálculo de resolución para demostrar la adecuada separación entre cada una de las lecturas obtenidas, en todos los casos la resolución fue mayor a 1.5 lo cual garantiza que no existe traslapamiento entre ninguno de los analitos.

$$R_s = \frac{2[(T_R)_B - (T_R)_A]}{W_A + W_B}$$

Figura 14: Fórmula para calcular la resolución entre dos picos donde: R_s =Resolución, T_R =Tiempo de retención y W =anchura del pico en la base. Un valor mayor a 1.5 garantiza que no existe traslapamiento en los picos.

8.1.2 Linealidad

Utilizando el 5% de la concentración máxima se definió el límite inferior de cuantificación, la concentración máxima (C_{max}) de la lamotrigina en estado estacionario que se reporta es en promedio de 10.2,^[37] por lo que se decidió establecer el límite inferior de cuantificación (LIC) en 0.3 $\mu\text{g/mL}$, a partir de esta concentración, se eligieron los otros 5 puntos que conformaron la curva de calibración, estos cubren la ventana terapéutica de la lamotrigina y la C_{max} . Las concentraciones establecidas con estos criterios fueron: 0.3, 0.5, 1.0, 5.0, 10 y 50 $\mu\text{g/mL}$.

Como puntos control se decidió utilizar las concentraciones de 0.4, 4.0 y 30 $\mu\text{g/mL}$ para los controles bajo, medio y alto, respectivamente. Con las concentraciones descritas anteriormente se elaboró una curva de calibración (Figura 15).

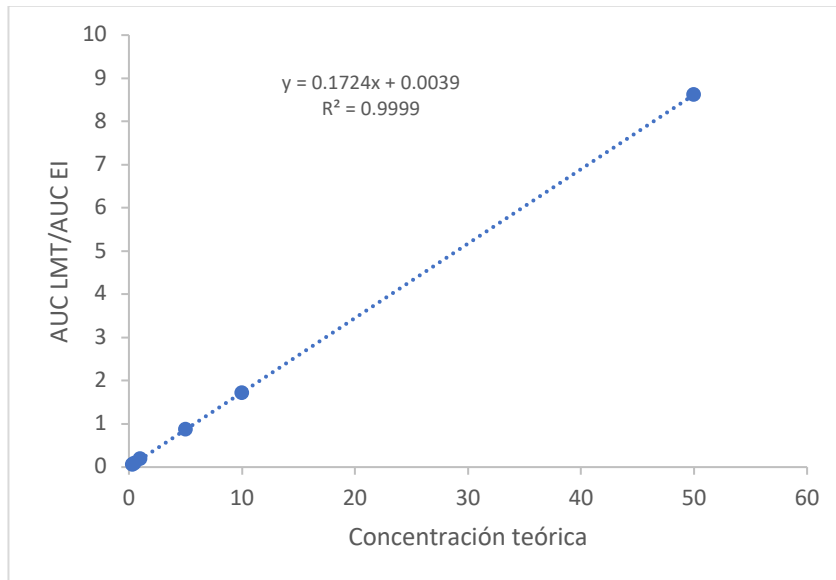


Figura 15: Curva de calibración: En el eje de las abscisas se puede observar la concentración teórica, mientras que en el de las ordenadas se graficó la relación entre las áreas bajo la curva de lamotrigina (LMT) y el estándar interno (EI).

Se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0.9999, lo cual permite determinar que el método es lineal dentro de las concentraciones evaluadas. El modelo que se utilizó para describir la relación entre la concentración teórica y la respuesta fue la ecuación de la recta $y = mx + b$, donde y es la relación entre las áreas bajo la curva, m es la pendiente, x representa la concentración y b el intercepto.

Todos los valores obtenidos utilizando la ecuación anterior se encuentran dentro de los coeficientes establecidos por la Norma Oficial Mexicana como se puede observar en la tabla 4.

Tabla 4. Coeficientes de variación de la curva de calibración			
Punto	Concentración teórica (mg/L)	Concentración experimental (mg/L)	% Desviación
1	0.3	0.31	2.74
2	0.5	0.49	-1.60
3	1	1.06	5.63
4	5	5.01	0.08
5	10	9.93	-0.74
6	50	50.01	0.03

8.1.3 Precisión

La precisión se evaluó en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

8.1.3.1 Repetibilidad

Al analizar en un mismo día las muestras control bajo, medio y alto, así como el límite inferior de cuantificación se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados obtenidos para evaluar repetibilidad			
	Concentración teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Desviación (%)
LIC	0.3	0.34 ± 0.0093	2.77
Control bajo	0.4	0.44 ± 0.0251	5.74
Control medio	4	3.86 ± 0.0603	1.56
Control alto	30	29.87 ± 0.554	1.86

Todos los parámetros se encuentran dentro de lo establecido por la Norma Oficial Mexicana para cada uno de los puntos que se evaluaron.

8.1.3.2 Reproducibilidad

Al analizar las muestras control bajo, medio y alto, así como el límite inferior de cuantificación por quintuplicado en tres corridas analíticas en tres días diferentes se pudo determinar que el coeficiente de desviación no excede el 15% para las muestras control ni el 20% para el límite inferior de cuantificación. (Tabla 6)

Tabla 6. Resultados obtenidos para evaluar reproducibilidad.			
	Concentración teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Desviación (%)
LIC	0.3	0.32 ± 0.0134	4.19
Control bajo	0.4	0.43 ± 0.0046	1.06
Control medio	4	3.90 ± 0.037	0.95
Control alto	30	29.63 ± 0.5152	1.74

8.1.4 Exactitud

Utilizando los datos de repetibilidad y reproducibilidad se calculó el porcentaje de desviación de cada uno de los puntos analizados, posteriormente se realizó un promedio y se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 7.

