



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Caracterización de una variante de HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos.

María Camila Rueda Rodríguez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría
Bogotá, Colombia
2020

Caracterización de una variante de HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos.

María Camila Rueda Rodríguez

Protocolo de trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Neuropediatra

Directora:

Doctora Angélica María Uscátegui Daccarett

Neuropediatra - Epileptóloga

Profesora Asociada Departamento de Pediatría

Línea de Investigación:

Epilepsia

Grupo de Investigación:

NEUROPED-UNAL

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría

Bogotá, Colombia

2020

*La esencia de la vida consiste en ser fiel a lo
que uno cree su destino.*

Ernesto Sabato

Agradecimientos

A los Doctores Jorge Eduardo Caminos, Profesor Asociado División de Bioquímica, Departamento de Ciencias Fisiológicas Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia y Juan José Yunis Londoño, Genetista, Profesor titular Departamento de Patología, Facultad de Medicina e instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia por su asesoría metodológica del proyecto.

A María Clara Jácome Sandoval, Lina Marcela López Ardila y David Eduardo Malaver Parra, estudiantes de medicina de la Universidad Nacional de Colombia, por su colaboración en el desarrollo del marco teórico y en la presentación del proyecto a las convocatorias de DIB.

Asesores metodológicos del proyecto.

Resumen

El uso de fármacos antiepilépticos (FAE) es una de las causas más frecuentes de reacciones adversas secundarias a medicamentos, con severidad variable e incluso muerte en un 35% de los casos. Las variantes genéticas se consideran un posible actor causal de las reacciones de hipersensibilidad, por lo que la genotipificación de los alelos HLA-A y B ha resultado ser una herramienta costoefectiva en la elección de manejo en pacientes con epilepsia.

Objetivo: Determinar la variante más frecuente del HLA-A y B en pacientes con epilepsia que presenten reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos.

Materiales y métodos: Estudio de casos y controles de corte ambispectivo. Muestreo por conveniencia, considerando el diagnóstico de epilepsia para casos y controles, y el diagnóstico de reacción adversa a medicamentos antiepilépticos para casos. A partir de muestras de sangre venosa se realizará la tipificación de los haplotipos del HLA-A y B en el laboratorio Servicios Médicos Yunis Turbay y Cia SAS, con el fin de comparar los resultados de pacientes con y sin reacción adversa a fármacos antiepilépticos.

Resultados esperados: Encontrar diferencias en la tipificación de HLA-A y B de los pacientes con epilepsia tratados con FAE que presentan reacciones adversas cutáneas comparadas con aquellos con igual diagnóstico y tratamiento que no las presentan.

Palabras clave: Anticonvulsivantes; Niño; Efectos Secundarios y Reacciones Adversas Relacionados con Medicamentos; Antígenos HLA

Abstract

The use of antiepileptic drugs (AEDs) is one of the most frequent causes of adverse reactions secondary to drugs, with variable severity and even death in 35% of cases. Genetic variants are considered a possible causal actor of hypersensitivity reactions, therefore genotyping of the HLA-A and B alleles has proven to be a cost-effective tool in the choice of management in patients with epilepsy.

Objective: To determine the most frequent variant of HLA-A and B in patients with epilepsy who present an adverse skin reaction to antiepileptic drugs.

Materials and methods: Ambispective case-control study. Convenience sampling, considering the diagnosis of epilepsy for cases and controls, and the diagnosis of adverse reaction to antiepileptic drugs for cases. HLA-A and B haplotypes will be typed from venous blood samples at Yunis Turbay y Cia SAS Medical Services laboratory, in order to compare the results of patients with and without adverse reaction to antiepileptic drugs.

Expected results: Finding differences in the HLA-A and B typing of patients with epilepsy treated with AEDs who present cutaneous adverse reactions compared to those with the same diagnosis and treatment that do not present them

Keywords: Anticonvulsivants; Child; Drug-Related Side Effects and Adverse Reactions; HLA Antigens

Contenido

Resumen	IX
Lista de tablas	XII
Lista de Símbolos y abreviaturas	XIII
Introducción	1
1. Marco Teórico	3
1.1 Generalidades FAE	3
1.2 Manifestaciones clínicas	5
1.2.1 Reacciones mediadas por IgE	5
1.2.2 Erupción máculo-papular inespecífica	5
1.2.3 Síndrome de Stevens-Johnson	5
1.2.4 DRESS	6
1.2.5 Necrólisis epidérmica tóxica	6
1.3 Tratamiento	7
1.4 Estudio genético y caracterización de HLA	10
1.5 Costoefectividad	
2. Hipótesis, objetivos y justificación	11
2.1 Hipótesis	11
2.2 Objetivos	11
2.3.1 Objetivo general	11
2.3.1 Objetivos específicos	11
2.3 Justificación	11
3. Materiales y métodos	13
3.1 Diseño del estudio	13
3.2 Selección de sujetos de estudio	13
3.2.1 Criterios de inclusión casos	13
3.2.2 Criterios de exclusión casos	13
3.2.3 Criterios de inclusión controles	13
3.2.4 Criterios de exclusión controles	14
3.3 Muestra	14
3.4 Aspectos operativos	14
3.4.1 Identificación de pacientes	14
3.4.2 Historia clínica, datos sociodemográficos	14
3.4.3 Contacto de pacientes	15
3.4.4 Manejo de muestra	15
3.4.5 Aislamiento de ADN	15

3.4.6	Amplificación de alelos HLA	16
3.4.7	Hibridación en fase líquida	16
3.4.8	Nomenclatura	16
3.4.9	Variables	16
3.4.10	Manejo de datos y análisis estadístico	20
3.4.11	Consideraciones éticas	21
3.4.4	Presupuesto	21
4.	Resultados esperados	24
5.	Estado actual de la investigación	25
6.	Conclusiones y recomendaciones	26
6.1	Conclusiones	26
A.	Anexo: Consentimiento informado para la participación de niños	27
B.	Anexo: Consentimiento informado para la participación de adultos	30
	Bibliografía	33

Lista de tablas

Tabla 1:	Variantes de HLA asociadas con reacción adversa y población	8
Tabla 2:	Variables de estudio	17
Tabla 3:	Presupuesto	23
Tabla 4:	Cronograma de actividades realizadas y planeación a futuro	25

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>ADN</i>	Ácido desoxirribonucleico
<i>CBZ</i>	Carbamazepina
<i>CMH</i>	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
<i>DRESS</i>	Reacción cutánea con eosinofilia y síntomas sistémicos
<i>EDTA</i>	Ácido etilendiaminotetraacético
<i>FAE</i>	Fármacos Antiepilépticos
<i>HLA</i>	<i>Human leukocyte antigen</i> , Antígeno leucocitario humano
<i>LMT</i>	Lamotrigina
<i>OMS</i>	Organización Mundial de la Salud
<i>OXC</i>	Oxcarbazepina
<i>PCR</i>	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>PHT</i>	Fenitoína
<i>QALY</i>	<i>Quality Adjusted Life Year</i> , Año de vida ajustado por calidad
<i>RAM</i>	Reacción adversa a medicamentos

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define reacción adversa a medicamentos (RAM) como “cualquier respuesta a un fármaco que es nociva, no intencionada y que se produce a dosis habituales para la profilaxis, diagnóstico o tratamiento” (1). Esta respuesta puede estar relacionada directamente con las características del medicamento, o por eventos que no se encuentran relacionados con el mecanismo de acción del mismo, como es el caso de las reacciones de hipersensibilidad (1).

