



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN HUMANA**



**EVALUACIÓN DE LA TOLERABILIDAD DE LA ϵ -POLILISINA, COMO
POSIBLE FÁRMACO PARA EL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestro en Nutrición Humana

Presenta:

Q.F.B. Lorena Olvera Ochoa

Dirigido por:

Dr. Jorge Luis Rosado Loría

SINODALES

Dr. Jorge Luis Rosado Loría
Presidente

Dr. Manuel Vallejo Soto
Secretario

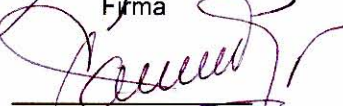
M. en C. Sandra García Padilla
Vocal

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Dra. Olga Patricia García Obregón
Suplente


Biól. Jaime Ángeles Ángeles
Director de la Facultad de
Ciencias Naturales


Firma


Firma


Firma


Firma


Firma


Dr. Luis G. Hernández Sandoval
Director de Investigación y Posgrado

RESUMEN

La obesidad es una enfermedad que tiene una incidencia muy elevada en el mundo. Generalmente se trata con dieta y ejercicio, pero en ocasiones es necesaria una intervención farmacológica, desafortunadamente los medicamentos disponibles logran solo del 5 al 10 % de eficacia en menos del 50 % de los pacientes. Por ello es necesaria la búsqueda de nuevas terapias. La ϵ -polilisina (e-PL) es una molécula catiónica inhibidora de la lipasa pancreática mediante la desestabilización de las sales biliares y la grasa que son su sustrato. En este estudio se evaluó la tolerabilidad de la e-PL al administrarse en humanos. La muestra fue de 20 sujetos sanos no obesos, las dosis de e-PL estudiadas fueron 45, 150, 300, 450 mg/dosis ó placebo administradas tres veces al día después de los alimentos por un periodo de 12 semanas. Las dosis se establecieron en base a los estudios preclínicos realizados anteriormente. A los sujetos bajo estudio se les realizaron pruebas de transaminasas hepáticas, creatinina, albúmina, perfil de lípidos, glucosa, biometría hemática y análisis de orina. Los eventos adversos presentados durante el estudio fueron de naturaleza gastrointestinal y mediante un análisis de supervivencia de Kaplan Meier no se encontró diferencia significativa entre los eventos adversos que presentaron los sujetos que ingirieron las diferentes dosis de e-PL y los que ingirieron el placebo durante el periodo de evaluación. Además, los resultados del perfil de bioseguridad tampoco mostraron cambios, por ello se concluye que la e-PL es una molécula segura y tolerable a las dosis evaluadas.

Palabras clave: ϵ -polilisina, tolerabilidad, obesidad

SUMMARY

Obesity is a disease that affects an important proportion of the world's population. Generally it is treated with diet and exercise but sometimes the use of drugs is necessary. Unfortunately drugs available have an efficacy of 5 to 10 % in less than 50 % of the patients. How it is needed to find new therapies. The ϵ -polylysine (e-PL) is a cationic molecule that inhibits lipase pancreatic making unstable bile salts and fat witch are its substrate. In this study we are measured tolerability of e-PL when administrated to humans. The sample was of 20 healthy subjects, non-obese, e-PL doses were 45, 150, 300, 450 mg/dose or placebo and were administrated three times per day after foods during a 12 weeks period. e-PL doses were determined in previous animal studies. Subjects were studied for hepatic transaminases, creatinine, albumin, lipids profile, glucose, hematic biometry and analyses of urine. Adverse events during study included only gastrointestinal symptoms. Through a Kaplan Meier survival analysis we found no difference in adverse events between subjects in any of the e-PL doses and placebo during the observation period. Also biosecurity results were not different among group, how we conclude that e-PL is a safe molecule that can be tolerable at the doses evaluated by humans.

Key words: ϵ -polylysine, tolerability, obesity

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la participación de las siguientes personas e instituciones en la realización de la presente tesis:

Dr. Jorge Luis Rosado Loría, gracias, por confiar en mí, ofrecerme su apoyo en la realización de esta tesis y favorecerme con una beca para poder cubrir los gastos de la maestría.

Dr. Manuel Vallejo Soto, gracias por su apoyo incondicional en la realización de la tesis participando como médico gastroenterólogo y por todas las aportaciones realizadas a este trabajo.

Dr. Miguel Ángel Duarte Vázquez, gracias por apoyarme desinteresadamente en el transcurso de la maestría y en la realización de esta tesis.

M. en C. Sandra García Padilla, gracias por ser mi asesora por segunda ocasión, ser mi consejera y un gran ejemplo a seguir.

Lic. en Nut. Jacqueline Acosta Iñiguez, gracias por tu valioso apoyo en la realización de esta tesis como nutrióloga del estudio, pero sobre todo por acompañarme en el trayecto de la misma, ser mi mano derecha y hacerme más ameno el trabajo con tu sonrisa contagiadora.

M.C. Alexandra Hidalgo y M.C. José Guerrero Arellano, por su participación como médico general en el presente estudio.

Dra. Minerva Ramos Gómez, gracias, por las enormes aportaciones para la presentación de esta tesis y por todos los conocimientos que me diste.

Dra. Olga Patricia García Obregón, gracias, por ser mi profesora, por el apoyo durante la maestría y en la revisión de esta tesis.

A los voluntarios que participaron en el estudio, gracias, por su tiempo, perseverancia y dedicación durante el trayecto del mismo.

Laboratorio de Nutrición Humana de la Facultad de Ciencias Naturales, gracias, por todo el apoyo ofrecido para permitirme realizar los análisis clínicos.

Pueblito Sánchez, Dra. Araceli Anaya y Alelí por todo el apoyo y tiempo que me ofrecieron antes, durante y al final de la elaboración de este estudio.

Universidad Autónoma de Querétaro

NUCITEC S.A de C.V. por patrocinar este trabajo.

Dedico este trabajo a...

Dios, por poner a las personas adecuadas en mi camino, darme la fuerza y la vida para cubrir un sueño más.....

Mi madre y mi hermana Cecilia, porque una vez más sacrificaron tanto de su tiempo y vida para estar conmigo apoyándome durante mis estudios y en la realización de esta tesis.....

Hugo, por siempre cuidarme, protegerme y confiar en mi....

Brisia, por ser mi amiga, confidente, consejera, cómplice, por apoyarme y darme muchos ánimos durante el desarrollo de esta tesis.

Jackie, Sandra, Miguel, Ric, Sandy (mi comadre), todas los chicos del laboratorio (Martha, Cecy, Joss, Anaguiven, Dany, Román, Alex, Lauris, Rochi, Rosy), Karlis, Adrianita, Bety, Pao y Rosy G. por todos los buenos momentos, el apoyo recibido, los consejos, las parrandas y los ánimos que en su tiempo cada uno de ustedes me dio.

A todos mis compañeros de la maestría Caro, Lilian, Diana y anexo (Mario), Margarita, Tere, Quique, Toño, Cari, Adrianita, Clau y Gloria por hacer de la maestría algo especial.

Mis mascotas, **Chowy, Nubis y Coquis** por recostarse a un lado mío sirviéndome de compañía en los momentos de desvelo.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|--|---------------|
| RESUMEN | i |
| SUMMARY | ii |
| AGRADECIMIENTOS | iii |
| DEDICATORIAS | v |
| ÍNDICE | vi |
| ÍNDICE DE CUADROS | viii |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. REVISIÓN DE LA LITERATURA | 2 |
| 2.1 Obesidad | 2 |
| 2.2 Fármacos para combatir la obesidad | 4 |
| 2.3 Características de la e-PL | 5 |
| 2.4 Farmacología de la e-PL | 7 |
| 2.4.1 Absorción | 8 |
| 2.4.2 Eliminación | 8 |
| 2.5 Toxicología de la e-PL | 9 |
| 2.6 Eficacia de la e-PL | 9 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 11 |
| 4. OBJETIVOS | 12 |
| 4.1 General | 12 |
| 4.2 Particulares | 12 |
| 5. METODOLOGÍA | 13 |
| 5.1 Diseño del estudio | 13 |
| 5.2 Población del estudio | 13 |
| 5.3 Tamaño de la muestra | 13 |
| 5.4 Tratamientos experimentales | 13 |
| 5.4.1 Asignación de los tratamientos | 14 |
| 5.5 Criterios de Inclusión | 14 |
| 5.6 Criterios de Exclusión | 14 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5.7 | Evaluación de la seguridad del nuevo fármaco | 15 |
| 5.8 | Procedimientos | 15 |
| 5.8.1 | Procedimientos clínicos | 17 |
| 5.8.1.1 | Procedimientos de laboratorio | 17 |
| 5.8.1.1.1 | Muestras sanguíneas | 17 |
| 5.8.1.1.2 | Análisis bioquímicos | 17 |
| 5.8.1.2 | Evaluaciones nutricionales y médicas | 18 |
| 5.8.2 | Procedimientos de medidas antropométricas | 18 |
| 5.8.2.1 | Índice de masa corporal | 18 |
| 5.8.2.2 | Peso | 18 |
| 5.8.2.3 | Talla | 19 |
| 5.9 | Eventos adversos | 19 |
| 5.10 | Aseguramiento de calidad de los datos | 19 |
| 5.11 | Análisis estadístico | 20 |
| 6. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 21 |
| 7. | CONCLUSIÓN | 28 |
| 8. | LITERATURA CITADA | 29 |
| 9. | APÉNDICES | 33 |
| 9.1 | Carta de Consentimiento Bajo información por escrito | 34 |
| 9.2 | Clasificación de los eventos adversos | 41 |
| 9.3 | La documentación contenida en la Carpeta Regulatoria | 43 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|---------------|---|---------------|
| 2.1. | Medicamentos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para tratamientos de la obesidad | 6 |
| 2.2. | Parámetros farmacocinéticos de la ϵ -polilisina | 10 |

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad metabólica que afecta a la población mundial, específicamente en México, el 70 % de la población mayor de 20 años tiene sobrepeso u obesidad (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, ENSANUT 2006). El exceso de tejido adiposo abdominal tiene consecuencias negativas en la salud, tales como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares (Cheah y Kam, 2005; Li *et al.*, 2005), disminución de la capacidad pulmonar (Crowley *et al.*, 2002; Stein *et al.*, 2005), enfermedades gastrointestinales y cáncer de colon.