Tabla 7. Valores obtenidos para evaluar exactitud.			
	Concentración teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración experimental ($\mu\text{g/L}$)	Exactitud (%)
LIC	0.3	0.34 ± 0.0093	12.08
Control bajo	0.4	0.44 ± 0.0251	9.07
Control medio	4	3.86 ± 0.0603	-4.67
Control alto	30	29.87 ± 0.554	-0.44

Tabla 7. Valores obtenidos para evaluar exactitud.

El promedio de los porcentajes de desviación obtenidos no supera el 15% para ninguno de los puntos control ni el 20% en el caso del límite inferior de cuantificación, por lo cual se pudo determinar que el método desarrollado es exacto, basados en los criterios establecidos en la Norma Oficial Mexicana.

8.2 Genotipificación

Utilizando el ensayo TaqMan para la secuenciación se presentan en la tabla 8 los resultados para los polimorfismos seleccionados del gen *UGT2B7*.

Tabla 8. Frecuencia de SNPs del gen <i>UGT2B7</i>			
<i>UGT2B7</i> rs7662029		<i>UGT2B7</i> rs12233719	
SNP	Pacientes	SNP	Pacientes
G/G	13	G/G	18
A/G	5	G/T	0

Mientras que para el gen *UGT1A4* se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 9.

Tabla 9. Frecuencia de SNPs del gen <i>UGT1A4</i>			
<i>UGT1A4</i> rs6755571		<i>UGT1A4</i> rs2011425	
SNP	Pacientes	SNP	Pacientes
C/C	17	T/T	15

8.3 Demografía

Se reclutaron un total de 20 pacientes, de los cuales un paciente tuvo que ser excluido del estudio ya que no se lograron obtener por lo menos 4 puntos del estudio farmacocinético; otro paciente fue excluido ya que presentó concentraciones por debajo del límite inferior de cuantificación, por lo que se realizó el reporte correspondiente pero no se pudo incluir en el estudio. Dos pacientes no fueron considerados en el modelo matemático ya que no se cuenta con sus genotipos, pero pueden ser agregados al obtener los resultados.

La población total para el desarrollo del modelo es de 16 pacientes. Las características demográficas se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Características demográficas		
	(n=16)	D.E.
Edad	13.83 años	2.93
Género	12 mujeres 6 hombres	
Peso	50.02 kg	16.29
Estatura	152.06 cm	11.29
Concomitancia con fármacos	Valproato: 8 Topiramato: 2 Levetiracetam:4	
Polimorfismo <i>UGT2B7</i> rs7662029	G/G: 11 A/G: 5	
Polimorfismo <i>UGT1A4</i> rs2011425	T/T: 13 T/G: 3	

8.4 Análisis Exploratorio

Para iniciar el análisis exploratorio se graficaron las cinéticas de los 16 pacientes que fueron incluidos para el desarrollo del modelo, como se puede observar las cinéticas son muy similares en sus pendientes. Sin embargo, existe una gran variabilidad en las concentraciones razón por la cual es de esperarse una gran variabilidad en la respuesta terapéutica como se ha reportado previamente.^[35, 36, 42, 43]

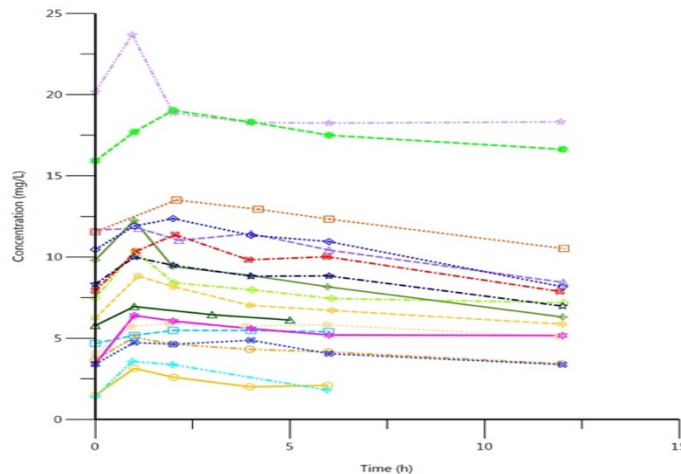


Figura 16: Cinéticas de la lamotrigina realizadas a 16 pacientes. Cada línea representa la cinética de cada paciente.

Con la finalidad de poder determinar si las cinéticas obtenidas presentaban características de uno, dos o más compartimentos, las escala del eje de las ordenadas se cambió a escala logarítmica (Figura 17), como se puede observar el comportamiento en la cinética en la mayoría de los pacientes es de un compartimiento ya que se observa únicamente una pendiente durante la fase post-absorción, aunque algunos pacientes parecen tener una cinética de dos compartimentos, es por esta razón que en el desarrollo del modelo se decidió probar ambos modelos, tanto de uno como de dos compartimentos.