La predisposición a presentar RAM involucra las características del fármaco, vía de administración del mismo y factores del paciente (2). Dentro de las características de medicamentos se debe tener en cuenta el peso molecular, estructura química, metabolismo, metabolitos secundarios e interacciones medicamentosas; los factores dependientes del paciente incluyen edad, perfil genético, enfermedad orgánica que afecte el metabolismo o excreción del medicamento, o inmunosupresión primaria o secundaria (2).

La epilepsia es una condición que compromete aproximadamente el 2% de la población mundial (3). Todos los pacientes con diagnóstico de epilepsia requieren el inicio de manejo farmacológico; en condiciones ideales se busca control de crisis en monoterapia, sin embargo, hasta el 30% de los pacientes va a necesitar más de un medicamento (2). El uso de fármacos antiepilépticos (FAE) es una de las causas más frecuentes de reacciones adversas secundarias a medicamentos; la presentación y severidad de estas reacciones es variable y de no ser identificadas a tiempo podrían incluso poner en riesgo la vida del paciente (4–6).

De manera general se estima una incidencia de RAM hasta de 1 de cada 1000 en pacientes tratados con FAE, con presencia de lesiones cutáneas inespecíficas en 15 de cada 100 pacientes y hepatotoxicidad severa hasta en 16 de cada 100.000 pacientes (2,4). En Colombia entre el año 2008 y 2012 se notificaron 173 casos de eventos adversos asociados a FAE, además se encontró que en general el órgano más frecuentemente comprometido por RAM es la piel, con aparición de erupciones cutáneas inespecíficas hasta en el 39% de los pacientes; dentro de los factores de riesgo para presentación de RAM se encontró la edad de 0 a 9 años y sexo masculino en este grupo etario (7).

El sistema HLA es un complejo de genes localizados en el cromosoma 6, que codifican las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en la superficie de las células humanas (8); se encargan de la regulación de la respuesta inmune a través de la presentación de antígenos a los linfocitos T (9,10). Los antígenos presentados por el CMH I y CMH II se derivan de proteínas expresadas endógenamente y proteínas exógenas internalizadas, y son presentadas a los linfocitos T CD8+ y CD4+ respectivamente, con inducción de citoquinas pro-inflamatorias que se asocian a respuesta inmune cutánea, lo que determina la severidad de la lesión (9,11).

A continuación, se presenta un protocolo de investigación, de acuerdo con conocimiento actual de la presencia de HLA específico que predice la aparición de estas reacciones adversas cutáneas a FAE, que busca evaluar la presencia del mismo en población colombiana. Este hallazgo puede servir en el futuro en la práctica diaria, dentro de los estudios previos al inicio del manejo farmacológico, como un predictor de este tipo de complicaciones.

1.Marco Teórico

Las RAM idiosincráticas se refieren a aquellas que no ocurren en la mayoría de los pacientes a cualquier dosis del medicamento, los órganos principalmente implicados en este escenario son la piel y el hígado, causando reacciones adversas cutáneas severas y falla hepática inducida por medicamentos, que a su vez es la causa más frecuente de la salida de medicamentos del mercado (9).

El uso de FAE es un factor de riesgo para desarrollar efectos adversos de diferentes grados de severidad, se ha asociado el uso de estos medicamentos a reacciones como síndrome de Stevens Johnson y necrólisis epidérmica tóxica, con una mortalidad estimada hasta en un 35% (4–6).

1.1 Generalidades de FAE

Los FAE se clasifican por generaciones, los de primera generación disponibles desde 1912, con metabolismo primordialmente hepático a través del citocromo P-450 y mayor frecuencia de efectos adversos, los de segunda y tercera generación con uso de más de 20 y menos de 10 años respectivamente y menores efectos adversos reportados (2).

Dentro de los tres grupos, aquellos fármacos metabolizados por hidroxilación aromática (FAE aromáticos) son los más asociados con aparición de reacciones de hipersensibilidad (2,12). En el grupo de FAE aromáticos se encuentran fenitoína, fenobarbital, carbamazepina, oxcarbazepina, lamotrigina, felbamato, zonisamida y primidona (2,4,11). La mayor incidencia a reacciones de hipersensibilidad en este grupo es secundaria a la

presencia de metabolitos tóxicos llamados óxidos de areno, asociados con procesos de apoptosis y necrosis celular, que desencadenan respuestas inmunológicas secundarias (2,4).

Uno de los FAE relacionado frecuentemente con reacciones de hipersensibilidad es la carbamazepina, los metabolitos de este fármaco se adhieren directamente a las moléculas HLA-B en la presentación de antígenos de los linfocitos T, lo que contribuye al proceso de muerte celular, por este mecanismo es uno de los fármacos más comúnmente asociados al desarrollo de síndrome de Stevens Johnson o necrólisis epidérmica tóxica (13,14)

El promedio de aparición de alteraciones cutáneas en usuarios de carbamazepina es del 10%, sin embargo, existen cambios poblacionales, encontrando reacciones adversas cutáneas severas hasta en un 26% de los casos en población asiática (15,16). La aparición de efectos adversos es tardía, presentándose varios días después del inicio del medicamento, y en el caso de reacciones severas incluso después de 8 semanas (15).

Con respecto a la oxcarbazepina, se ha encontrado menor proporción de efectos adversos cutáneos al comparar con carbamazepina a pesar de ser su análogo, sin embargo, se ha asociado a erupciones cutáneas inespecíficas en un 5-9% de los casos y a aparición de reacciones adversas cutáneas severas. principalmente en población asiática (8,17,18). Es importante aclarar que existe un riesgo de reacción adversa cruzada en pacientes en manejo previo con carbamazepina hasta de un 40% (8)

Otro de los medicamentos de este grupo con alta incidencia de efectos adversos es la lamotrigina, siendo esta una de las principales causas para su suspensión (4). Dentro de los factores de riesgo para presentar efectos adversos con el uso de este fármaco se encuentra la edad del paciente (menores de 13 años), ser de sexo femenino, dosis inicial alta, ascenso rápido y uso concomitante con ácido valproico (4).