En el tratamiento de la obesidad la pérdida de peso corporal entre el 5 y 10 % se asocia con una disminución sustancial del tejido adiposo abdominal ocasionando una mejora en los marcadores metabólicos de riesgo (Cheah y Kam, 2005). La reducción de la ingestión de energía y el aumento de la actividad física, son la forma más efectiva para reducir la grasa corporal y controlar el peso (Kolotkin, 2001; Mullis *et al.*, 2004).

Sin embargo en ocasiones estas terapias no son suficientes y es necesario recurrir a los tratamientos farmacológicos. Actualmente solo existen dos fármacos aprobados para la pérdida de peso por la FDA, la Sibutramina que es un anorexigénico y el Orlistat que actúa a nivel de absorción de las grasas (Mullis *et al.*, 2004; Cheah y Kam, 2005). El mecanismo de acción de este último genera menos eventos adversos (principalmente son de naturaleza gastrointestinal) en comparación con la Sibutramina.

Se han estudiado péptidos y proteínas como agentes antiobesidad, específicamente a los inhibidores no competitivos de la lipasa pancreática tales como la ϵ -polilisina (e-PL) que es producida mediante fermentación aeróbica del *Streptomyces albulus*. La e-PL es una molécula catiónica que interrumpe la formación de la emulsión de las sales biliares con la grasa por la desestabilización de cargas. La e-PL no tiene efectos adversos graves registrados. Estudios recientes en ratas macho Sprague Dawley han demostrado que la e-PL disminuye los triglicéridos y el colesterol total en plasma y puede actuar como un posible agente antiobesidad.

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Obesidad

La obesidad es la enfermedad metabólica con mayor prevalencia en los países desarrollados. Además, se ha incrementado de manera alarmante en los últimos años, a tal grado que se considera un problema de salud pública. En el año 2000 según la OMS (Organización Mundial de la Salud) existían en el mundo cerca de 250 millones de obesos, con predicciones de llegar a 300 millones en el año 2025.

La International Obesity Task Force (IOTF) y la OMS aceptan como criterio para la definición de obesidad, valores del índice de masa corporal (IMC= peso en kg dividido por el cuadrado de la talla en metros) iguales o superiores a 30 y para el sobrepeso de 25 a 29.9 (Galicia y Simal, 2002). En México, la incidencia de este problema es alta, sobre todo en mujeres y niños

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 el 30 % de la población mayor de 20 años tiene obesidad (34.5 % en mujeres y 24.2 % en hombres). La población que sufre de sobrepeso u obesidad afectan a cerca del 70 % de la población mexicana de ambos sexos (71.9 % en mujeres y 66.7 % en hombres). Esto indica que existen alrededor de 30 millones de adultos en México con sobrepeso u obesidad.

La obesidad es una enfermedad crónica con repercusiones negativas para la salud debido principalmente al exceso de grasa en el área abdominal. Existe una asociación clara y directa entre el grado de obesidad y la morbi-mortalidad como lo son con complicaciones cardiovasculares, respiratorias, metabólicas, y articulares; así mismo, aumenta la posibilidad de aparición de algún tipo de malignidad, como el cáncer de mama o el de colon (Shi y Burn, 2004). La obesidad abdominal (visceral) es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 debido a la intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia resultado de la resistencia a la insulina. La circunferencia de la cintura se asocia con la cantidad de tejido adiposo visceral. Pacientes con obesidad abdominal tienden a presentar hipertrigliceridemia con niveles bajos de HDL y concentraciones altas de apolipoproteína B (apo-B), también

muestran signos de inflamación crónica leve y disfunción endotelial; además, existe un estado hipercoagulable e hipofibrinolítico. Estos cambios bioquímicos están asociados con un riesgo sustancialmente mayor al desarrollo de la enfermedad arterial coronaria, enfermedad cardiovascular, hipertensión, aterosclerosis e hipertrofia ventricular izquierda (Cheah y Kam, 2005).

Estos trastornos clínicos contribuyen a afectar de manera significativa la calidad y expectativas de vida del paciente obeso, siendo responsables en gran parte de una fracción muy importante de la inversión en salud pública por parte del gobierno. Actualmente se estima que se emplean alrededor de 30 billones de dólares anuales a nivel mundial en tratamientos para la reducción de peso. La obesidad produce costos sustanciales por hospitalización y por detrimento en la capacidad para trabajar (Borg *et al.*, 2005).

La obesidad incrementa los riesgos de un gran número de enfermedades. Existen diversas causas que aumentan la morbilidad y mortalidad de individuos obesos como son: hipertensión, falla cardíaca, enfermedad isquémica, cardiomiopatía, arritmias cardíacas y dislipidemia. La obesidad es un factor de riesgo independiente para desarrollar enfermedades del corazón (Li *et al.*, 2005).

Por otro lado los pacientes obesos son propensos a neumonía, tromboembolismo pulmonar, enfermedad restrictiva de pulmón, falla respiratoria, apnea de sueño obstructiva y síndrome de hipoventilación. La obesidad mórbida se asocia con una disminución en la capacidad residual funcional y en la capacidad pulmonar total. La capacidad residual funcional decrece exponencialmente con el incremento del IMC (Crowley *et al.*, 2002; Stein *et al.*, 2005).

La colelitiasis, esteatopatitis no alcohólica, hernia de hiato, reflujo gastro-esofágico con esofagitis, carcinoma del esófago (esofageal) y hernia inguinal son más prevalentes en pacientes obesos. Los obesos también están más propensos a sufrir desórdenes genitourinarios incluyendo incontinencia urinaria y cálculos renales, irregularidades en la menstruación, infertilidad primaria ovulatoria, osteoartritis, hiperuricemia, gota, cáncer de colon, de endometrio, de mama (seno), de próstata y cervical (Cheah y Kam, 2005).

Considerando su etiopatología multifactorial (genéticos, biológicos, socioculturales, entre otros) y su carácter crónico se hace necesario un tratamiento eficaz que no sea afectado por dichos factores. Diversos estudios establecen que la obesidad es una enfermedad difícil de tratar. La reducción de la ingestión de energía y el aumento de la actividad física constituyen la forma más efectiva para reducir la grasa corporal y controlar el peso. Sin embargo, estas dos opciones son con frecuencia difíciles de llevar a cabo debido al ambiente que rodea al obeso caracterizado por vida sedentaria y dietas ricas en grasas y carbohidratos (Kolotkin, 2001; Mullis *et al.*, 2004).

Cabe resaltar que la pérdida de peso sostenida entre el 5 y 10 % de peso corporal en obesos se asocia con una disminución sustancial en el tejido adiposo visceral, con una mejora simultánea en todos los marcadores metabólicos de riesgo de enfermedad coronaria y disminución del riesgo de eventos coronarios agudos (Halford, 2005).

Debido a esto, y a la falla de los tratamientos actuales, surge la necesidad de desarrollar nuevos fármacos en el mercado que ayuden a combatir el problema de la obesidad, ya que es una enfermedad que va en aumento tanto en países desarrollados como no desarrollados.

2.2 Fármacos para combatir la obesidad

Las estrategias terapéuticas clásicas para el tratamiento de la obesidad, como son la dieta, la modificación del estilo de vida y la actividad física, son útiles para el mantenimiento de la pérdida de peso. Pero el tratamiento farmacológico produce una pérdida de peso más rápida. En 1995, la Asociación Norteamericana para el estudio de la obesidad (NAASO) estableció que la terapia farmacológica puede considerarse una parte integral de los programas de tratamiento junto con la dieta hipocalórica y el ejercicio físico en individuos obesos con un IMC ≥ 30 kg/m², en los que la dieta, el ejercicio y los cambios conductuales hayan fallado; o en aquellos individuos con un IMC ≥ 27 kg/m² si se asocian factores importantes de morbilidad como diabetes, hipertensión, dislipidemia, etc (Godínez, 2002).

Sin embargo, menos del 25 % de los pacientes potenciales son formalmente diagnosticados como obesos, y menos del 20 % de aquellos que son diagnosticados son tratados con terapias farmacológicas (Farrigan y Pang, 2002), debido en gran medida a que existen pocos medicamentos en el mercado para tratar la obesidad.

Hay dos categorías de fármacos que se emplean para promover la pérdida de peso: los que inhiben el apetito y los que disminuyen la absorción de nutrimentos. Actualmente sólo existen dos fármacos aprobados por la FDA (Cuadro 2.1) para pérdida de peso y son el Orlistat y la Sibutramina (Godínez, 2002; Halford, 2005). El Orlistat es el fármaco más comercial sin embargo presenta efectos adversos de naturaleza gastrointestinal como pérdidas involuntarias vía anal de grasa, diarrea y náuseas (Godínez, 2002).

2.3 Características de la e-PL

La e-PL [(S)-poli(imino(2-amino-1-oxo-1,6-hexanedil))] es un homopolímero de la L-lisina (aminoácido esencial) con un peso molecular aproximado de 4700 Da. Difiere de las proteínas usuales en que el enlace amida no está entre el amino alfa y el carboxilo, típico de enlace peptídico; sino que está entre el amino epsilon y el grupo carboxilo.

La e-PL se produce industrialmente por *Streptomyces albulus* mediante fermentación aeróbica. Esta bacteria es del orden Actinomycetales, pertenece a la familia Streptomicetaceae el cual es clasificado como un microorganismo no patógeno. El único uso comercial de esta bacteria es la producción de e-PL (Yoshida y Nagasawa, 2003).

La e-PL es una molécula catiónica que posee grupos metileno hidrofóbicos y grupos amino y carboxilo hidrofílicos orientados hacia afuera de la molécula en soluciones polares.

Debido a su condición catiónica, la e-PL es un inhibidor de la lipasa pancreática.