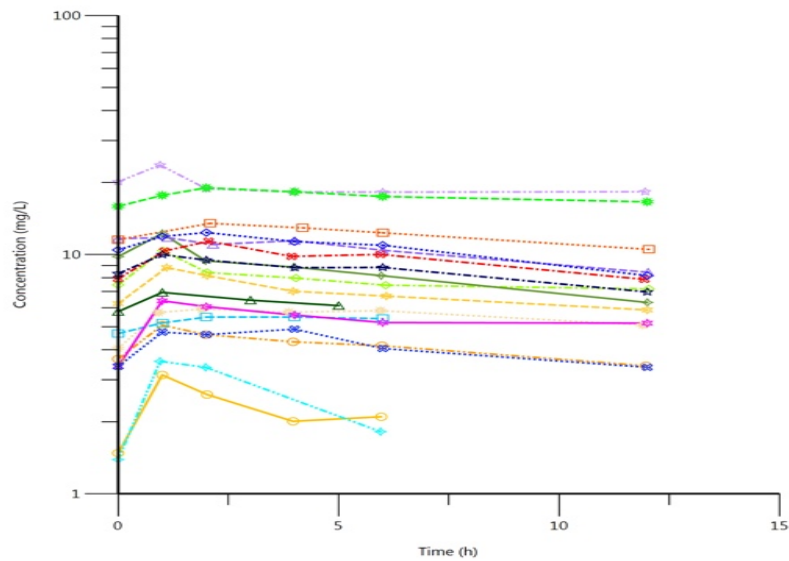


Figura 17: Cinéticas de los 16 pacientes. El eje de las Y se convirtió a logaritmo para poder observar si presentan una o dos pendientes en la fase de eliminación, esto es indicativo de si la cinética se comporta como de uno o dos compartimentos.

8.5 Análisis No Compartamental (NCA)

Posteriormente se realizó el análisis no compartamental cuyos resultados se muestran en la tabla 11.

Análisis No Compartamental			
	Promedio	D.E.	CV (%)
C_{max}	9.42 mg/L	4.89	51.95
C_{max}/Dosis	0.13 mg/L	0.06	47.52
T_{max}	1.38 h	0.48	35.21
AUC₀₋₁₂	87.61 mg h/L	53.60	61.18
AUC₀₋₁₂/Dosis	1.17 mg h/L	0.67	57.60
AUC_{0-inf}	504.05 mg h/L	543.91	107.91
AUC_{0-inf}/Dosis	6.44 mg h/L	6.31	97.86
CL	0.36 L/h	0.44	123.93
Vd	9.93 L	17.69	77.43
Ke	0.03 h ⁻¹	0.03	88.69

8.6 Desarrollo del modelo matemático farmacocinético

Para iniciar el desarrollo del modelo matemático farmacocinético, lo primero que se hizo fue elegir los modelos estructurales que se iban a evaluar tomando como base los parámetros obtenidos en el análisis no compartamental.

Dado que la mayoría de los pacientes parecen presentar una cinética de un compartimento, el primer modelo que se decidió evaluar fue un modelo de un compartimento con absorción de primer orden. El segundo modelo evaluado fue un modelo de dos compartimentos con absorción de primer orden, ya que algunos de los pacientes parecen presentar este tipo de comportamiento.

Dado que existen reportes previos realizados en nuestro laboratorio en los cuales se han encontrado problemas de calidad farmacéutica en tabletas de lamotrigina, razón por la cual se decidió probar también un modelo de tránsito y absorción gastrointestinal.

8.6.1 Elección del modelo

Un modelo farmacocinético es un modelo que busca explicar la variabilidad que existe en las concentraciones a través del tiempo, para la evaluación y selección del mejor modelo matemático existen pruebas de índole estadística que permiten determinar si un modelo es mejor que otro para realizar predicciones y explicar la variabilidad de un parámetro.

La prueba más frecuentemente utilizada para determinar la superioridad estadística de un modelo respecto a otro modelo anidado es la prueba “-2 probabilidad logarítmica” (-2LL) a este valor se le llama función objetivo y consiste en una reducción del valor predictivo del modelo para poder realizar una comparación estadística entre modelos anidados. La función objetivo es un indicador de la cantidad de información que no puede explicar un modelo, por lo tanto, mientras menor sea la función objetivo, el modelo tiene un mejor valor predictivo.

Para que un modelo evaluado a través de esta prueba se considere estadísticamente superior a otro con un valor de $p < 0.05$ se requiere que la función objetivo disminuya al menos 3 puntos.

8.6.2 Evaluación de modelos estructurales

El primer modelo que se probó fue el modelo de un compartimento.

Utilizando los datos obtenidos del análisis no compartamental como estimaciones iniciales se desarrolló un modelo con el algoritmo FOCE ELS. Los parámetros estructurales obtenidos se muestran en la tabla 12, la función objetivo obtenida fue de 308.46.

Parámetros estructurales del modelo de un compartimento			
Parámetro	Estimado	Unidades	CV%
Ka	4.95	1/h	23.26
V	38.00	L	9.39
Cl	0.87	L/h	13.20

Posteriormente, se realizó la evaluación de el modelo de dos compartimentos, en este caso las características del modelo no pudieron ajustar de manera adecuada el estado estacionario de los pacientes, por lo cual se descartó el uso de este modelo.

Por último, se probó el modelo de absorción gastrointestinal transitoria, este modelo es un tipo de modelo farmacocinético basado en fisiología (PBPK) que toma en consideración el tránsito de la tableta a través del intestino, la disolución de la tableta y la K_a . Aunque el modelo mostró una mejor capacidad predictiva, la complejidad del modelo y los datos clínicos que requiere dificultan su manipulación y se consideró que su funcionalidad excede los objetivos requeridos para este estudio, por lo que se decidió ocupar el modelo de un compartimento.