1.2 Manifestaciones clínicas

El inicio de la reacción de sensibilidad generalmente se da en el transcurso de 1 a 8 semanas de tratamiento (5). Las características del compromiso cutáneo son variables y es usual tener erupciones cutáneas inespecíficas, además es frecuente la presencia concomitante de alteraciones sistémicas, con trombocitopenia, eosinofilia y elevación de transaminasas; dentro de las manifestaciones más graves encontramos el Síndrome de Stevens Johnson, la necrólisis epidérmica tóxica y la reacción cutánea con eosinofilia y síntomas sistémicos (DRESS, por sus siglas en inglés) (4,5,13,19)

1.2.1 Reacciones mediadas por IgE

Se desarrollan en pocos minutos u horas, son fácilmente reconocidas y presentan variación en severidad (2). Dentro de estas reacciones se encuentra la urticaria o angioedema, broncoespasmo y anafilaxis (2).

1.2.2 Erupción máculo-papular inespecífica 3

Reacción alérgica benigna, usualmente asociada a esinofilia, que resuelve pocos días después de la discontinuación del medicamento, sin implicaciones sistémicas (2).

1.2.3 Síndrome de Stevens Johnson

Inicialmente puede encontrarse síntomas inespecíficos como ardor ocular y odinofagia (20).

Su evolución se caracteriza por presencia de fiebre alta, malestar general, ampollas o lesiones maculares en diana en región esternal, cara, palmas y plantas, con desprendimiento cutáneo menor del 10%, y compromiso de mucosas (13,15). Se puede encontrar compromiso ocular severo, con aparición de úlcera corneal y posible compromiso visual a largo plazo (10).

La mortalidad de esta entidad es de alrededor del 5% (13,15).

1.2.4 DRESS

Se asocia con erupción cutánea generalizada, usualmente morbiliforme, con dermatitis exfoliativa, ampollas tensas y ocasionalmente lesiones en diana (2,11). Además, presenta fiebre, linfocitosis atípica, eosinofilia, compromiso multisistémico generalmente asociado con disfunción hepática, linfadenopatías y artralgias (2,10,11).

Mayor correlación de la aparición de este efecto con el uso carbamazepina y fenitoína, los casos severos también se han reportado con el uso de lamotrigina (2).

La mortalidad estimada se encuentra en un 10%, principalmente secundaria a compromiso hepático y renal (2,10,11)

1.2.5 Necrólisis epidérmica tóxica

Sus manifestaciones son similares a las del síndrome de Steven Johnson, sin embargo se considera de mayor gravedad por asociarse a desprendimiento cutáneo del alrededor del 30% (20).

Se estima que la mortalidad en esta entidad es del 35% (13).

1.3 Tratamiento

En todos los casos la primera conducta a tomar es la suspensión del fármaco, además se recomienda al paciente evitar otros FAE aromáticos y antidepresivos tricíclicos por posibilidad de reacción cruzada hasta del 75% (4).

En el síndrome de DRESS se debe dar manejo con prednisolona a dosis de 1-1,5 mg/kg/día hasta mejoría, con descenso progresivo de 3 a 6 meses (2).

En Stevens Johnson y necrolisis epidérmica tóxica los corticoesteroides podrían agravar el cuadro, en estos casos se requiere ingreso a unidad de quemados para cuidado especializado de la piel y las mucosas, además de la prevención de infección (2). Se recomienda terapia con inmunoglobulina IV a dosis de 1-2 mg/kg/día, por 3 a 4 días (2).

En cuanto al seguimiento de estos pacientes, debido a encontrar mayor predisposición a efectos adversos se considera pertinente contar con datos acerca de conteo celular sanguíneo y función hepática previo al inicio de estos fármacos, además de la realización de un seguimiento riguroso trimestral (2).

1.4 Estudio genético y caracterización de HLA

Las variantes genéticas en el metabolismo de los medicamentos se consideran un posible actor causal de las reacciones de hipersensibilidad (4). Dentro de las reacciones adversas secundarias al uso de fenitoína se ha encontrado diferentes variantes del citocromo P-450, la variación CYP2C9*3 reduce el aclaramiento de este medicamento y se ha asociado con reacciones cutáneas severas en pacientes asiáticos (11).

Se han reportado ciertos alelos de HLA altamente asociados a reacciones adversas de FAE, por lo que se ha recomendado análisis de HLA antes del inicio de la terapia farmacológica, principalmente en poblaciones de alto riesgo (2). El estudio genético se encuentra indicado en pacientes que lleven menos de 3 meses en manejo con el medicamento y pacientes con reacción adversa previa, posiblemente atribuida al medicamento (15).

En países como Taiwan o Japón en los que se aplica la prueba previo al inicio del tratamiento se ha reportado reducción de 40 a 80% en la frecuencia de aparición de reacciones adversas, llevando en el primer caso al cubrimiento del estudio por el sistema de salud (21,22)

Se ha estudiado algunas variantes de HLA-A y B asociadas a reacciones adversas con FAE en poblaciones específicas, con diferencias significativas con respecto al grupo étnico. Algunas de estas variables se encuentran descritas en la Tabla 1 basada en las referencias (2,4–6,9–14) (17,18) (8) (22)

Tabla 1: Variantes de HLA asociadas con reacción adversa y población

Tabla 1. Variantes de HLA asociadas con reacción adversa			
Variante	FAE	R. Adversa	Población
HLA-A			
HLA-A*3101	OXC	Erupción maculopapular inespecífica	Variable
	CBZ	DRESS	Espanoles África del norte Japoneses Nativos Americanos Descendientes europeos
HLA-A*3101	CBZ	DRESS S. Johnson Necrólisis epidérmica tóxica	Indios Espanoles
HLA-A*1101			

HLA-A*3303			
HLA-A*2404	LMT LMT/PH T	DRESS	Españoles
HLA-A*6801	LMT	No especificada	Mexicanos
HLA-A*0201			
HLA-A*5602	PHT		
HLA-B			
HLA-B*1502	CBZ LMT PHT OXC	Reacciones cutáneas severas Severas	Españoles Mexicanos Asiáticos Chinos Japoneses *** No encontrado en caucásicos***
HLA-B*1511	CBZ		Japoneses
HLA-B*3502	CBZ		Turcos
HLA-B*3801	LMT LMT/PH T		Españoles
HLA B*5101	PHY		Indios

El complejo mayor de histocompatibilidad en la población mestiza colombiana que abarca el 85% de la población general se caracteriza por presentar alta variabilidad, sin embargo, esta no es una limitante para determinar una variante de HLA-A y B relacionada con reacciones adversas a FAE, lo cual sería una herramienta costo-efectiva en la elección de manejo para pacientes con epilepsia (23,24).