Cuadro 2.1. Medicamentos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para tratamientos de la obesidad

| Nombre genérico | Nombre comercial |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| Clorhidrato de Benzfetaminas | Didrex |
| Tartrato de fendimetrazina | Bontril, Plegine, Prelu-2, X-Trozone |
| Fentermina | Ionamin, Adipex-P, Fastin, Oby-trim |
| Clorhidrato de dietil propion | Tenuate, Tenuate Dospan |
| Mazindol | Sanorex, Mazanor |
| Clorhidrato de sibutramina* | Meridia, Ectivia, Reductil |
| Orlistat* | Xenical |

* Aprobados para tratamiento a largo plazo de la obesidad por la FDA entre los años 1996 y 1999; los demás medicamentos fueron aprobados alrededor de 1974, pero no tienen sustento científico de estudios a largo plazo.

Su mecanismo de acción no es a través de una inhibición competitiva (como el caso del Orlistat), ya que no inhibe propiamente a la enzima, sino que interrumpe la formación de la emulsión de las sales biliares con la grasa de la dieta (estudios *in vitro*).

Al no formarse la emulsión, la lipasa pancreática no puede actuar sobre su sustrato (triglicéridos), debido a que la enzima es hidrofílica y los triglicéridos lipofílicos, y que la enzima se activa solamente cuando se encuentra en una interfase aceite/agua. El mecanismo de la catálisis no está aún totalmente esclarecido, sin embargo, en forma general lo que ocurre en primer lugar es la penetración irreversible de la lipasa en la interfase. En ese momento la lipasa puede sufrir desnaturalización irreversible o simplemente un cambio conformacional necesario para que pueda unirse al sustrato para producir un complejo activado y derivar en el producto. La lipasa tiene acceso al sustrato (lípidos) sólo en la superficie de la gota de lípidos formada; por lo tanto, el área superficial del lípidos puede incrementarse por medio de la emulsificación. Los agentes emulsificantes *in vivo* son los fosfolípidos y los ácidos biliares, cuyo principal componente es la fosfatidilcolina (Lobo y Wilton, 1997; Peters *et al.*, 1997; Farrigan y Pang, 2002; Yoshida y Nagasawa, 2003). La e-PL rompe esta emulsión por desestabilización de cargas.

2.4 Farmacología de la e-PL

Estudios *in vitro* han demostrado que la e-PL es un inhibidor no específico de la lipasa pancreática. Mientras que en experimentos *in vivo* en ratas Sprague-Dawley, la e-PL suprime la absorción de grasa de la dieta en el intestino delgado por inhibición de la actividad de la lipasa pancreática (Tsuji *et al.*, 2003) Además, la e-PL disminuye los triglicéridos y el colesterol total en plasma. (Duarte-Vázquez *et al.*, datos no publicados).

La farmacodinámica, farmacocinética (Cuadro 2.2) y los estudios de metabolismo han mostrado que la e-PL y sus metabolitos formados en el tracto gastrointestinal son absorbidos mínimamente en la circulación sistémica.

2.4.1 Absorción

Administrada oralmente, sólo el 6 % de la e-PL se absorbe en el organismo, mientras que el otro 94 % no se absorbe y se excreta directamente en heces dentro de las primeras 48 h. La radiografía de cuerpo completo demuestra que la e-PL y sus metabolitos permanecen principalmente en el estómago y en el tracto intestinal y no se concentran en algún tejido u órgano (Hiraki *et al.*, 2003). Además, estudios realizados en animales, han puesto de manifiesto que el grado de absorción de la e-PL es mínimo.

2.4.2 Eliminación

Los estudios llevados a cabo en animales han demostrado que la principal vía de eliminación de la e-PL es la excreción fecal. Aproximadamente 94 % de la dosis administrada se excreta con las heces. El 6 % restante se excreta por dos rutas: 3.4 % se libera como CO₂ en aire expirado y 2.1 % se elimina por orina.

La seguridad de e-PL fue confirmada por experimentos en ratas (Neda *et al.*, 1999). La e-PL no causó daño en funciones inmunológicas, neurológicas y de reproducción, y tampoco en el desarrollo del embrión y del feto en dos generaciones.

2.5 Toxicología

En Estados Unidos de América la e-PL se ha aprobado como aditivo en los alimentos por la FDA (Food and Drug Administration) y cuenta con el título GRAS # 135 (generalmente reconocida como segura) por ser una molécula inocua. Diversos estudios crónicos y subcrónicos en ratas se han realizado para evaluar la toxicidad empleando concentraciones de hasta 20 000 y 50 000 ppm. Aún a estas concentraciones ningún estudio mostró algún efecto adverso toxicológicamente significativo sobre la e-PL (Fukutome *et al.*, 1995).

La inocuidad de la e-PL se ha determinado mediante una serie de investigaciones referentes a su absorción, metabolismo, distribución y excreción. A este respecto, varias explicaciones posibles existen, como son la digestión completa a aminoácidos en el tracto gastrointestinal, o la absorción insignificante en el sistema circulatorio, o una combinación de digestión parcial y absorción de e-PL y sus metabolitos.

Hiraki y colaboradores (2003) realizaron experimentos de toxicidad aguda, encontrando que la administración oral de 1.25 y 2.5 g/kg de e-PL por kg de peso corporal a ratas Sprague-Dawley durante 14 días, no mostró signos de toxicidad. Cuando la dosis aumentó a 5 g/kg se observó una depresión mínima en la actividad espontánea 5 minutos después de administrar la dosis, pero los animales regresaron a su actividad normal dentro de las 3-6 h subsiguientes. No se observaron anomalías de órganos ni el crecimiento anormal de las ratas a ninguna de las dosis empleadas. Asimismo, se realizaron experimentos de mutagenicidad en los cuales se demostró que la e-PL no es mutagénica. Dado lo anterior, hay evidencia que demuestra que la e-PL es prácticamente no tóxica por exposición oral hasta dosis de 5 g/kg.

No hay reportes de eventos adversos en la literatura asociados con el uso de e-PL. El NOAEL (nivel sin efecto adverso observado) de e-PL a partir de un estudio crónico en ratas macho es 1060 mg/kg.

La seguridad de la e-PL se confirmó por experimentos en ratas (Neda *et al.*, 1999). La e-PL no causó daño en funciones inmunológicas, neurológicas y de reproducción, y tampoco en el desarrollo del embrión y del feto en dos generaciones.

2.6 Eficacia de la e-PL

Existen estudios donde se ha evaluado la acción de otras moléculas que influyan en la reacción de las lipasas como son la protamina, el orlistat, algunas saponinas (Han, 2001) ó combinaciones entre carbohidratos tales como quitin-quitosan (Neda *et al.*, 1999). Tsujita y colaboradores (2006) realizaron otro experimento con ratones obesos y los resultados mostraron la

efectividad de la e-PL como un agente antiobesidad, ya que se observó una disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos, el tejido adiposo corporal hepático, retroperitoneal y epididimal; así como en la cantidad de lípidos fecales.

Cuadro 2.2. Parámetros farmacocinéticas de la ϵ -polilisina

| Parámetro | Sangre | Plasma |
|--|-------------------|--------------------|
| t_{\max} (h) | 7.3 ± 1.2 | 8.0 ± 0.0 |
| C_{\max} ($\mu\text{g eq/mL}$) | 3.158 ± 0.889 | 5.134 ± 1.1240 |
| $t_{1/2}$ (72-168 h) | 20 ± 6 | 3.9 ± 0.4 |
| AUC (0-168 h) | 339 ± 79 | 330 ± 78 |
| ($\mu\text{g eq h/mL}$) (0- ∞) | 1470 ± 270 | 453 ± 87 |

El t_{\max} en sangre fue de 7.3 h y en plasma de 8.0 h lo que sugiere una absorción lenta. Las concentraciones C_{\max} para sangre y plasma fueron 3.158 y 5.134 $\mu\text{g eq } \epsilon$ -polilisina/mL respectivamente, lo cual ocurrió a las 6-8 h después de administrada la dosis. La vida media para la eliminación de sangre y plasma al término de un periodo de 72-168 h se prolongó a 20 y 3.9 días, respectivamente, lo cual refleja la incorporación de L-lisina a proteína.

3. JUSTIFICACIÓN

La obesidad es una de las enfermedades que inciden con mayor impacto sobre la salud pública. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud 2006 (ENSANUT 2006), el 70 % de la población mexicana mayor de 20 años presenta sobrepeso u obesidad. Las terapias farmacológicas actuales muestran una eficacia del 5 al 10 %, además los sujetos tratados con estas terapias presentan efectos adversos indeseados, como taquicardias con la Sibutramina y pérdidas involuntarias de grasa con el Orlistat. En el presente trabajo se evaluará la tolerabilidad de la e-PL a dosis farmacológicas como un posible tratamiento de la obesidad. Para de esta manera combatir éste grave problema de salud, con mayor eficacia y menos problemas de eventos adversos.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar la tolerabilidad de la e-PL en sujetos sanos

4.2 Particulares

- Determinar la tolerabilidad de la e-PL en dosis farmacológicas administradas oralmente.
- Identificar eventos adversos de la e-PL después de administrarla como tratamiento farmacológico.
- Establecer un rango de dosis seguro de la e-PL como tratamiento farmacológico.

5. METODOLOGÍA

5.1 Diseño del estudio

Se llevó a cabo un ensayo clínico controlado Fase I, ciego simple, con asignación aleatoria, en cinco grupos paralelos de sujetos sanos.

5.2 Población del estudio

El universo de trabajo se definió como la población de personas Mexicanas, con una edad entre 18 y 40 años, de ambos géneros, sanos, con un IMC 20-25 kg/m².

5.3 Tamaño de la muestra

El tamaño de muestra fue de 20 individuos que cumplieron con los criterios de selección, este número se eligió debido a que en los estudios clínicos fase I se recomiendan muestras de 8-100 sujetos (Bake *et al.*, 1994), además la e-PL es una molécula reconocida por la FDA como segura puesto que ésta cuenta con el título GRAS (Sustancia Generalmente Reconocida como Segura) # 135; así la muestra no fue seleccionada de manera estadística sino de acuerdo a la fase del estudio y la seguridad conocida de la e-PL.