8.6.3 Evaluación de covariables

Una vez que se contaba con el modelo estructural se inició la evaluación de covariables, eligiendo evaluar las siguientes covariables: edad, sexo, talla, peso, genotipos de las enzimas UGT1A4 y UGT2B7, así como la concomitancia con valproato, topiramato, levetiracetam y oxcarbacepina.

Para la búsqueda de las covariables más relevantes se realiza un proceso llamado “covariates stepwise”, este proceso consiste en la evaluación de covariables de manera individual, una vez que se encuentran las covariables que impactan de manera más importante las predicciones del modelo, se procede al segundo escalón donde se combinan las covariables previamente seleccionadas con todas las covariables en busca de la menor función objetivo y el mejor valor predictivo del modelo.

En la primera búsqueda de covariables presentada en la tabla 13, se encontró que la concomitancia con valproato es una covariable importante y ayuda a reducir la función objetivo de manera estadísticamente significativa, reduciendo la función objetivo casi 9

puntos, mientras que la concomitancia con valproato también redujo la función objetivo de manera relevante. Sin embargo, dado que se cuenta con únicamente dos pacientes con esta característica se consideró que aunque podría ser una covariable importante no representan a la mayoría de la población y no se cuenta con la información suficiente para considerar su interacción con nuestro modelo.

Tabla 13. Resultados de la búsqueda de covariables	
Escenario	-2LL
cstep00	308.4673
cstep11 V-Sex	308.4588
cstep03 CI-UGT1A4	307.9538
cstep02 CI-UGT2B7	307.8993
cstep05 CI-Age	307.6536
cstep06 V-WGT	307.5325
cstep10 CI-Sex	307.2092
cstep09 CI-Lev	303.8862
cstep08 CI-Top	302.709
cstep01 CI-Val	300.494
cstep21 CI-Val V-Sex	300.4833
cstep20 CI-Val CI-Sex	300.4632
cstep13 CI-Val CI-UGT1A4	300.4572
cstep14 CI-Val V-Age	300.1385
cstep15 CI-Val CI-Age	299.9419
cstep16 CI-Val V-WGT	299.591
cstep19 CI-Val CI-Lev	298.5006
cstep12 CI-Val CI-UGT2B7	297.0488

En verde encontramos la función objetivo del modelo estructural, la covariable individual que disminuye de manera importante la función objetivo es el valproato afectando el aclaramiento, aunque existen otras covariables que reducen la función objetivo de manera significativa no se puede determinar su relevancia por la cantidad de pacientes. La variable que disminuye de manera significativa la función objetivo del modelo con valproato es el polimorfismo rs7662029 del gen que codifica para la UGT2B7.

De igual manera podemos observar que polimorfismo en el gen que codifica para la enzima UGT2B7 reduce la función objetivo más de tres puntos por lo que se puede considerar que este modelo estadísticamente superior al modelo que únicamente contiene el valproato. Ambas covariables ayudan de manera significativa a aumentar la certidumbre de las predicciones del modelo farmacocinético.

El resto de la covariables evaluadas no redujo de manera estadísticamente significativa la función objetivo, por lo tanto, las covariables elegidas fueron la concomitancia con valproato y polimorfismo en el gen *UGT2B7*.

8.7 Evaluación del modelo completo

Un modelo es tan bueno como cumpla la función para la cual fue diseñado.^[29] Para evaluar un modelo farmacocinético se debe evaluar la capacidad que tiene el modelo para predecir las concentraciones a través del tiempo, para lograr este objetivo existen diferentes métodos.

Una de las primeras gráficas que se pueden utilizar para evaluar el modelo PK es comparar las predicciones individuales contra las concentraciones observadas (Figura 18):

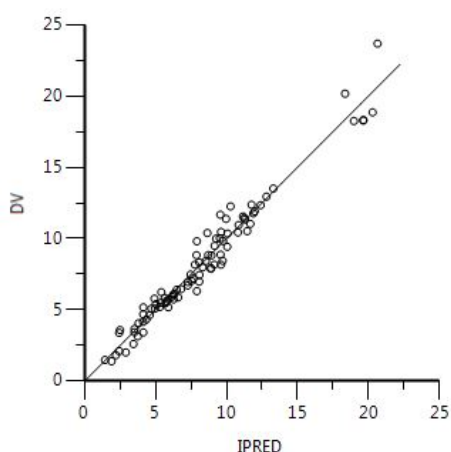


Figura 18: Predicciones individuales vs. Concentraciones observadas (mg/L). La línea sólida muestra la relación $X=Y$.

Para determinar si el tipo de error utilizado (aditivo) es el adecuado se generó una gráfica con los valores de tiempo (TAD) contra el error residual corregido (CWRES), como se puede ver la mayoría de los valores observados se encuentran en entre -2 y 2 y la tendencia de los datos se encuentra dentro de este intervalo, lo cual nos indica que los datos ajustan de manera correcta a modelo de error (Figura 19).