1.5 Costo-efectividad

Se ha demostrado que el estudio de una variante de HLA conocida en la población previo al inicio de FAE es una herramienta costo-efectiva, a largo plazo, lo anterior teniendo en cuenta los costos del manejo de este tipo de patologías, que implican hospitalizaciones prolongadas y manejos especializados y el impacto de las reacciones adversas severas en la calidad de vida medida en QALYs (calidad de vida ajustada por año, por sus siglas en inglés) (14).

Dentro de las dificultades en este aspecto se encuentra la falta de adherencia al procedimiento por parte de los prestadores o el sistema de salud y el posible alto costo de la prueba en la fase inicial (25).

En un trabajo realizado en 2018 con población de ascendencia asiática en Estados Unidos la diferencia en costos entre la presencia y ausencia de estudio previo fue de \$22 942, lo cual apoyaría la conducta (14)

2. Hipótesis, objetivos y justificación

2.1 Hipótesis

Existen diferencias en la tipificación de HLA de los pacientes con epilepsia tratados con FAE que presentan reacciones adversas cutáneas comparadas con aquellos con igual diagnóstico y tratamiento que no las presentan).

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general

Determinar la variante más frecuente del HLA A y B en pacientes con epilepsia que presenten reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos

2.2.2 Objetivos específicos

- Comparar las variantes de HLA A y B de pacientes con reacción adversa cutánea a FAE y pacientes tratados con FAE sin desarrollo de efectos adversos.
- Describir las reacciones adversas cutáneas más frecuentes asociadas al uso de FAE en pacientes con diagnóstico de epilepsia.

2.3 Justificación

Las reacciones adversas cutáneas secundarias al uso de FAE tienen un amplio espectro clínico, llegando a comprometer la vida del paciente hasta en un 35% en sus manifestaciones más severas, principalmente debido a compromiso multiorgánico secundario, que incrementa la morbilidad y se asocia a mayores estancias hospitalarias (13). La prevención de reacciones adversas además podría asociarse con disminución de

lesiones secuelas, como es el caso del compromiso visual severo en el Síndrome de Stevens Johnson (10).

Existen múltiples variantes del HLA de clase I que determinan la unión de medicamentos a péptidos específicos, lo que se relaciona con la respuesta inmune y posible reacción de hipersensibilidad presentada ante determinados metabolitos de los FAE (9). Teniendo en cuenta lo anterior se deduce que la caracterización de las variantes de HLA es de utilidad para predecir el riesgo de un individuo a presentar RAM asociada al uso de FAE, lo que llevaría a una replantación de esquemas farmacológicos de primera línea en algunos pacientes (23).

Cabe resaltar que existen diferencias poblacionales significativas en la variante de HLA expresada, como ejemplo, una de las variantes más frecuentemente encontradas en población europea es el HLA-A*3101, mientras en población asiática es el HLA-B*1502 y en México el HLA-A*5602 (2,5,9,10,13). En Colombia, hasta el momento no se ha realizado estudios que permitan diferenciar una variante de HLA asociada con eventos adversos a FAE, lo cual permitiría identificar pacientes con riesgo a desarrollo de eventos adversos previo al inicio del tratamiento, lo que resulta en mayor seguridad para el paciente y reducción de costos para el sistema de salud.

Este estudio pretende caracterizar los alelos de HLA en pacientes pediátricos usuarios de FAE con reacciones adversas cutáneas, para evaluar la utilidad de esta herramienta en la clínica diaria, dentro de los estudios previos al inicio del manejo farmacológico, como un predictor de este tipo de reacciones adversas.

3. Materiales y métodos

3.1 Diseño de estudio

Estudio de casos y controles de corte ambispectivo

3.2 Selección de sujetos de estudio

3.2.1 Criterios de inclusión casos

- Diagnóstico de epilepsia
- Tratamiento con FAE al menos 1 semana
- Evidencia clínica y/o paraclínica de reacción adversa

3.2.2 Criterios de exclusión casos

- Antecedente de enfermedad hepática
- Antecedente de eosinofilia
- Reacción adversa no confirmada en historia clínica

3.2.3 Criterios de inclusión controles

- Diagnóstico de epilepsia
- Tratamiento con FAE al menos 1 semana

3.2.4 Criterios de exclusión controles

- Evidencia clínica y/o paraclínica de reacción adversa a FAE

3.3 Muestra

Muestreo por conveniencia de pacientes y sus historias clínicas, teniendo en cuenta el diagnóstico de epilepsia para casos y controles, y el diagnóstico de reacción adversa a medicamentos antiepilépticos para casos

3.4 Aspectos operativos

3.4.1 Identificación de pacientes

Se incluirán pacientes con diagnóstico de epilepsia tratados con fármacos antiepilépticos que desarrollen reacción adversa cutánea (casos) y aquellos con igual diagnóstico y tratamiento sin reacción adversa cutánea (controles) en una relación 1:1.

3.4.2 Historia clínica, datos sociodemográficos

Los datos demográficos y clínicos de los pacientes serán obtenidos a partir de la historia clínica institucional. Adicionalmente se tendrá en cuenta el tipo y severidad de la reacción adversa, los FAE asociados con la misma y la presencia o no de politerapia.

Esta información será registrada en una base de datos en el programa Excel (variables descritas a continuación).

3.4.3 Contacto de pacientes

Se contactará a los padres o acudientes legales de los pacientes vía telefónica empleando los registros de historia clínica. Se procederá a explicar el objetivo y metodología del estudio y en caso de aceptar ser parte de este, se citará para firma de consentimiento informado y toma de muestra.

En caso de tratarse de un paciente hospitalizado se procederá a realizar toma de muestra durante hospitalización, posterior a firma de consentimiento informado.

Se llevará a cabo la firma de consentimiento informado de los pacientes ya que a pesar de que el presente estudio no implicará cambios terapéuticos ni en el curso de la enfermedad, se realizará un procedimiento diagnóstico. Los pacientes mayores de 14 años con capacidad cognitiva para comprender las condiciones del estudio firmarán asentimiento informado.