5.4 Tratamientos experimentales

| Dosis e-PL | Código de tratamiento | # Cápsulas por dosis* |
|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Placebo "Maltodextrina" | RVT | 1 |
| 45 | NZG | 1 |
| 150 | KWQ | 1 |
| 300 | CBU | 2 |
| 450 | YLJ | 3 |

* Las cápsulas fueron de gelatina blanda # 1

5.4.1 Asignación de los tratamientos

A cada uno de los sujetos participantes se les asignó mediante una tabla de números aleatorios el tipo de tratamiento y se formaron cinco grupos aleatorizados de 4 sujetos cada uno. El sujeto tomó el tratamiento asignado tres veces al día después del desayuno, la comida y la cena. El tratamiento asignado a cada sujeto se administró en un lapso de 12 semanas o se interrumpió si se observaron eventos adversos intolerables; además se les dio un seguimiento 15 días después de la finalización del tratamiento.

Las características adicionales con respecto al tratamiento, para cada uno de los grupos de trabajo fueron: a) no fue posible el intercambio de los participantes a un grupo diferente al que de forma inicial fue asignado; b) la asignación a uno u otro grupo fue por azar simple y; c) la pertenencia a uno u otro grupo fue cegada a los participantes.

5.5 Criterios de Inclusión

- 5.5.1 Sujetos mexicanos con edad de 18 a 40 años.
- 5.5.2 Firma del sujeto de la carta consentimiento bajo información por escrito (Apéndice 1).
- 5.5.3 Sujetos con IMC 20-25 kg/m²
- 5.5.4 Exploración física normal.
- 5.5.5 El sujeto permaneció en su residencia actual el tiempo que duró el estudio.
- 5.5.6 Análisis (hematología, bioquímica y orina) sin anormalidad significativa.
- 5.5.7 Electrocardiograma sin anormalidad significativa.

5.6 Criterios de Exclusión

- 5.6.1 Antecedentes de enfermedad (colitis, gastritis, úlceras previamente diagnosticadas, anorexia, bulimia, en resumen todas aquellas enfermedades que afecten la vía gastrointestinal y/o el apetito).

- 5.6.2 Antecedentes de alergias a medicamentos.
- 5.6.3 Antecedentes de reacciones adversas a fármacos similares a la e-PL.
- 5.6.4 Fumar durante el periodo del estudio.
- 5.6.5 Antecedentes de abuso de drogas, sustancias, incluido el alcohol, dentro de los 3 meses anteriores al inicio del estudio
- 5.6.6 Participación en otro ensayo clínico en los tres meses previos.
- 5.6.7 Dificultad para colaborar en el estudio clínico.
- 5.6.8 Personas con recientes cambios en peso.
- 5.6.9 Mujeres en estado de embarazo o lactancia
- 5.6.10 Imposibilidad de garantizar el no embarazarse durante la duración del estudio
- 5.6.11 Mujeres pre-menopáusicas o menopáusicas
- 5.6.12 Personas que hayan recibido tratamiento farmacológico para obesidad en los 6 meses previos.
- 5.6.13 Consumo de medicamentos concomitantes durante el estudio que pudieran causar alguna interacción con la e-PL.

5.7 Evaluación de la seguridad del nuevo fármaco

Se realizaron los estudios correspondientes siguiendo los lineamientos internacionales para la realización de estudios clínicos (Code of Federal Regulations and ICH Guidelines, U:S federal register, 2002) y los lineamientos de la Secretaría de Salud en México.

En este estudio se evaluó la tolerabilidad y la seguridad de la e-PL (fase I). Se contempló estudiar cuatro dosis de e-PL. Las dosis propuestas fueron determinadas mediante los estudios *in vitro* y las evaluaciones *in vivo* en los animales de experimentación.

5.8 Procedimientos

Se realizó un **manual de procedimientos** donde se registró detalladamente la logística del estudio de acuerdo a las visitas que se mencionan a continuación:

Visita

Pre y Escrutinio

Asignación al azar (Semana 0)

Seguimiento (Semana 1)

Seguimiento (Semana 2)

Seguimiento (Semana 3)

Seguimiento (Semana 4)

Seguimiento (Semana 8)

Cierre o Final (Semana 12)

Post-tratamiento (Semana 14)

Este documento junto con los formatos de recolección de datos, la documentación regulatoria, etc., se guardó en la *Carpeta Regulatoria del estudio* la cual contiene la información indicada en el Apéndice 3.

Durante el periodo de escrutinio, los voluntarios se sometieron a una evaluación médica que incluyó: historia clínica, examen físico, pruebas sanguíneas y electrocardiograma. El personal que realizó estos procedimientos fueron: un Médico General y un Gastroenterólogo para la parte médica y, un Químico Farmacéutico Biólogo para la toma de muestras sanguíneas y análisis bioquímico de las mismas.

Los sujetos que se eligieron se asignaron aleatoriamente a alguno de los cinco grupos experimentales mencionados en el punto **5.4**.

5.8.1 Procedimientos clínicos

5.8.1.1 Procedimientos de laboratorio

En las etapas de escrutinio y finalización del tratamiento se les realizó a los sujetos un electrocardiograma y se les tomó por la mañana una muestra de sangre venosa en ayuno de 12 horas para realizar las pruebas siguientes: albúmina, creatinina, bioquímica del hígado Aspartato Amino Transferasa (AST) y Alantato Amino Tansferasa (ALT), triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, glucosa y biometría hemática completa. Además los análisis de glucosa, triglicéridos, colesterol y HDL también se realizaron en las semanas 4 y 8.

Al inicio del estudio, mensualmente y al final de mismo, se les realizaron pruebas rápidas en orina para la determinación de Hormona Gonadotropina Coriónica (HGC); además se les pidió a todos los participantes otra muestra de orina para realizarles un análisis general de orina.

5.8.1.1.1 Muestras sanguíneas

Las muestras sanguíneas se colectaron en tubos con EDTA o gel inerte Vacutainer® y centrifugadas a 3500 *g* por 15 min a 4 °C en una centrifuga refrigerada marca Eppendor para obtener el plasma o suero correspondiente.

5.8.1.1.2 Análisis bioquímicos

Se utilizaron Kits (Sera Pack Plus, marca Bayer) para determinar la concentración de triglicéridos, colesterol total, HDL-c, LDL-c, AST, ALT, creatinina y albúmina en suero, y se analizaron en un equipo RA-50 marca Bayer. La biometría hemática se determinó en un Analizador químico Cell-Dyn 1400. El análisis general de orina se llevo a cabo mediante tiras reactivas Multistix 108G (marca Bayer) y la detección de la hormona gonadotropina coriónica (HGC) se realizó utilizando tiras BIO-PREG (marca Mexlab).

5.8.1.2 Evaluaciones nutricionales y médicas

Las evaluaciones nutricionales que el Nutriólogo realizó en cada visita incluyeron peso, talla y análisis de dieta mediante el recordatorio de 24 h los cuales se analizaron en el programa NUTRIKAL V®.

Los sujetos una vez aleatorizados y sin importar a que grupo pertenecían, se presentaron en el consultorio a la semana 0, 1, 2, 3, 4, 8, 12 y 14 en donde el médico realizó los siguientes procedimientos: recolección de los datos de eventos adversos (mediante la entrevista medica y con la ayuda de un diario donde el sujeto registró los eventos adversos que presentó), mediciones de las constantes vitales: presión arterial diastólica y sistólica, frecuencia respiratoria y frecuencia cardiaca.

Además el coordinador del estudio se comunicó vía telefónica con los sujetos participantes cada tercer día durante los primeros 15 días de tratamiento, para preguntarles su estado de salud y apego al tratamiento.

5.8.2 Procedimientos de medidas antropométricas

5.8.2.1 Índice de Masa Corporal

El IMC es el criterio diagnóstico que se obtiene dividiendo el peso en kilogramos entre la talla en metros elevada al cuadrado (peso en kg/talla en m^2); de los datos arrojados por este criterio se determina el grado de sobrepeso u obesidad de un sujeto.

5.8.2.2 Peso

La báscula debía estar calibrada y encontrarse en una superficie plana, horizontal y firme. El sujeto debió acudir a la medición con un mínimo de ropa después de haber evacuado la vejiga y se evitó pesarlos después de una comida principal (preferentemente en ayuno).

El sujeto se colocó al centro de la plataforma de la báscula, Antes de tomar la lectura, se revisó que el participante se encontrara en posición erguida y en plano de Frankfort (plano imaginario que pasa por el suelo de la órbita y el

margen superior del orificio auditivo externo). Los brazos debieron colgar libremente a los lados del cuerpo y se evitó realizar movimientos. Los talones de los pies debieron estar juntos con las puntas de los pies ligeramente abiertas. Se procedió a tomar la lectura.

5.8.2.3 Talla

La medición se realizó por medio de un estadímetro. El sujeto estuvo de pie, sin zapatos, sin moños y/o adornos en la cabeza que afectaron la medición. El sujeto estuvo en posición de firmes, los talones estuvieron unidos formando entre sí un ángulo de 45 °. Los brazos colgaron libre y naturalmente a lo largo del cuerpo y la cabeza se mantuvo de manera que el plano de Frankfort se conservara horizontal. Se le pidió al sujeto que realizara una inspiración profunda para obtener la extensión máxima de la columna. Los ojos del nutriólogo que midió estuvieron por lo menos a la misma altura del sitio donde el estadímetro hizo contacto con la cabeza. Se tomó lectura.

5.9 Eventos Adversos

Los eventos adversos fueron atendidos por el médico gastroenterólogo encargado del estudio. Éstos fueron clasificados de acuerdo a la guía de farmacovigilancia para el reporte de los eventos adversos en investigación clínica (2005).

5.10 Aseguramiento de calidad de los datos

Los datos fueron vaciados por 2 personas diferentes, para asegurar la calidad de los datos se establecieron lineamientos a seguir para el llenado de los mismos, los cuales se describen en el manual de procedimientos.