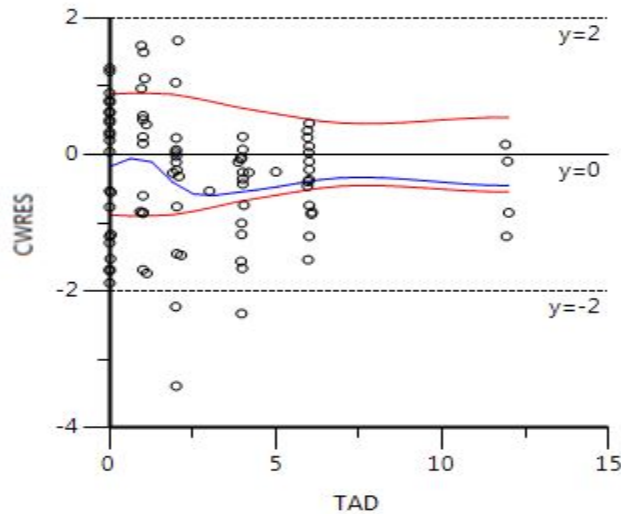


Figura 19: Tiempo después de la Dosis (TAD) vs. Error residual corregido (CWRES).

Para determinar si el modelo de un compartimento es adecuado se evalúa la gráfica que contrasta las predicciones contra los valores residuales corregidos, la cual se presenta en la Figura 20. Como se puede observar en esta gráfica la tendencia de los valores predichos tienden a la baja, aunque esto podría ser sugerente de que el modelo de un compartimento no ajusta de manera adecuada para los datos se cree que la falta de valores en concentraciones que van de 12 a 20 mg/L provoca que la línea de tendencia se modifique por lo que se considera que al aumentar la cantidad de observaciones se podría obtener un ajuste de está línea, aunque se encuentra dentro de lo esperado.

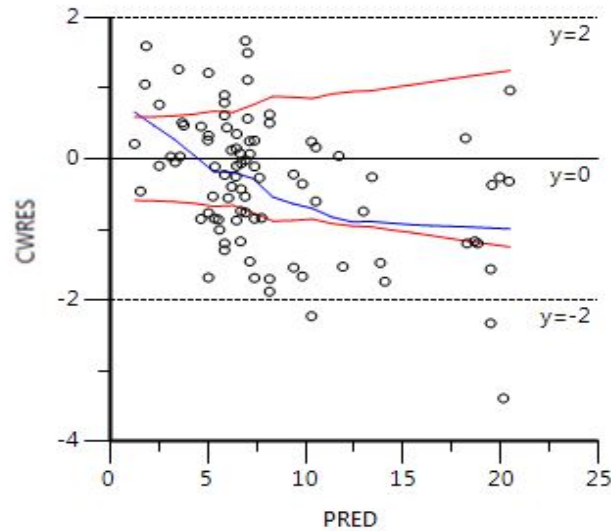


Figura 20. Predicciones (PRED) vs. Error residual (CWRES).

8.8 Simulación de datos

Una vez que se demostró un buen valor predictivo para el modelo se pueden realizar simulaciones, para evaluar estas simulaciones se utilizan gráficas llamadas Visual Predictive Check (VPC), para generar estas gráficas se requiere utilizar el modelo previamente elaborado para simular de mil a dos mil observaciones de la concentración plasmática, todos estos datos generan una nube de dispersión, posteriormente se evalúa si las observaciones se encuentran representadas dentro de esa nube de dispersión y gráficamente es posible observar que tanta variabilidad existe en las predicciones. A continuación, se presenta el VPC para el modelo estructural (Figura 21).

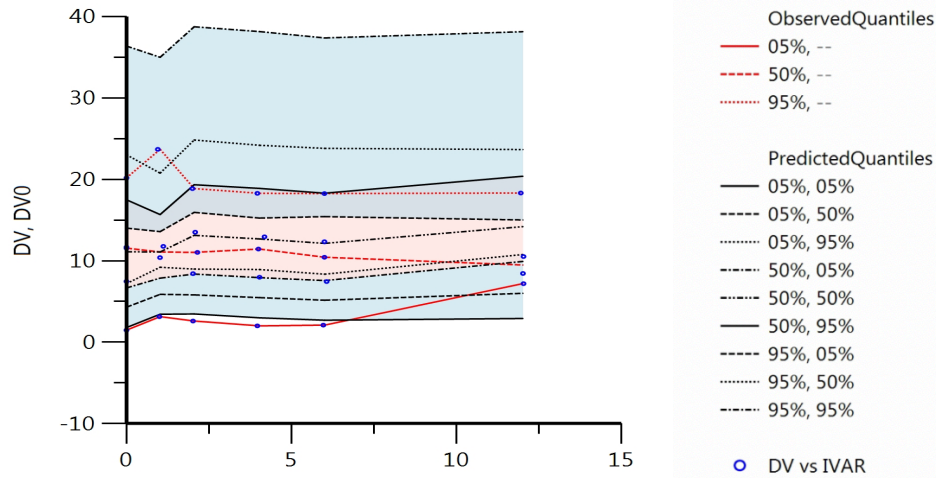


Figura 21. Visual Predictive Check (VPC) del modelo estructural.

Como se puede observar en la figura 21, la nube de dispersión presenta un buen tamaño en concentraciones bajas y medias, además, de que los valores típicos se encuentran casi siempre dentro de la nube de dispersión. Sin embargo, a concentraciones más elevadas se presenta una gran variabilidad la cual debe ser acotada con la adición de las covariables. (Figura 22).