3.4.4 Manejo de muestra

Se recolectarán muestras de sangre venosa periférica en tubos de ensayo con anticoagulante EDTA, obtenidos por los investigadores, previamente rotulados con número de identificación de paciente, dichos tubos se refrigerarán a 4 grados y serán transportadas en un periodo máximo de 48 horas, bajo normas de bioseguridad y conservación al laboratorio de Servicios Médicos Yunis Turbay y Cia SAS para su procesamiento.

3.4.5 Aislamiento de ADN

El ADN será aislado a partir de la muestra de sangre periférica mediante protocolos estandarizados (Protocolo Aislamiento de ADN método Qiagen, PT-HLA-004, V.7.0).

3.4.6 Amplificación de alelos HLA

La amplificación por PCR de los alelos HLA-A y B se llevará a cabo mediante métodos estandarizados (Protocolo amplificación HLA-A y B, Sistema Immucor-Lifecodes.PT-HLA-006, V.7.0, 2018/02/28), utilizando los kits de tipificación de HLA-A y B de LIFECODES®.

3.4.7 Hibridación en fase líquida

La hibridación de los productos de PCR se llevará a cabo mediante hibridación con sondas de secuencia específica (PCR-SSOP) en Fase líquida las cuales reconocen el polimorfismo del segundo y tercer exón en las moléculas de clase I (Sistema Immucor-Lifecodes, Inc Stanford, CT) en un Equipo Luminex IS200, mediante protocolos estandarizados (Protocolo Manejo software xPonent 3.1. PT-HLA-007, V.3.0, 2018/02/28); y serán analizados con el software Match IT DNA (Protocolo Análisis de Resultados HLA software Match IT! DNA, PT-HLA-008, V.7.0, 2018/02/28).

3.4.8 Nomenclatura

La nomenclatura HLA a utilizar corresponderá a la descrita por el comité de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en “Nomenclature for factors of the HLA System, 2010” para los factores HLA. El locus tipificado va seguido por un asterisco (*). Los dos primeros números identifican al grupo de alelos al cual pertenece y los siguientes dos dígitos a la variante alélica seguida por dos puntos (:). Por ejemplo, HLA-B*08:01 indica que el locus tipificado es HLA-B, el alelo identificado es HLA-B8, subtipo B*08:01. Cuando los dos dígitos que siguen al alelo mayor identificado son 00, indica que no se tipificó para variantes alélicas dentro del grupo.

3.4.9 Variables

Tabla 2: Variables de estudio.

Tabla 2 Variables de estudio					
Variable	Definición	Resultados	Tipo de variable	Medida estadística	Fuente
ID	Número de identificación del paciente	NA	NA	NA	Historia Clínica
Sexo	De acuerdo con lo registrado en historia clínica	1=Masculino 2=Femenino	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Edad	En años	NA	Numérica	Medidas de tendencia central y dispersión (promedio – DS) (Mediana-RI)	Historia Clínica
Caso/Control	De acuerdo con presencia de reacción adversa	1=Caso 2=Control	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Reacción adversa	Clasificación de evento adverso asociado a FAE	0=No 1=Erupción máculo-papular inespecífica 2= Síndrome de Stevens Johnson 3= DRESS 4=Necrólisis epidérmica tóxica	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Severidad de la reacción	Entendiendo leve como reacción limitada a piel,	0=No especificada 1=Leve	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica

	moderada como compromiso multisistémico y severo como requerimiento de medidas avanzadas o muerte.	2= Moderada 3= Severa NA			
Tratamiento de reacción adversa	Además de suspensión de fármaco	0= Ninguna 1= Corticoide 2= Inmunoglobulina 3= Adrenalina 4= Otro	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Fármaco antiepiléptico	Fármaco asociado al inicio de la reacción	0= Sin dato 1= Lamotrigina 2= Fenitoína 3= Carbamazepina 4= Oxcarbazepina 5= Fenobarbital 6= Clobazam 7= Topiramato 8= Levetiracetam 9= Clonazepam 10= Lacosamida 11= Ácido Valpróico NA	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Tiempo de manejo con el fármaco	En semanas	NA	Numérica	Medidas de tendencia central y dispersión (promedio – DS) (Mediana-RI)	Historia Clínica

Dosis inicial de medicamento	Por kilogramo	NA	Numérica	Medidas de tendencia central y dispersión (promedio – DS) (Mediana-RI)	Historia Clínica
Número de FAE del paciente	Entendiendo politerapia como más de 2 fármacos	0=No especificado 1= 1 2= 2 3= Más de 2	Categorica	Porcentajes	Historia Clínica
Uso de otros medicamentos	Medicamentos diferentes a FAE	0= No 1= Sí	Categorica	Porcentajes	Historia Clínica
De usar otro medicamento especificar cuál	Medicamentos diferentes a FAE	NA	Nominal	Porcentajes	Historia Clínica
Antecedente personal de reacción adversa	Reacción adversa a medicamentos	0= No 1= Sí SD	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Severidad de reacción adversa previa	Reacción adversa a medicamentos anterior a actual	0=No especificada 1=Leve 2= Moderada 3= Severa SD NA	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Medicamento asociado con reacción adversa previa	Reacción adversa a medicamentos anterior a actual	NA	Nominal	Porcentajes	Historia Clínica
Tratamiento de reacción adversa previa	Además de suspensión de fármaco	0= Ninguna 1= Corticoide 2= Inmunoglobulina 3= Adrenalina	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica

		SD NA			
Antecedente familiar de reacción adversa	Reacción adversa a medicamentos	0= No 1= Sí SD	Categórica	Porcentajes	Historia Clínica
Tipificación de HLA-A	Resultado de laboratorio	Por determinar, de acuerdo con resultados	Categórica	Porcentajes	Análisis de muestra
Tipificación de HLA-B	Resultado de laboratorio	Por determinar, de acuerdo con resultados	Categórica	Porcentajes	Análisis de muestra

3.4.10 Manejo de datos y análisis estadístico

La descripción de las variables numéricas se realizará mediante medianas o promedios dependiendo de la distribución normal o no. Igualmente, las medidas de dispersión serán la desviación estándar o los rangos según corresponda. Las variables se presentan mediante frecuencias.

En cuanto a la tipificación de HLA, los resultados obtenidos entre pacientes y controles se analizarán mediante una tabla de contingencia de filas y columnas mediante test de Fisher para identificar la existencia de diferencias significativas entre pacientes y controles. Los valores de $p \leq 0.05$ se consideraron significativos después de la corrección para el número de alelos con una frecuencia $\geq 5\%$ (alelo no raro). Igualmente se calculará el OR con un intervalo de confianza del 95% para las diferencias significativas encontradas según los estratos evaluados.