5.11 Análisis Estadístico

La proporción de eventos adversos en cada uno de los tratamientos se consideró como un 100 % el total de eventos presentados por tratamiento en las 12 semanas y así poder conocer que evento adverso se presentó en mayor proporción en cada uno de los tratamientos.

Se determinó la correlación entre el tiempo y la aparición de eventos adversos (estos últimos clasificados por trastorno) de los tratamientos comparados con el placebo y se realizó una ANOVA (Prueba de Tuckey HSD con una $P < 0.05$).

En el análisis del método de Kaplan-Meier se utilizó un paquete estadístico SPSS versión 9 y se determinó si existía relación entre el tiempo del tratamiento de estudio y la ocurrencia de eventos adversos. El método de Kaplan Meier es un análisis de supervivencia que nos permitió conocer la tolerabilidad de los participantes al tomar e-PL a dosis farmacológicas.

Por último, para identificar cambios significativos en las variables del perfil de bioseguridad al inicio y al final del estudio se utilizó un análisis de ANOVA (Prueba de Tuckey HSD con una $P < 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estrategias terapéuticas clásicas del tratamiento de la obesidad, como son la dieta y la actividad física son útiles para la pérdida de peso corporal. A pesar de esto, el tratamiento farmacológico produce una pérdida más rápida (Mullis *et al.*, 2004), especialmente en aquellos sujetos en que la dieta y el ejercicio no son efectivos. Hay dos categorías de fármacos aprobadas por la FDA para el tratamiento de la obesidad la Sibutramina y el Orlistat; sin embargo los eventos adversos que éstos presentan son graves e incómodos para el sujeto que los toma. Estos efectos, van desde taquicardias en el caso de la Sibutramina hasta pérdidas involuntarias de grasa, como es el caso del Orlistat (Cheah y Kam, 2005; Mullis *et al.*, 2004), este último tiene un efecto inhibidor de la lipasa pancreática al igual que la e-PL.

En la Tabla 1 se muestra la proporción de eventos adversos presentados por los sujetos en cada uno de los tratamientos durante las 12 semanas de evaluación. Se diagnosticaron 23 tipos diferentes de eventos entre los que se encontraron dolores de cabeza, boca reseca, etc. Los principales eventos presentados fueron de naturaleza gastrointestinal incluso en el grupo placebo, siendo inflamación estomacal el evento adverso más común; heces blandas se presentaron en un 22 y 28 % para las dosis de e-PL de 150 y 300 mg, respectivamente y náuseas en un 24 % para la dosis más alta (450 mg e-PL). Las heces blandas fue el evento más esperado debido a la naturaleza de acción de la e-PL; además la ingestión de grasa entre los sujetos de estudio no tuvo diferencias estadísticamente significativas ya que se encontraron en porcentajes promedio de 31.5 ± 8 , 31.7 ± 7 , 34.5 ± 3 , 31.6 ± 4 y 29.1 ± 7 para las dosis de 0, 45, 150, 300 y 450 mg de e-PL, respectivamente.

Debido a que se presentaron 23 diferentes tipos de eventos adversos, se realizó una clasificación de éstos para posteriormente comparar las diferentes dosis de e-PL con el placebo mediante una ANOVA (Prueba de Tuckey), de acuerdo a los resultados se observa que no hubo diferencias

estadísticamente significativas en la presencia de trastornos de las diferentes dosis de e-PL al compararlas con el placebo (Tabla 2).

De acuerdo a los criterios del sistema Nacional de Farmacovigilancia los eventos adversos que se presentaron en el estudio se clasificaron como “Leves”. Estos resultados pueden deberse a que las dosis administradas se encontraban por debajo del NOAEL (nivel sin efecto adverso observado) cuyo valor en ratas macho Sprague Dawley es de 1060 mg/kg (Hiraki *et al.*, 2003). Si se supone que para una persona de 70 kg, la máxima dosis de e-PL que se le podría administrar sin esperar observar eventos adversos es de 74.2 g las dosis utilizadas en este estudio se encuentran en un rango menor; esto debido a los resultados que obtuvimos en la experimentación preclínica.

En cada una de las pruebas estadísticas realizadas de Log Rank, Breslow y Tarone-Ware, los resultados obtenidos del análisis de supervivencia de Kaplan Meier demostraron que no existe diferencia significativa en la aparición de eventos adversos con respecto al tiempo y a cada tratamiento; en la Tabla 3, se muestran las significancias derivadas de estos análisis y cuyos valores son mayores de 0.05. Por lo tanto, la falta de relación alguna entre la aparición de estos eventos a lo largo del tiempo con respecto a cada tratamiento sugiere que la e-PL es tolerable a las dosis de 45, 150, 300 y 450 mg. Por otro lado, se sabe que un gran número de fármacos causan eventos adversos hasta después de un largo periodo de administración, efecto tal solo se detecta en los estudios clínicos de eficacia. Un ejemplo de estos fármacos, es el Orlistat, Rivera *et al.*, 2007 continuaron monitoreando la seguridad de éste fármaco en un estudio fase II.

Tabla 1. Proporción (%) de eventos adversos presentados por los sujetos de acuerdo al tratamiento durante las 12 semanas de evaluación.

| | % de eventos adversos con los diferentes tratamientos | | | | |
|-----------------|---|------------|-------------|-------------|-------------|
| | Placebo | 45 mg e-PL | 150 mg e-PL | 300 mg e-PL | 450 mg e-PL |
| Estre | 0 | 5 | 22 | 0 | 12 |
| Naus | 0 | 10 | 0 | 10 | 24 |
| Dolor E. | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| Dia | 0 | 5 | 0 | 10 | 0 |
| PdA | 0 | 10 | 0 | 7 | 0 |
| SdH | 9 | 0 | 0 | 7 | 0 |
| HB | 14 | 0 | 22 | 28 | 12 |
| IED | 5 | 20 | 22 | 7 | 12 |
| DdC | 18 | 10 | 0 | 0 | 6 |
| SdA | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Agru | 5 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| SRGC | 9 | 0 | 0 | 0 | 18 |
| Gas | 0 | 0 | 22 | 7 | 12 |
| SSP | 0 | 5 | 11 | 7 | 0 |
| Temp | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| DdCu | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| MCE | 14 | 10 | 0 | 3 | 0 |
| Mar | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| AG | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| UIB | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Erup | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BR | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| Vom | 0 | 5 | 0 | 0 | 6 |

Estre-estreñimiento, *Naus*-nausea, *Dolor E.*-dolor estomacal, *Dia*-diarrea, *PdA*-pérdida del apetito, *SdH*-sensación de hambre, *HB*-heces blandas, *IED*-inflamación estomacal/dolor, *DdC*-dolor de cabeza, *SdA*-sensación de atragantamiento, *Agru*-agruras, *SRGC*- Sensación de retorcijones o gorgoritos/ Cólicos, *Gas*-gases, *SSP*-sensación de pesadez, *Temp*-temperatura, *DdCu*-dolor de cuerpo, *MCE*-mayor cantidad de evacuaciones, *Mar*-mareos, *AG*-ardor de garganta, *UIB*- urgencia de ir al Baño, *Erup*-eructos, *BR*- boca reseca, *Vóm*-vómitos

Tabla 2. Promedio de eventos de acuerdo con el tipo de trastorno, presentados por los sujetos en cada tratamiento.

| | Promedio de Eventos | | | |
|----------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | TG¹ | TE² | TGS³ | SG⁴ |
| Placebo ⁰ | 2.50 ± 2.1 | 2.50 ± 2.6 | 0.50 ± 0.8 | 1.83 ± 1.2 |
| 45 mg e-PL | 1.25 ± 1.5 | 0.75 ± 0.9 | 0.00 ± 0.0 | 0.00 ± 0.0 |
| 150 mg e-PL | 3.00 ± 2.2 | 1.00 ± 0.8 | 0.00 ± 0.0 | 0.25 ± 0.5 |
| 300 mg e-PL | 3.00 ± 2.5 | 2.75 ± 2.2 | 0.50 ± 0.6 | 0.50 ± 1.0 |
| 450 mg e-PL | 0.67 ± 0.6 | 0.67 ± 1.2 | 0.67 ± 1.2 | 0.33 ± 0.6 |

⁰ Placebo: maltodextrina

¹ Trastornos gastrointestinales: náuseas, vómitos, dolor abdominal, pérdida del apetito, sensación del hambre, inflamación abdominal, cólicos, gases, sensación de saciedad o pesadez estomacal, eructos.

² Trastornos de evacuaciones: heces blandas, diarrea, urgencia para evacuar, mayor cantidad de evacuaciones a lo normal, estreñimiento.

³ Trastorno de tracto digestivo superior: boca seca, sensación de atragantamiento, agruras, ardor de la garganta.

⁴ Síntomas generales: cefalea, hipertermia, dolor de cuerpo, mareos.

No hubo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) al comparar las diferentes dosis de e-PL con el placebo.

Tabla 3. Análisis de supervivencia (presencia de eventos adversos) de *Kaplan Meier* con respecto al tiempo para cada uno de los tratamientos.

| Prueba estadística / Significancias | | | |
|--|-----------------|----------------|--------------------|
| | Log Rank | Breslow | Tarone-Ware |
| Placebo | 0.7327 | 0.5517 | 0.6265 |
| 45 mg e-PL | 0.1672 | 0.1745 | 0.1702 |
| 150 mg e-PL | 0.1011 | 0.1182 | 0.1087 |
| 300 mg e-PL | 0.1434 | 0.2446 | 0.1934 |
| 450 mg e-PL | 0.8370 | 0.8430 | 0.8460 |

En la tabla se presentan las significancias estadísticas para las pruebas de Long Rank, Breslow y Tarone-Ware propias del método de Kaplan Meier donde se analiza la presencia de eventos adversos con respecto al tiempo para cada tratamiento. Debido a que los valores derivados de estas pruebas son mayores a 0.05 ($P > 0.05$), se comprueba que no existe diferencia estadísticamente significativa en la aparición de eventos adversos es decir que tuvo la misma tolerabilidad en humanos el placebo (maltodextrina) que las dosis de e-PL.