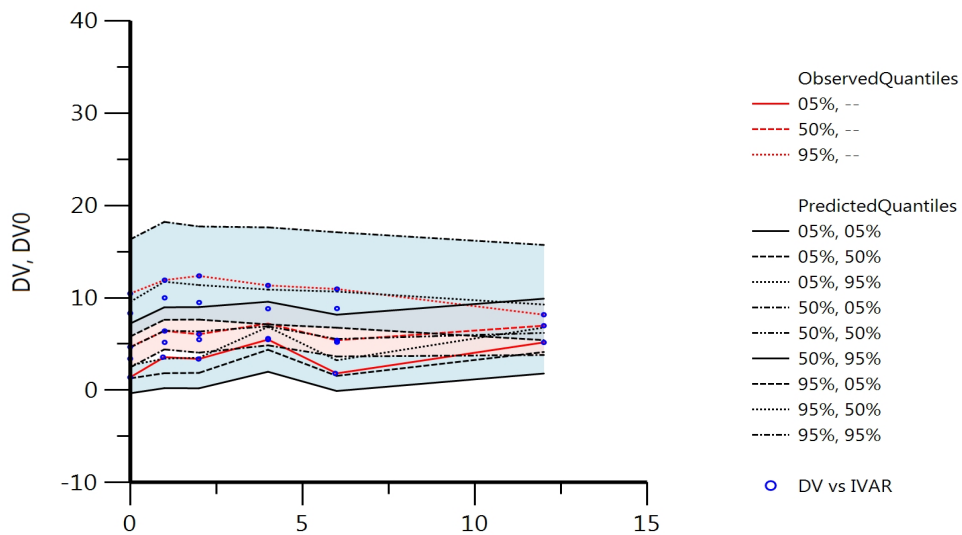


Figura 22. Visual Predictive Check del modelo final.

Al analizar el VPC del modelo completo se puede ver que el comportamiento típico de los valores predichos es similar al de las concentraciones observadas, adicionalmente, las nubes de dispersión, particularmente la que representa las concentraciones más elevadas presenta una reducción significativa respecto al modelo estructural, indicando que el modelo no requiere de tanta variabilidad para explicar el comportamiento de la lamotrigina.

8.9 Modelo final

El modelo se caracterizó y evaluó de manera satisfactoria, por lo cual se presenta a continuación el código programado para el mismo.

```
deriv(Aa = - Ka * Aa)
deriv(A1 = Ka * Aa - Cl * C)
dosepoint(Aa)
C = A1 / V

error(CEps = 0.926306)
observe(CObs = C + CEps)

stparm(Ka = tvKa * exp(nKa))
stparm(V = tvV * exp(nV))
stparm(Cl = tvCl * exp(dClIdVal1*(Val==1)) * exp(dClIdUGT2B71*(UGT2B7==1)) *
exp(nCl))

fcovariate(Val())
fcovariate(UGT2B7())

fixef(tvKa = c(, 4.90776, ))
fixef(tvV = c(, 38.0966, ))
```

fixef(tvCl = c(, 1.34034,))

fixef(dClIdVal1(enable=c(0)) = c(, -0.732807,))

fixef(dClIdUGT2B71(enable=c(1)) = c(, -0.410834,))

ranef(diag(nV, nCl, nKa) = c(4.1271565E-07, 0.11883118, 0.94912968))

9 Discusión

La validación del método se encuentra dentro de lo establecido en la Norma Oficial Mexicana (NOM-177-SSA1-2013), por lo cual se puede asegurar que el modelo es selectivo para lamotrigina, lineal, preciso, repetible, reproducible y exacto, por lo cual puede considerarse que el método desarrollado es una excelente herramienta para realizar la cuantificación y monitoreo terapéutico de la lamotrigina.

La genotipificación realizada permite observar la frecuencia de los polimorfismos presentes en la población mexicana, aunque se requiere de más datos para poder determinar la frecuencia de los SNPs estudiados. Sin embargo, la información obtenida es suficiente para determinar la relevancia del SNP rs7662029 en la farmacocinética de la lamotrigina, el modelo pudo determinar que polimorfismos en este gen provocan un metabolismo menos eficiente de la lamotrigina disminuyendo la depuración de esta.

En relación con el modelo estructural, las estimaciones obtenidas se encuentran en concordancia con lo publicado en modelos desarrollados en otros países.^[35, 43] Es importante resaltar la alta variabilidad que se encontró en la constante de absorción, aunque la variabilidad en la absorción es algo normal dada la complejidad del proceso y todos los factores que intervienen creemos que excede lo esperado, además de que no puede ser explicada por ninguna de las covariables que se evaluaron, aunque se cree que pudiera encontrarse relacionada con problemas de calidad farmacéutica encontrados previamente en nuestro laboratorio aunque no es posible determinarlo con claridad en este momento ya que no contamos con el número suficiente de pacientes por formulación para

poder establecerlo; creemos que al reclutar más pacientes creemos que la formulación puede ser importante para la mejora del modelo.

Al realizar la evaluación de covariables se encontró que las covariables más relevantes para explicar la alta variabilidad en la cinética de lamotrigina son en primer lugar la concomitancia con valproato y en segundo lugar el SNP rs7662029 del gen *UGT2B7*. Al introducir esta información al modelo, mejora significativamente su capacidad de predecir las concentraciones plasmáticas de lamotrigina, lo anterior se encuentra en concordancia con lo reportado en la literatura, ya que se sabe que la lamotrigina y el valproato compiten por las enzimas encargadas de la glucoronidación, siendo el valproato más afín a estas enzimas y por lo tanto provocando que la lamotrigina permanezca más tiempo en el organismo. Por otro lado, el SNP rs7662029 provoca una reducción de la tasa de actividad de la *UGT2B7* reduciendo la glucoronidación de la lamotrigina y con esto reduciendo su tasa de eliminación por vía renal.