Los datos se analizarán en el programa Statistical Package for the Social Sciences versión 22.0 (SPSS 22.0).

3.4.11 Consideraciones éticas

Este estudio se acoge a los acuerdos internacionales de investigación en humanos como la declaración de Helsinki y el código de Nüremberg, y la normativa nacional del artículo 11 de la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, en lo concerniente a “la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres humanos” (Título II, Capítulo VI), “las investigaciones de nuevos recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación” (Título III) y de “la bioseguridad de las investigaciones en lo referente a la investigación con microorganismos patógenos o material biológico” (Título IV, Capítulo I) y se identificó categoría de riesgo menor al mínimo.

Se diligenciará consentimiento y asentimiento informado para la toma de muestra sanguínea periférica, procedimiento considerado común y no invasivo. Para asegurar la confidencialidad de los datos las variables de identificación de cada paciente se codificarán para impedir trazabilidad de identificación; nadie ajeno al grupo de investigación o al comité de ética tendrá acceso a la base de datos, y no se publicará ningún dato que permita la identificación de los participantes.

El presente estudio no pretende evaluar recursos terapéuticos en el tratamiento de la epilepsia, los pacientes continuarán con el esquema de tratamiento validado actualmente en las guías de manejo.

3.4.12 Presupuesto

La proyección de presupuesto para la ejecución del trabajo se describe en la tabla 3.

Tabla 3: Proyección de presupuesto [14].

Presupuesto general del proyecto			
	Valor para solicitar en convocatorias	Valor Contrapartida	Total
Gastos de personal	\$ -	\$ 41.500.000	\$ 41.500.000
Salidas de campo y publicaciones	\$ 3.000.000	\$ -	\$ 3.000.000
Materiales e insumos	\$ 18.000.000	\$ -	\$ 18.000.000
Citometría de flujo HLA y tubos de ensayo			
Total	\$ 21.000.000	\$ 41.500.000	\$ 62.500.000

4. Resultados esperados

Encontrar diferencias en la tipificación de HLA-A y B de los pacientes con epilepsia tratados con FAE que presentan reacciones adversas cutáneas comparadas con aquellos con igual diagnóstico y tratamiento que no las presentan.

5.Estado actual de la investigación

A la fecha el trabajo se encuentra aprobado por el comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia y las instituciones en las que se dará a cabo la recolección de pacientes. Además, se ha presentado a múltiples convocatorias para consecución de financiación, incluyendo convocatorias internas y externas a la Universidad Nacional de Colombia. Sin embargo, a la fecha, no se ha logrado encontrar un financiador del estudio.

Está registrado en el Sistema HERMES con el código 51283.

La emergencia sanitaria por SARS COV-2 ha dificultado el avance del proyecto en el tiempo estipulado por el requerimiento de contacto directo con los pacientes y toma de muestras, sin embargo, los autores continúan trabajando para que su ejecución sea posible.

De momento y de manera paralela se está desarrollando una revisión sistemática de la literatura acerca del tema, la cual será el primer material de publicación del proyecto y facilitará el análisis de los resultados posteriores. Este trabajo se está realizando con la colaboración de estudiantes de medicina de la Universidad Nacional de Colombia, pertenecientes al semillero de investigación de Neuropediatría.

En la tabla 4 se describe el cronograma ejecutado hasta el momento y la proyección para el desarrollo futuro del proyecto.

Tabla 4. Cronograma de actividades realizadas y planeación a futuro.

	2017	2018	2019	2020	2021		
					Primer trimestre	Segundo trimestre	Tercer trimestre
Creación de pregunta de investigación y objetivos	Realizado						
Escritura y ajustes del protocolo*	Realizado	Realizado					
Presentación del proyecto a comité de ética de instituciones para recolección de pacientes		Realizado	Realizado				
Presentación a convocatorias para financiación <ul style="list-style-type: none"> Convocatorias internas de la Universidad Nacional de Colombia para apoyo de investigación y semilleros Banco de la República Fundación Hospital de la Misericordia 			Realizado	Realizado			
Escritura Revisión Sistemática de la Literatura				En ejecución	Por realizar		
Publicación de Revisión Sistemática de la Literatura					Por realizar		
Reclutamiento de pacientes					Por realizar	Por realizar	
Análisis base de datos						Por realizar	
Escritura del producto						Por realizar	Por realizar
Cierre del estudio							Por realizar

Realizado
En ejecución
Por realizar

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

La epilepsia es una de las condiciones de salud mental más frecuentes a nivel mundial, comprometiendo aproximadamente a un 2% de la población (3), y en todos los casos requiere el inicio de manejo farmacológico. En la práctica se hace la elección del medicamento de una manera individualizada, poniendo en consideración posibles efectos adversos, que no siempre son prevenibles.

Dentro de las potenciales complicaciones del uso de fármacos antiepilépticos se encuentran las reacciones adversas cutáneas, con una gravedad variable que puede implicar secuelas o incluso llevar a la muerte. Entre los predictores de la aparición de dichas reacciones se encuentran algunas variantes del HLA, las cuales cambian dependiendo de la región y hasta el momento no se han caracterizado en nuestro contexto local.

De encontrarse una variante específica en nuestra población se podría diseñar una herramienta diagnóstica para seleccionar el manejo farmacológico inicial en pacientes con diagnóstico de epilepsia, reduciendo sustancialmente la morbimortalidad asociada al tratamiento con fármacos antiepilépticos.

A. Anexo: Consentimiento informado para participación de niños

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN DE PACIENTES EN TRABAJOS DE INVESTIGACION.

1. IDENTIFICACION DEL PACIENTE:

Nombres y apellidos:

Sexo: _____ Edad: _____ Identificación: _____

Fecha: _____ Hora: _____

2. IDENTIFICACIÓN DEL ACUDIENTE O REPRESENTANTE LEGAL:

Nombres _____ y _____ apellidos:

Identificación: CC __ CE__ Número: _____ expedida en: _____

Parentesco _____ con _____ el _____ paciente:

3. CONTENIDO DEL CONSENTIMIENTO:

El propósito de este consentimiento es solicitar de forma voluntaria y consciente, su autorización para la toma de datos de historia clínica y muestra de sangre venosa de su hijo(a), como parte de su participación en un proyecto de investigación. Antes de decidir si su hijo/a participe o no, se le recomienda que lea detenidamente este documento que incluye la información sobre este estudio. Queremos asegurarnos de que está

perfectamente informado sobre el propósito y sus implicaciones. Es probable que no se reciba ningún beneficio personal por la participación de su hijo/a en este estudio.

4. IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

La presente investigación es liderada por la Dra. Angélica Uscátegui Daccarett, en su calidad de Profesora asociada Departamento de Pediatría, Universidad Nacional de Colombia. La justificación de realizar el estudio es identificar una variante genética que permita predecir el riesgo de los pacientes a generar reacciones adversas a los medicamentos anticonvulsivantes (empleados en entidades como la epilepsia), para de esta manera ofrecer el tratamiento con mayor rango de seguridad posible.

El objetivo principal de este estudio es: Determinar la variante más frecuente del HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos, comparados con pacientes sin reacción adversa.

5. CONDICIONES:

La participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide que su hijo(a) no participe, recibirá todos los cuidados médicos que pudiera necesitar y su relación con el talento humano asistencial que le atiendan no se verá afectada.

Para la participación en el estudio se requiere toma de muestra de sangre venosa (1 tubo estéril) y recolección de datos de la historia clínica.

6. TRATAMIENTO DE LOS DATOS Y CONFIDENCIALIDAD:

Los datos personales como los de salud, mantendrán la confidencialidad requerida relacionada con su privacidad y su uso será exclusivo para el desarrollo de este proyecto de investigación. Sólo EL INVESTIGADOR Y/O MEDICO RESPONSABLE podrá relacionar esta información con su hijo(a) siendo responsable de custodiar el documento de consentimiento. Así mismo, los resultados de esta investigación podrán publicarse en revistas científicas o presentarse en sesiones clínicas, pero siempre garantizando el completo anonimato.

7. PREGUNTAS:

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento. Igualmente puede solicitar retirarse de éste, en cualquier instante sin que eso perjudique a su hijo(a) en ninguna forma.

8 CONTACTO DIRECTO CON EL GRUPO INVESTIGADOR:

De tener preguntas sobre la participación de mi hijo(a) en este estudio, la entrega de una copia de este consentimiento y la solicitud de información sobre los resultados de la investigación cuando éste haya concluido, puedo contactar a la Dra María Camila Rueda al teléfono 2892607.

9.ACEPTACIÓN DE PARTICIPACIÓN EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

En consecuencia, en uso de mis facultades mentales y sin limitaciones ni impedimentos de carácter médico o legal, en forma libre y sin presiones de ningún tipo, otorgo mi autorización al grupo investigador referenciado, para que mi hijo(a) participe del trabajo de investigación titulado Caracterización de una variante de HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos, a cargo de la Doctora Angélica Uscátegui Daccarett. Lo anterior implica toma de datos de su historia clínica y una muestra sanguínea. He sido informado de manera clara y completa acerca de todo lo relacionado con el trabajo de investigación, he podido hacer preguntas y me las han resuelto favorablemente. Entiendo que el manejo de la información que se derive de esta participación será estrictamente confidencial. Se me ha informado que puedo desistir de la participación de mi hijo(a) en cualquier momento.

_____	_____	_____
Padre	Madre	Paciente (mayor de 14 años)
CC	CC	TI

Certifico que he explicado el propósito y ventajas del trabajo de investigación, y que he contestado las preguntas del responsable del paciente respecto al contenido de este consentimiento y no se han dejado espacios en blanco.

Firma M.D. y R.M.

Testigo (opcional)

B. Anexo: Consentimiento informado para participación de adultos

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN DE PACIENTES EN TRABAJOS DE INVESTIGACION.

1. IDENTIFICACION DEL PACIENTE:

Nombres y apellidos:

Sexo: _____ Edad: _____ Identificación: _____

Fecha: _____ Hora: _____

2. IDENTIFICACIÓN DEL ACUDIENTE O REPRESENTANTE LEGAL:

Nombres y apellidos:

Identificación: CC __ CE__ Número: _____ expedida en: _____

Parentesco con el paciente:

3. CONTENIDO DEL CONSENTIMIENTO:

El propósito de este consentimiento es solicitar de forma voluntaria y consciente, su autorización para la toma de datos de historia clínica y muestra de sangre venosa como parte de su participación en un proyecto de investigación. Antes de decidir si participa o

no, se le recomienda que lea detenidamente este documento que incluye la información sobre este estudio. Queremos asegurarnos de que está perfectamente informado sobre el propósito y sus implicaciones. Es probable que no se reciba ningún beneficio personal por su participación en este estudio.

4. IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

La presente investigación es liderada por la Dra. Angélica Uscátegui Daccarett, en su calidad de Profesora asociada Departamento de Pediatría, Universidad Nacional de Colombia. La justificación de realizar el estudio es identificar una variante genética que permita predecir el riesgo de los pacientes a generar reacciones adversas a los medicamentos anticonvulsivantes (empleados en entidades como la epilepsia), para de esta manera ofrecer el tratamiento con mayor rango de seguridad posible.

El objetivo principal de este estudio es: Determinar la variante más frecuente del HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos, comparados con pacientes sin reacción adversa.

5. CONDICIONES:

La participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, recibirá todos los cuidados médicos que pudiera necesitar y su relación con el talento humano asistencial que le atiende no se verá afectada.

Para la participación en el estudio se requiere toma de muestra de sangre venosa (1 tubo estéril) y recolección de datos de la historia clínica.

6. TRATAMIENTO DE LOS DATOS Y CONFIDENCIALIDAD:

Los datos personales como los de salud, mantendrán la confidencialidad requerida relacionada con su privacidad y su uso será exclusivo para el desarrollo de este proyecto de investigación. Sólo EL INVESTIGADOR Y/O MEDICO RESPONSABLE podrá relacionar esta información con usted siendo responsable de custodiar el documento de consentimiento. Así mismo, los resultados de esta investigación podrán publicarse en revistas científicas o presentarse en sesiones clínicas, pero siempre garantizando el completo anonimato.

7. PREGUNTAS:

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento. Igualmente puede solicitar retirarse de éste, en cualquier instante sin que eso lo perjudique en ninguna forma.

8 CONTACTO DIRECTO CON EL GRUPO INVESTIGADOR:

De tener preguntas sobre mi participación en este estudio, la entrega de una copia de este consentimiento y la solicitud de información sobre los resultados de la investigación cuando éste haya concluido, puedo contactar a la Dra María Camila Rueda al teléfono 2892607.

9.ACEPTACIÓN DE PARTICIPACIÓN EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

En consecuencia, en uso de mis facultades mentales y sin limitaciones ni impedimentos de carácter médico o legal, en forma libre y sin presiones de ningún tipo, otorgo mi autorización al grupo investigador referenciado, para participar del trabajo de investigación titulado Caracterización de una variante de HLA en pacientes con reacción adversa cutánea a fármacos antiepilépticos, a cargo de la Doctora Angélica Uscátegui Daccarett. Lo anterior implica toma de datos de su historia clínica y una muestra sanguínea. He sido informado de manera clara y completa acerca de todo lo relacionado con el trabajo de investigación, he podido hacer preguntas y me las han resuelto favorablemente. Entiendo que el manejo de la información que se derive de esta participación será estrictamente confidencial. Se me ha informado que puedo desistir de mi participación en cualquier momento.