Por otra parte, la bioseguridad de la e-PL medida a través de los diferentes parámetros plasmáticos del paciente no presentaron modificaciones a lo largo del estudio, ya que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los valores basales y finales en los indicadores de función hepática (AST y ALT), renal (Creatinina) o metabólicos (Glucosa), (Tabla 4) por lo que se también comprueba la “Seguridad” de la e-PL en humanos al ser utilizada en dosis farmacológicas. Otras variables estudiadas que garantizan la bioseguridad del paciente fueron los análisis de biometría hemática completa y examen general de orina, estas variables tampoco se vieron alteradas en el tiempo de estudio (datos no mostrados).

Estos resultados pueden atribuirse a que la e-PL tiene su acción en el intestino y solo se absorbe el 6 % de esta molécula (Hiraki *et al.*, 2003), el cual es degradado por la acción de las proteasas para liberar L-lisina y metabolizarse como un aminoácido. La e-PL es un fuerte candidato como fármaco para la pérdida de peso por dos causas principales, primero porque en estudios realizados por el grupo de trabajo se observó una disminución en la cantidad de tejido adiposo de ratas macho Sprague Dawley que disminuye la cantidad de tejido adiposo después de 39 días de tratamiento con dosis de 50, 150 y 350 mg/kg de e-PL las cuales ejercieron una disminución en la ganancia de peso corporal de 45, 43 y 50 % respectivamente, respecto al control. Además para el caso de acumulación de grasa abdominal, está fue 53 % menor a la dosis de 350 mg/kg, con respecto al control y segundo, el origen proteico de la e-PL favorece tanto la pérdida de peso en sujetos obesos como disminuye la pérdida de nitrógeno ureico (Bistran *et al.*, 1977). Esto también se ha demostrado en aminoácidos, tal es el caso de la leucina en donde se observó una disminución en el incremento de tejido adiposo y un aumento de la masa magra además de mantener un control glicémico en sujetos obesos (Layman y Walter, 2006).

Tabla 4. Evaluación del perfil de bioseguridad

| Tratamiento | Tiempo | HB | GLU | AST | ALT | ALB | CREA |
|--------------------|--------|----------|-----------|----------|-----------|------------|------------|
| Placebo | Basal | 16 ± 2.3 | 86 ± 3.0 | 19 ± 2.7 | 16 ± 6.9 | 4.80 ± 0.3 | 1.17 ± 0.2 |
| | Final | 15 ± 0.7 | 81 ± 4.7 | 19 ± 2.8 | 17 ± 2.7 | 4.78 ± 0.4 | 0.95 ± 0.2 |
| 45 mg e-PL | Basal | 15 ± 0.4 | 82 ± 15.7 | 18 ± 2.7 | 13 ± 3.2 | 5.07 ± 0.1 | 0.93 ± 0.1 |
| | Final | 16 ± 1.0 | 79 ± 3.7 | 14 ± 6.1 | 14 ± 2.5 | 4.93 ± 0.1 | 0.98 ± 0.1 |
| 150 mg e-PL | Basal | 15 ± 3.6 | 94 ± 15.1 | 17 ± 6.6 | 20 ± 10.0 | 5.63 ± 0.5 | 1.11 ± 0.2 |
| | Final | 15 ± 2.1 | 80 ± 7.8 | 20 ± 5.7 | 34 ± 23.3 | 5.05 ± 0.1 | 1.05 ± 0.4 |
| 300 mg e-PL | Basal | 15 ± 1.3 | 86 ± 8.5 | 19 ± 3.6 | 15 ± 1.7 | 5.17 ± 0.3 | 1.07 ± 0.1 |
| | Final | 14 ± 0.4 | 81 ± 2.5 | 17 ± 2.5 | 24 ± 1.2 | 4.77 ± 0.2 | 1.00 ± 0.0 |
| 450 mg e-PL | Basal | 15 ± 1.0 | 82 ± 7.2 | 26 ± 7.0 | 23 ± 11.0 | 5.03 ± 0.4 | 0.90 ± 0.0 |
| | Final | 15 ± 0.3 | 86 ± 7.8 | 19 ± 2.1 | 22 ± 17.7 | 5.10 ± 0.3 | 0.95 ± 0.2 |

HB: Hemoglobina, GLU: Glucosa, AST: Aspartato Amino Transferasa, ALT: Alantato Amino Transferasa, ALB: Albúmina y CREA: Creatinina.

No existen diferencias significativas entre los valores iniciales y finales para cada variable entre los tratamientos (P<0.05, análisis de ANOVA)

7. CONCLUSIÓN

La e-PL es tolerable a las dosis analizadas en el tiempo de 12 semanas en sujetos sanos no obesos. Aunado a esto se encuentra el hecho de que no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al tiempo en el perfil de bioseguridad (Hemoglobina, Glucosa, ASL, ALT, Albúmina y Creatinina) y por lo tanto se tiene la suficiente información científica para iniciar el estudio de eficacia en sujetos obesos (Fase II).

8. BIBLIOGRAFIA

- Bakke, O.M., Carné, X., García-Alonso, F. Investigación y desarrollo de nuevos fármacos. En: Bakke, O.M., Carné, X., García-Alonso, F (ed). Ensayos clínicos con medicamentos. Mosby/Doyma Libros, Madrid. 1994: 45-55.
- Bistrian, DR., Winterer, J., Blackburn, GL., Young, V and Sherman, M. 1977. Effect of a protein sparing diet and brief fast on nitrogen metabolism in mildly obese subjects. *J Lab Clin Med.* **89**:1030-1035
- Borg, S., Persson, U., Ödegaard, K., Berglund, G., Nilsson, J. y Nilsson, P.M. 2005. Obesity, survival, and hospital costs-findings from a screening project in Sweden. *Value in Health.* **8**:562-571.
- Carriere, F., Renou, C., Ransac, S., López V., De Caro, J., Ferrato, F., De Caro, A., Fleury, A., Sanwald-Ducray, P., Lengsfeld, H., Beglinger, C., Hadvary, P., Verger, R and Laugier, R. 2001. Inhibition of gastrointestinal lipolysis by Orlistat during digestion of meals in healthy volunteers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* **281**:G16-G28
- Cheah, M. H. y Kam, C. A. 2005. Obesity: basic science and medical aspects relevant to anaesthetists. *Anaesthesia.* **60**:1009-1021.
- Crowley, V., Giles, Y. y O'Rahilly, S. 2002. Obesity therapy: altering the energy intake and expenditure balance sheet. *Nature Reviews. Drug Discovery.* **1**:276-286.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, México. 2006
- Farrigan, Ch. y Pang, K. 2002. Obesity market overview. *Nature reviews, drug discovery.* **1**:257-258.

- Fukutome, A., Kashima, M., Shirai, M. & Siuchi, M. 1995. A combined chronic toxicity and carcinogenicity study of ϵ -polylysine in the rat. *Clin. Rep.* **29**:66-84.
- Galicia, M. I. y Simal, A. A. 2002. Tratamiento farmacológico de la obesidad. *Inf. Ter. Sist. Nac. Salud.* **26**:117-127.
- Godínez, S. 2002. Tratamiento farmacológico de la obesidad. *Nutrición Clínica.* **5**:250-257.
- Halford, J. 2005. Pharmacotherapy for obesity. *Appetite.* 1-5
- Han, L-K., Kimura, Y., Kawashima, T., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, N. and Okuda, H. 2001. Anti-obesity effects of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obes.* **25**:1459-1464
- Han, L-K., Kimura, Y and Okuda, H. 1999. Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int. J. Obes.* **23**:174-179
- Hiraki, J., Ichikawa, T., Ninomiya, S., Seki, H., Uohama, K., Seki, H., Kimura, S., Yanagimoto, Y. y Barnett, J. 2003. Use of ADME studies to confirm the safety of ϵ -polylysine as a preservative in food. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* **37**:328-340.
- Kido, Y., Hiramoto, S., Murao, M., Horio, Y., Miyazaki, T., Kodama, T. y Nakabou, Y. 2003. ϵ -polylysine inhibits pancreatic lipase activity and suppresses postprandial hypertriacylglyceridemia in rats. *J. Nutr.* **133**:1887-1891.
- Kolotkin, R. L. 2001. Quality of life and obesity. *Obesity Reviews.* **2**: 219.

- Layman, D.K. and Walker, D.A. 2006. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J Nutr.* **136**:319s-323s
- Li, Z., Maglione, M., Tu, W., Mojica, W., Arterburn, D., Shugarman, L., Hilton, L., Suttorp, M., Solomon, V., Shekelle, P. y Morton, S. 2005. Meta-analysis: pharmacologic treatment of obesity. *Ann. Intern. Med.* **142**:532-546.
- Lobo, L. y Wilton, D. 1997. Effect of lipid composition on lipoprotein lipase activity measured by a continuous fluorescence assay: effect of cholesterol supports an interfacial surface penetration model. *Biochem J.* **321**:829-835.
- Mullis, R., Blair, S., Aronne, L., Bier, D., Denke, M., Dietz, W., Donato, K., Drewnowski, A., French, S., Howard, B., Robinson, T., Swinburn, B. y Wechsler, H. 2004. Prevention Conference VII. Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke group IV: prevention/treatment. *Circulation.* **110**:e484-e488.
- Neda, K., Sakurai, T., Takahashi, M., Aiuchi, M., Ohgushi, M. 1999. Two generation reproduction study with teratology test of epsilon-poly-L-lysine by dietary administration in rats. *Jpn. Pharmacol. Ther.* **27**:1139-1159.
- Olaiz, G., Rojas, R., Barquera, S., Shamah, T., Aguilar, C., Cravioto, P., López, P., Hernández, M., Tapia, R., Sepúlveda, J. *Encuesta Nacional de Salud 2000*. Tomo **2**. La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos, México. Instituto Nacional de Salud Pública, 2003.