Aunque algunas otras variables, como la concomitancia con topiramato, oxcarbacepina y polimorfismos en el gen que codifica para la enzima *UGT1A4*, redujeron de manera significativa la función objetivo no se puede asegurar que tengan un impacto real en la variabilidad ya que el número de pacientes reclutados aún no nos permite determinarlo, consideramos que al aumentar el número de pacientes podremos determinar la relevancia de dichas covariables.

Al utilizar el modelo para realizar simulación de datos se puede observar que el modelo estructural realiza una sobrestimación en las concentraciones altas, esto con la finalidad de poder considerar todos los datos observados dentro de los datos simulados, al agregar las covariables seleccionadas la simulación requiere de menor variabilidad para poder explicar e incluir los datos originales.

10 Conclusiones

El método de cuantificación de la lamotrigina por HPLC-UV cumple con todos los requisitos establecidos en la Norma Oficial Mexicana, con los resultados obtenidos se puede asegurar que el método es selectivo, preciso, exacto, repetible y reproducible, además de ser rápido y económico respecto a otros métodos de cuantificación. Por las características anteriores, el método puede ser utilizado para la cuantificación y monitoreo terapéutico de la lamotrigina.

El modelo matemático farmacocinético desarrollado que mejor se adecuó al comportamiento cinético de la lamotrigina y a los objetivos del estudio fue un modelo de un compartimento con absorción de primer orden.

Los factores que más afectan la farmacocinética de la lamotrigina de acuerdo con los datos arrojados por el modelo son la concomitancia con valproato y polimorfismos en el gen que codifica para la UGT2B7, ambos afectan la depuración de la lamotrigina y aumentan el tiempo de residencia del fármaco en el organismo, por lo que se considera que son factores que deben ser tomados en cuenta al momento de prescribir lamotrigina.

El modelo desarrollado demostró tener un ajuste adecuado y puede realizar predicciones acertadas, aunque aún es susceptible de mejora, la posibilidad de evaluar la formulación farmacéutica probablemente reduzca de manera importante la función objetivo, lo cual es indicativo de que el modelo es capaz de realizar mejores predicciones. Al aumentar el número de pacientes creemos que se podría determinar de mejor manera la relación que existe entre esta y otras covariables.

11 Perspectivas

El modelo requiere aún de un mayor número de pacientes para poder determinar con claridad la importancia de algunas covariables en la farmacocinética de la lamotrigina, además de aumentar su robustez y capacidad predictiva.

Una vez optimizado y validado el modelo de lamotrigina puede ser empleado para la simulación de información de modo que ayude a estudiar, conocer y predecir el comportamiento de la lamotrigina en la población pediátrica mexicana, de igual manera.

Adicionalmente, su uso puede ser muy valioso para la optimización de la dosificación de este fármaco antiepiléptico al poder predecir la dosis adecuada que se debe administrar, ayudando en el control de los episodios convulsivos y mejorando la calidad de vida de los pacientes.

12 Referencias

- [1]. Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., *et al.* (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475-482.
- [2]. World Health Organization. (2018). Epilepsy. Retrieved from <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy> in October 2018.
- [3]. Programa Prioritario para la Epilepsia. (2016). Frecuencia en México. Retrieved from <http://www.epilepsiamexico.gob.mx/info-pacientes/frecuencia.htm> in October 2018.
- [4]. Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., *et al.* (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 522-530.
- [5]. Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., *et al.* (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512-521.
- [6]. National Institute for Health and Care Excellence. (2012). Epilepsies: Diagnosis and Management. *NICE Guidelines*.
- [7]. CENETEC. (2009). Diagnóstico y Tratamiento de la Primera Crisis Convulsiva en Niños. *Guías de Práctica Clínica., IMSS 244-09*
- [8]. William J. Spruill, W. E. W., Josep DiPiro. (2014). *Concepts in Clinical Pharmacokinetics* (6th ed.): ASHP.
- [9]. Holford, N. (2016). Absorption and Half-Life. *Translational and Clinical Pharmacology*, 24(4).
- [10]. Rang, H., & Ritter, J. M., Flower R.J. (2015). *Pharmacology* (8 ed.): Elsevier.
- [11]. Holford, N., & Yim, D.-S. (2016). Volume of Distribution. *Translational and Clinical Pharmacology*, 24(2).
- [12]. Mizuno, N., Niwa, T., Yotsumoto, Y., *et al.* (2003). Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol Rev*, 55(3), 425-461.