Paciente
CC

Acudiente
CC

Certifico que he explicado el propósito y ventajas del trabajo de investigación, y que he contestado las preguntas del responsable del paciente respecto al contenido de este consentimiento y no se han dejado espacios en blanco.

Firma M.D. y R.M.

Testigo (opcional)

Bibliografía

- 1 Organización Mundial de la Salud. Formulario Modelo de la OMS 2004. Formul Model la OMS 2004 [Internet]. 2004;543. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js5422s/4.4.html>
2. Godhwani N, Bahna SL. Antiepilepsy drugs and the immune system. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2016;117(6):634–40.
3. Zhao T, Li H, Wang T, Bahatibieke M, Jia L, Wang F. Association between HLA genotype and antiseizure medications (ASMs) - induced maculopapular eruption among epilepsy patients in Xinjiang , China. *Epilepsy Res* 2020;165:106391.
4. An D-M, Wu X-T, Hu F-Y, Yan B, Stefan H, Zhou D. Association study of lamotrigine-induced cutaneous adverse reactions and HLA-B*1502 in a Han Chinese population. *Epilepsy Res.* 2010;92(2–3):226–30.
5. Brown S, Dauterive R. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome to carbamazepine. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2017;30(1):94–6.
6. Chen Z, Liew D. Effects of a HLA-B * 15: 02 screening policy on antiepileptic drug use and severe skin reactions. *Neurology.* 2014; 83:1–8.
7. Chaves Torres NM, Quijano Rodríguez JJ. Notificación de las reacciones adversas a los medicamentos antiepilépticos en Bogotá (Colombia, 2008-2012). *Rev Cuba Neurol Neurocir.* 2014;4(2):117–23.

-
8. Tangamornsuksan W, Scholfield CN, Lohitnavy M. Association Between HLA genotypes and Oxcarbazepine-induced Cutaneous Adverse Drug Reactions : A Systematic Review and Meta- Analysis. *J Pharm Pharm Sci.* 2018;1–18.
 9. Usui T, Naisbitt DJ. Human leukocyte antigen and idiosyncratic adverse drug reactions. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.dmpk.2016.11.003>
 10. Genin E, Chen D-P, Hung S-I, Sekula P, Schumacher M, Chang P-Y, et al. HLA-A*31:01 and different types of carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions: an international study and meta-analysis. *Pharmacogenomics J.* 2014;14(3):281–8.
 11. Ramírez E, Bellin T, Tong HY, Borobia AM, de Abajo FJ, Lerma V, et al. Significant HLA class I type associations with aromatic antiepileptic drug (AED)-induced SJS/TEN are different from those found for the same AED-induced DRESS in the Spanish population. *Pharmacol Res.* 2017;115:168–78.
 12. Ihtisham K, Ramanujam B, Srivastava S, Kumar N. Seizure : European Journal of Epilepsy Association of cutaneous adverse drug reactions due to antiepileptic drugs with HLA alleles in a North Indian population. *Seizure Eur J Epilepsy.* 2019; 66:99–103.
 13. Chen P, Lin J-J, Lu C-S, Ong C-T, Hsieh PF, Yang C-C, et al. Carbamazepine-induced toxic effects and HLA-B*1502 screening in Taiwan. *N Engl J Med.* 2011;364(12):1126–33.
 14. Choi H. Cost - effectiveness of screening for HLA - B * 1502 prior to initiation of carbamazepine in epilepsy patients of Asian ancestry in the United States. *Epilepsia,* 2019;(60):1472–81.
 15. Amstutz U, Shear NH, Rieder MJ, Hwang S, Fung V, Nakamura H, et al. Recommendations for HLA-B15:02 and HLA-A31:01 genetic testing to reduce the risk of carbamazepine-induced hypersensitivity reactions. *Epilepsia.* 2014;55(4):496–506.

16. Khosama H, Budikayanti A, Khor AHP, Lim KS, Ng CC, Mansyur IG, et al. HLA-B*1502 and carbamazepine induced Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in Indonesia. *Neurol Asia*. 2017;22(2):113–6.
17. He N, Min FL, Shi YW, Guo J, Liu XR, Li BM, et al. Cutaneous reactions induced by oxcarbazepine in Southern Han Chinese: Incidence, features, risk factors and relation to HLA-B alleles. *Seizure*. 2012;21(8):614–8.
18. Liu Y, Yu Y, Nie X, Zhao L, Wang X. oxcarbazepine-induced cutaneous adverse reaction : a meta-analysis. *Pharmacogenomics*, 2018; 10.2217/pgs-2017-0189
19. Büyüköztürk, S, Keik, C, Gökyiğit, F et al. Cutaneous drug reactions to antiepileptic drugs and relation with HLA alleles in the Turkish population. *Eur Ann Allergy Clin immunol*, 2018;36–41.
20. Paez HA, Siabato AR. Reacciones cutáneas severas secundarias al uso de Lamotrigina *Acta Neurol Colomb*. 2014;30(1):128–33.
21. Lin C, Chao WHP, Hsiao WCF. Temporal trends and patterns in carbamazepine use , related severe cutaneous adverse reactions , and HLA - B * 15 : 02 screening : A nationwide study. *Epilepsia*. 2018;(August):1–15.
22. Mushiroda T, Takahashi Y, Onuma T et al. Association of HLA-A*31:01 Screening With the Incidence of Carbamazepine-Induced Cutaneous Adverse Reactions in a Japanese Population. *JAMA Neurology* 2018; doi:10.1001/jamaneurol.2018.0278
23. Plumpton CO, Yip VLM, Alfirevic A, Marson AG, Pirmohamed M, Hughes D a. Cost-effectiveness of screening for HLA-A*31:01 prior to initiation of carbamazepine in epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56(4):556–63.
24. Avila Portillo, Luz Mabel, Carmona, Alejandra, Franco, Leidy, Briceño Ignacio, Casas MC. Bajo polimorfismo en el sistema de antígenos de leucocitos humanos en población mestiza colombiana. *UnivMed Bogotá (Colombia)*. 2010;51(4):359–70.

25. Liew D. Real-world cost-effectiveness of pharmacogenetic screening for epilepsy treatment. *American Academy of Neurology*. 2016; 86:1–10.