- Peters, G., Aalten, D., Svendsen, A. y Bywater, R. 1997. Essential dynamics of lipase binding sites: the effect of inhibitors of different chain length. *Protein Engineering*. **10**:149-158.
- Report of a World Health Organization Consultation. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization Technical Report Series, No. 894.
- Rivera, G., Bocanegra, A., Acosta RII., De la Garza, M. y Flores, G. 2007. Tratamiento de la Obesidad; nuevas perspectivas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **38**: 48-56
- Schwizer, W., Asal, K., Kreiss, C., Mettraux, C., Borovicka, J., Remy, B., Guzelhan, C., Hartmann, D. y Fried, M. 1997. Role of lipase in the regulation of upper gastrointestinal function in humans. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. **273**:G612 -G620.
- Shi, Y. y Burn, P. 2004. Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. *Nature Reviews. Drug Discovery*. **3**:695-710.
- Stein, P., Beemath, A. y Olson, R. 2005. Obesity as a risk factor in a venous thromboembolism. *The American Journal of Medicine*. **118**:978-980.
- Tsujita, T., Sumiyoshi, M., Takaky, T., Momsen, W.E., Lowe, M.E and Brockman, H.L. 2003. Inhibition of lipases by ϵ -polylysine. *Journal of Lipid Research*. **44**:2278-2286
- Tsujita, T., Takaichi, H., Takaku, T., Aoyama, S and Hiraki, J. 2006. Antiobesity action of ϵ -polylysine, a potent inhibitor of pancreatic lipase. *Journal of Lipid Research*. **47**:1852-1858

Yoshida, T. y Nagasawa, T. 2003. ϵ -Poly-L-lysine: microbial production, biodegradation and application potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **62**:21-26.

9. APENDICES

Apéndice 9.1 Carta de Consentimiento Bajo información por escrito

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

A usted se le ha invitado a participar en el proyecto titulado “ *Evaluación de la tolerabilidad de la ϵ -Polilisina, como posible fármaco para el tratamiento de la obesidad* ”, antes de aceptar es importante que entienda claramente de qué se trata el estudio, ésta forma de consentimiento bajo información puede contener palabras o términos que usted no comprenda, por favor pida a la persona que la esta entrevistando que le explique cualquier duda. Esté seguro en su decisión sobre participar en el estudio y no firme esta forma de consentimiento bajo información hasta que todas sus dudas le sean aclaradas y se encuentre convencido de querer participar en el estudio.

PROPÓSITO Y DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO:

La obesidad es el exceso de grasa acumulada en el cuerpo que por lo general, se ve acompañada por un incremento de peso.

El exceso de grasa en el organismo, principalmente en el área del abdomen tiene consecuencias importantes en la salud pues las personas son más susceptibles a presentar enfermedades como diabetes, hiperlipidemia (nivel alto de diferentes tipos de grasas en sangre) e hipertensión arterial (presión sanguínea alta) entre otras cosas.

Las estrategias que se utilizan para el tratamiento de la obesidad incluyen dietas bajas en calorías, modificación en el estilo de vida por un incremento en la actividad física y tratamientos farmacológicos los cuales ayudan a que la pérdida de peso sea en el menor tiempo posible.

Este estudio clínico, en el cual se le ha invitado a participar, se encuentra en la Fase I, lo cual indica que es uno de los primeros estudios que se realizan en seres humanos después de una serie de ensayos en laboratorio y en animales. La finalidad es probar diferentes dosis de tratamiento para evaluar aquella que sea más tolerable para el organismo, definir e identificar la naturaleza de las reacciones que se pudieran presentar, así como demostrar la seguridad del compuesto para establecer las dosis para futuros estudios y aplicaciones.

El estudio se efectuará en 20 sujetos sanos, mujeres y hombres que tengan entre 18 y 40 años de edad al inicio del proyecto y que presenten un índice de masa corporal entre **20-25** kg/m². (El índice de masa corporal es la relación entre peso y estatura al cuadrado para indicamos si estamos en estado normal, sobrepeso u obesidad).

Si usted da su consentimiento y es elegido, participará en el estudio durante de 12 semanas como máximo, en donde será necesario realizarle varios estudios tanto médicos como de nutrición; por la parte médica se le realizará: una historia clínica, exploración física, medición de signos vitales, se le tomará un electrocardiograma y finalmente se le tomará una muestra de sangre para realizar un análisis bioquímico.

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

Por la parte de nutrición se le realizará una frecuencia de alimentos (la cual indica el tipo de alimentos que usted está acostumbrado a consumir) y un recordatorio de 24 horas (el cual indica la cantidad de alimentos que consume en un día), así mismo se le tomara su estatura y peso.

A usted se le asignará al azar uno de los siguientes tratamientos que se pretenden probar tomando en cuenta su edad y sexo.

- Grupo A. 45 mg ϵ -polilisina
- Grupo B. 150 mg ϵ -polilisina
- Grupo C. 300 mg ϵ -polilisina
- Grupo D. 450 mg ϵ -polilisina
- Grupo E. Placebo

Usted no conocerá en que grupo de tratamiento se encuentra incluido, sin embargo esta información podrá ser obtenida en caso que se requiera. Usted no podrá cambiar de tratamiento durante el estudio.

Los tratamientos son cápsulas que contienen un compuesto llamado ϵ -polilisina o placebo (aquel compuesto que no causa daño y no tiene el fármaco) los cuales se deberán de consumir tres veces al día después del desayuno, comida y cena.

El tratamiento le será repartido en cantidad suficiente de forma *gratuita* por el encargado de su evaluación.

PROCEDIMIENTO

Una vez que usted haya dado su consentimiento para participar en el proyecto, deberá asistir en cada una de las visitas que a continuación se mencionan al consultorio médico ubicado en Nevado de Colima #212, col: Palmas; el procedimiento a seguir es el siguiente:

Visita de selección (semana -1) En esta visita usted deberá presentarse para una entrevista donde se le pedirán algunos datos de interés para el estudio posteriormente se le realizará un examen médico, se le tomarán sus signos vitales (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión sanguínea) y un electrocardiograma.

Posteriormente se le tomará una muestra de sangre de aproximadamente 15 a 20 mL para evaluar albúmina, creatinina, AST, ALT, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, glucosa y biometría hemática, usted deberá estar en ayuno de por lo menos 12 h.

Finalmente se le tomará el peso y la talla (estatura).

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

Toda la información que se recopile de esta visita servirá para asegurarnos que usted cumple con los requisitos para participar en el estudio, en caso de que el especialista encuentre alguna anomalía en sus resultados le avisará y usted podrá ser asesorado.

Si usted no cumple con los requisitos para participar en el estudio, el médico le explicará el motivo y automáticamente usted dejará de participar en el estudio.

Durante el estudio, el coordinador estará constantemente en comunicación con usted ya sea personalmente o vía telefónica con la finalidad de identificar a tiempo cualquier reacción adversa que se presente durante el tiempo que participe en el estudio, además a usted se le entregará un diario para que pueda registrar cualquier síntoma que se le presente durante el estudio.

Visita de asignación de tratamiento (semana 0). Si usted es elegido para entrar al estudio, se le realizará una entrevista para ver su perfil nutricional, en donde se le realizará un cuestionario recordatorio de 24 horas. Se le pedirá que en su dieta diaria con el 30% de grasa (que es la cantidad que generalmente la mayoría de la gente consume) del total de las kilocalorías que usted va a consumir. Para ello contará con la asesoría de una nutrióloga. Es importante que usted se comprometa a cumplir con la cantidad de grasa que se le indica.

Una vez que usted no tenga dudas en el procedimiento nutricional, se le asignará el tratamiento y un diario para que anote cualquier reacción que presente aunque usted la considere normal. Si usted persiste con alguna molestia, deberá avisar inmediatamente al médico principal.

Visita de seguimiento de tolerancia al medicamento (semana 1, 2, 3, 4 y 8). Usted deberá presentarse en el centro a la medición de su peso y talla. El médico encargado del estudio le preguntará si ha presentado algún evento adverso y le medirá su presión arterial, frecuencia respiratoria y cardíaca.

En caso de presentar alguna duda acerca de cómo cumplir con la ingesta del 30% de grasa, se le orientará cuantas veces sea necesario.

En las **semanas 4 y 8** usted debe acudir en ayuno de 12 h ya que se le tomará una muestra de sangre para determinar glucosa, triglicéridos, colesterol total y HDL.

Visita de final de tolerancia al medicamento (semana 12).

Esta semana es la última en la que usted tomará el tratamiento, en esta visita se le realizarán las mismas evaluaciones mencionadas en la **semana-1**

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

Visita de cierre post-tratamiento (semana 14)

En esta visita usted asistirá al centro para que el médico evalúe la adaptación y las reacciones que usted ha tenido al dejar de tomar el tratamiento.

INFORMACIÓN PARA MUJERES EN EDAD REPRODUCTIVA

Durante su participación en el estudio debe evitar un embarazo ya que la α -polilisina será utilizada por primera vez a dosis farmacológicas y no hay ninguna referencia que en humanos exista algún evento adverso, las mujeres que deseen la posibilidad de quedar embarazadas en el tiempo que dure el estudio no podrán participar; durante el estudio se le recomienda utilizar un método anticonceptivo efectivo o bien abstinencia sexual.

Si usted (en el caso de ser mujer) quedara embarazada durante el desarrollo del estudio, le deberá de avisar a su médico *de inmediato*. El medicamento del estudio se le suspenderá de forma definitiva debido a los posibles riesgos para su bebé.

RIESGOS DE ESTE ESTUDIO CLÍNICO EN FASE I

Los riesgos para este tipo de estudio son mínimos, pero usted debe considerar que puede existir otro riesgo desconocido, principalmente porque es la primera vez que se administra α -polilisina a dosis farmacológicas en seres humanos, a pesar se utiliza comúnmente en países asiáticos como metabolito de alimentos fermentados y está reconocido como GRAS #135 (generalmente reconocido como seguro) por la FDA (Food and Drug Administration), usted debe considerar que muchas veces los estudios previos en laboratorio y animales no son totalmente extrapolables al hombre.