- [13]. Holford, N., & Yim, D.-S. (2015). Clearance. *Translational and Clinical Pharmacology*, 23(2).
- [14]. Pharmacology Education Project. Therapeutic Drug Monitoring. Retrieved from <https://www.pharmacologyeducation.org/clinical-pharmacology/therapeutic-drug-monitoring> in October 2018.
- [15]. Pubchem. (2018). Lamotrigine. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/lamotrigine#section=Top> in October 2018.
- [16]. Jefferson, J. W. (2014). Lamotrigine in Psychiatry: Pharmacology and Therapeutics. *CNS Spectrums*, 10(03), 224-234.
- [17]. Meldrum, B. S. (1996). Update on the Mechanism of Action of Antiepileptic Drugs. *Epilepsia*, 37(s6), S4-S11.
- [18]. Rambeck, B., & Wolf, P. (1993). Lamotrigine clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, 25(6), 433-443.
- [19]. Cunningham, M. O., & Jones, R. S. G. (2000). The anticonvulsant, lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increases spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro. *Neuropharmacology*, 39(11), 2139-2146.
- [20]. Battino, D., Estienne, M., & Avanzini, G. (1995). Clinical Pharmacokinetics of Antiepileptic Drugs in Paediatric Patients. *Clinical Pharmacokinetics*, 29(5), 341-369.
- [21]. Culy, C. R., & Goa, K. L. (2000). Lamotrigine. A review of its use in childhood epilepsy. *Paediatr Drugs*, 2(4), 299-330.
- [22]. Garnett, W. R. (1997). Lamotrigine: pharmacokinetics. *J Child Neurol*, 12 Suppl 1, S10-15.
- [23]. Egunsola, O., Choonara, I., & Sammons, H. M. (2015). Safety of lamotrigine in paediatrics: a systematic review. *BMJ Open*, 5(6), e007711.
- [24]. Price, C. P. (1984). Analytical techniques for therapeutic drug monitoring. *Clinical Biochemistry*, 17(1), 52-56.
- [25]. Norma Oficial Mexicana, NOM-177-SSA1-2013, Secretaria de Salud (2013).

- [26]. Osmundson, T. W., Eyre, C. A., Hayden, K. M., *et al.* (2013). Back to basics: an evaluation of NaOH and alternative rapid DNA extraction protocols for DNA barcoding, genotyping, and disease diagnostics from fungal and oomycete samples. *Mol Ecol Resour*, 13(1), 66-74.
- [27]. Medeiros, M., Castaneda-Hernandez, G., Ross, C. J., *et al.* (2015). Use of pharmacogenomics in pediatric renal transplant recipients. *Front Genet*, 6, 41.
- [28]. Maagdenberg, H., Vijverberg, S. J., Bierings, M. B., *et al.* (2016). Pharmacogenomics in Pediatric Patients: Towards Personalized Medicine. *Paediatr Drugs*, 18(4), 251-260.
- [29]. Mould, D. R., & Upton, R. N. (2012). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 1, e6.
- [30]. Mould, D. R., & Upton, R. N. (2013). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2, e38.
- [31]. Upton, R. N., & Mould, D. R. (2014). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development: part 3-introduction to pharmacodynamic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 3, e88.
- [32]. Thelen, K., Coboeken, K., Willmann, S., *et al.* (2011). Evolution of a detailed physiological model to simulate the gastrointestinal transit and absorption process in humans, part 1: oral solutions. *J Pharm Sci*, 100(12), 5324-5345.
- [33]. Henin, E., Bergstrand, M., Standing, J. F., *et al.* (2012). A mechanism-based approach for absorption modeling: the Gastro-Intestinal Transit Time (GITT) model. *AAPS J*, 14(2), 155-163.
- [34]. Patsalos, P. N., Berry, D. J., Bourgeois, B. F., *et al.* (2008). Antiepileptic drugs--best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 49(7), 1239-1276.

- [35]. Xu, S., Liu, L., Chen, Y., *et al.* (2018). Population pharmacokinetics of lamotrigine co-administered with valproic acid in Chinese epileptic children using nonlinear mixed effects modeling. *Eur J Clin Pharmacol*, 74(5), 583-591.
- [36]. Marcelin-Jimenez, G., AC, P. A. M., Mendoza-Morales, L., *et al.* (2009). Development of an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry micromethod for quantification of lamotrigine in human plasma and its use in a bioequivalence trial. *Bioanalysis*, 1(1), 47-55.
- [37]. Food and Drug Administration. (2010). Clinical Pharmacology/Biopharmaceutics review: Lamictal XR. *Food and Drug Administration Reviews*.
- [38]. Fricke-Galindo, I., Martinez-Juarez, I. E., Monroy-Jaramillo, N., *et al.* (2014). HLA-A*02:01:01/-B*35:01:01/-C*04:01:01 haplotype associated with lamotrigine-induced maculopapular exanthema in Mexican Mestizo patients. *Pharmacogenomics*, 15(15), 1881-1891.
- [39]. Sauro, K. M., Wiebe, S., Dunkley, C., *et al.* (2016). The current state of epilepsy guidelines: A systematic review. *Epilepsia*, 57(1), 13-23.
- [40]. Patel, V., Cordato, D. J., Dias, M., *et al.* (2012). Changed constitution without change in brand name--the risk of generics in epilepsy. *Epilepsy Res*, 98(2-3), 269-272.
- [41]. Scientific, T. How TaqMan Works. Retrieved from <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/how-taqman-assays-work.html> in October 2018.
- [42]. Reimers, A., Skogvoll, E., Sund, J. K., *et al.* (2007). Lamotrigine in children and adolescents: the impact of age on its serum concentrations and on the extent of drug interactions. *Eur J Clin Pharmacol*, 63(7), 687-692.
- [43]. Zhang, Z. B., Ji, S. M., Han, Y., *et al.* (2017). Population pharmacokinetic models of lamotrigine in different age groups of Chinese children with epilepsy. *Eur J Clin Pharmacol*, 73(4), 445-453.