Usted debe saber que la α -polilisina es un polímero de L-Lisina el cual es un aminoácido esencial, es decir que no se produce en el organismo y es necesario consumirlo en la dieta; la α -polilisina es una molécula inocua (que no causa daño). Así mismo, se han realizado experimentos de mutagenicidad en los cuales está demostrado que la α -polilisina no es mutagénica (sustancia que no altera de forma permanente el ADN de las células).

Existe una fuerte evidencia que demuestra que la α -polilisina no causa toxicidad en funciones inmunológicas, neurológicas y de reproducción, y tampoco en el desarrollo del embrión y del feto en dos generaciones.

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

Sin embargo, aunque las dosis que se utilizarán en el presente estudio guardan un rango de seguridad respecto a lo encontrado en los animales de laboratorio, puede encontrarse algunas molestias al consumir el tratamiento.

Las molestias que pueden presentarse al consumir la α -polilisina son principalmente de naturaleza gastrointestinal, que incluyen la aparición de diarrea, dolor abdominal, flatulencia, gases y vómito.

También podrían presentarse problemas de mala absorción de vitaminas liposolubles (A, E, K, y D)

Para evitar riesgos innecesarios, el tratamiento que se le otorgue deberá ser consumido únicamente por usted y en la forma que le sea indicado, recuerde que está participando en un estudio de investigación en el cual se está probando la tolerabilidad de un nuevo fármaco para la obesidad y desconocemos los efectos adversos que pudiera ocasionar el tratamiento.

La toma de otros medicamentos puede ser necesaria para el tratamiento de otros problemas médicos que padezca, pero es indispensable que usted le informe al médico del estudio cualquier medicamento adicional que consuma, molestias o eventos adversos que presente.

Cualquier cambio en los riesgos que puedan presentarse en el estudio, se le comunicarán inmediatamente.

TRATAMIENTO MÉDICO EN CASO DE EVENTOS ADVERSOS

Si usted llegara a sufrir algún evento adverso como resultado directo de los tratamientos administrados en este estudio se le brindará la atención médica necesaria en la institución participante. Un especialista (gastroenterólogo) se encargará de otorgarle atención médica.

Usted podrá asistir a la Unidad de atención de urgencias dentro de la clínica de Santa Bárbara de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAG).

BENEFICIOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:

Con su participación contribuirá a la generación de información necesaria para desarrollar un nuevo tratamiento para la obesidad que puede ayudar, en un futuro a sujetos con problemas graves por esta causa, la cual se está incrementando drásticamente en México y a Nivel Mundial.

Como participante del estudio, usted obtendrá el beneficio de un análisis minucioso de nutrición, médico y bioquímico completamente personalizado y gratuito evaluando su estado actual y su progreso hasta el final del estudio. Además, con la entrega de su plan de alimentación, recibirá materiales que le apoyarán para apegarse a su dieta de la mejor manera posible, esto le ayudará a cambiar sus hábitos de alimentación.

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

CONFIDENCIALIDAD:

El grupo de investigadores mantendrá los expedientes con la información que se obtenga totalmente de manera confidencial. El comité de ética que revisó este proyecto y los colaboradores del estudio también podrán tener acceso a esta información. El grupo de investigación sólo proporcionará información que no lo identificará personalmente.

INFORMACIÓN DE CONTACTO:

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, puede consultar al médico de su preferencia. Si usted tiene cualquier pregunta acerca del proyecto, o en caso de una emergencia puede preguntar a los investigadores que continuamente estarán en contacto con usted.

Cualquier información actualizada que pueda afectar en su decisión de seguir participando en el proyecto se le comunicará inmediatamente.

SU PARTICIPACIÓN ES VOLUNTARIA:

Su participación es voluntaria y es su decisión participar en el estudio, en cualquier momento está en su derecho de abandonarlo. Si usted acepta participar, se compromete a proporcionar información veraz y seguir las instrucciones del estudio como le sean dadas. Si usted no cumple las instrucciones su participación puede terminar, sin su consentimiento, bajo el criterio del investigador. Sólo debe ingresar en este estudio si su plan actual es continuar hasta el fin del mismo.

Si es necesario interrumpir el tratamiento y terminar su participación en el estudio se le pedirá asistir a las visitas restantes, para evaluar su condición.

Si decide no ingresar al estudio no se afectará en ningún aspecto su decisión.

EL CONSENTIMIENTO A PARTICIPAR:

Yo entiendo que mi participación es voluntaria y que tengo el derecho de no aceptar a participar en el proyecto. Entiendo que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

EL CONSENTIMIENTO:

Yo he leído o me han leído esta información y se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas sobre el proyecto. Las respuestas a mis preguntas fueron satisfactorias. Se me ha dado una copia de este consentimiento para llevármela. Libremente y sin presión alguna doy mi consentimiento para participar en el estudio.

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN POR ESCRITO

Universidad Autónoma de Querétaro; Facultad de Ciencias Naturales; Maestría en Nutrición Humana

PARTICIPANTE

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____ Fecha de firma: _____

Domicilio del participante: _____

Teléfonos del participante: _____

TESTIGO 1

Nombre testigo 1: _____

Firma testigo 1: _____ Fecha de firma: _____

Domicilio testigo 1: _____

Teléfono(s) testigo 1: _____ Parentesco con el participante: _____

TESTIGO 2

Nombre testigo 2: _____

Firma testigo 2: _____ Fecha de firma: _____

Domicilio testigo 2: _____

Teléfono(s) testigo 2: _____ Parentesco con el participante: _____

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Yo o mi representante autorizado hemos discutido con el participante o su representante legal autorizado, la naturaleza y propósito de este estudio, así como los posibles riesgos y beneficios de su participación. Considero que el participante y/o su representante legal han recibido la información completa con un lenguaje comprensible y apropiado, y que entendieron esta explicación.

RESPONSABLE DE LA INFORMACIÓN AL PACIENTE

Firma del Investigador: _____

Fecha de la firma: _____

Nombre del investigador: _____

CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN DEL PARTICIPANTE

| | | |
|--|--|--|
| | | |
|--|--|--|

Apéndice 9.2 Clasificación de los eventos adversos

A) Causalidad

Cierta. Consiste en un nuevo evento que ocurre en un tiempo razonable posterior a la administración del medicamento y que no puede evitarse por la evolución natural del padecimiento, una patología concomitante o a la administración de otros medicamentos.

Probable. Consiste en un evento que sigue una secuencia de tiempo razonable desde la última administración del medicamento y que difícilmente puede atribuirse a la evolución natural del padecimiento, patologías concomitantes a la administración de otros medicamentos. Al suspender la administración del medicamento(s) sospechoso(s) se obtiene una respuesta clínica razonable. No es necesario readministrar el medicamento.

Posible. Consiste en un evento que sigue una secuencia de tiempo razonable desde la última administración del medicamento, al cual también puede atribuirse a la evolución natural del padecimiento, patológicas concomitantes o a la administración de otros medicamentos. No se dispone de la información relacionada con la suspensión de la administración del medicamento sospechoso o bien ésta no es clara.

Dudosa. Consiste en un evento que sigue una secuencia de tiempo desde la última administración del medicamento que hace la relación de causalidad improbable (pero no imposible), lo que podría explicarse de manera aceptable por ser parte de la evolución natural del padecimiento, o bien debido a la presencia de patologías concomitantes o a la administración de otros medicamentos.

B) Intensidad de la manifestación clínica (severidad)

Leve. Se presentan con signos y síntomas fácilmente tolerados, no necesitan tratamiento, ni prolongan la hospitalización y pueden o no requerir de la suspensión del medicamento.

Moderado. Interfiere con las actividades habituales (pudiendo provocar bajas laborales o escolares), sin amenazar directamente la vida del paciente. Requiere de tratamiento farmacológico y puede o no requerir la suspensión del medicamento durante la reacción adversa.

Grave (serio). Cualquier manifestación morbosa que se presenta con la administración de cualquier dosis de un medicamento y que:

- Pone en peligro la vida del paciente puede ser la pérdida excesiva de peso, estados anormales de desnutrición o cualquier otro estado fisiológico que el médico así lo determina.
- Hace necesario hospitalizar o prolongar la estancia hospitalaria
- Es causa de invalidez o de incapacidad persistente o significativa
- Es causa de alteraciones o malformaciones en el recién nacido

Letal. Contribuye directa o indirectamente a la muerte del paciente.

Apéndice 9.3 La documentación contenida en la Carpeta Regulatoria

- a. Documentación regulatoria:
 - Respuesta del comité de ética en el primer sometimiento
 - Enmienda al protocolo
 - Carta de Aprobación del Comité de Ética

- b. Protocolo del estudio, Carta de Consentimiento bajo información por escrito

- c. Documentación “Staff del estudio”
 - Registro del Staff
 - Contactos telefónicos
 - Currículums Vitae

- d. Documentación “Monitoreo”
 - Plan de monitoreo
 - Reporte de monitoreo
 - Registro de Visitas de Monitoreo

- e. Documentación “Producto en Investigación”
 - Asignación de tratamientos
 - Certificados del Producto
 - Correos de respaldo donde el patrocinador asigna el tratamiento

- f. Manual de Procedimientos del Estudio

- g. Anexos del Manual de Procedimientos del Estudio
 - Técnicas de análisis
 - Reporte de calibración

- h. Formatos del Estudio
 - Escrutinio
 - Asignación al azar

- Semana 1 (Seguimiento)
- Semana 2 (Seguimiento)
- Semana 3 (Seguimiento)
- Semana 4 (Seguimiento)
- Semana 8 (Seguimiento)
- Semana 12 (Seguimiento)
- Semana 14 (Post-tratamiento)
- Termino de la participación en el estudio
- Desviaciones al Protocolo
- Nota Aclaratoria
- Eventos Adversos
- Recordatorio de 24 h
- Criterios de Selección
- Registro de Citas

i. Reglamentos y Normas Aplicadas en el Estudio

- Manual de Buenas Prácticas en Investigación Clínicas
- Reglamento de la Ley General de Salud
- NOM-168-SSA1-1998, Expediente Clínico
- NOM-220-SSA1-2002, Instalación y Operación de la Farmacovigilancia