

## PREDICCIÓN «IN SILICO» DE LA ABSORCIÓN DE FÁRMACOS EN PACIENTES CELIACOS

### *In Silico Prediction of Drug Absorption in Celiac Disease*

Marina GOROSTIOLA GONZÁLEZ; María José GARCÍA SÁNCHEZ; María Dolores SANTOS BUELGA

Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Farmacia. Campus Miguel de Unamuno. 37007 Salamanca.

Correo-e: mgorostiola@usal.es; mjgarcia@usal.es; sbuelga@usal.es

**RESUMEN:** La disfunción gastrointestinal presente en la enfermedad celiaca induce alteraciones en la absorción oral de fármacos. No obstante, las causas permanecen relativamente desconocidas. El objetivo del estudio fue determinar mediante métodos *in silico* los factores más propensos a alterar la absorción en pacientes celiacos. Se utilizó una herramienta de simulación –Simcyp V14– para predecir alteraciones en la absorción. Se recogieron datos de pH luminal intestinal y tiempo de vaciamiento gástrico de la bibliografía para generar cuatro poblaciones virtuales (celiaca y control). Se estudiaron cuatro fármacos (desipramina, clozapina, digoxina y warfarina) con diferentes propiedades fisico-químicas. Se llevaron a cabo dieciséis simulaciones, divididas en dos bloques, para analizar independientemente la influencia de los factores pH y tiempo de vaciamiento gástrico. Los perfiles de absorción se compararon contrastando  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y AUC. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre las poblaciones celiaca y control en base a diferencias en el pH luminal intestinal. No obstante, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en  $t_{max}$  atribuidas a diferencias en el tiempo de vaciamiento gástrico para todos los fármacos estudiados. Se precisan estudios posteriores para determinar la relevancia clínica de estos resultados, y analizar otros posibles factores involucrados.

*Palabras clave:* Enfermedad celiaca; farmacocinética; absorción; in silico; Simcyp.

**ABSTRACT:** Celiac disease is known to cause impaired oral drug absorption as a consequence of the abnormal gastrointestinal function present in such patients. Nevertheless, the causes underlying this phenomenon remain relatively uncertain. The aim of this study was to determine by means of *in silico* methods, which factors are more likely to cause absorption irregularities in celiac patients. A simulation tool –Simcyp V14– was used to predict absorption defects. Jejunum luminal pH and gastric emptying time data was collected from past reports to generate two pairs of virtual populations (celiac and control). Four drugs (desipramine, clozapine, digoxin and warfarin) with different physical-chemical properties were tested. Eight pairs of simulations were performed, divided in two sets to analyse separately the prospective influential factors pH and gastric emptying time. The absorption profiles were compared in terms of C<sub>max</sub>, t<sub>max</sub> and AUC. No statistically significant differences ( $p < 0.01$ ) were found between control and celiac populations regarding jejunal pH differences. However, statistically significant differences ( $p < 0.01$ ) in terms of t<sub>max</sub> were found regarding gastric emptying time differences with all drugs tested. Further studies need to be conducted to determine the clinical relevance of these results, and to analyse other possible factors involved.

*Key words:* Celiac disease; pharmacokinetics; absorption; in silico; Simcyp.

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. *Enfermedad celiaca*

La enfermedad celiaca es una enfermedad autoinmune crónica que afecta casi al 1% de la población europea y estadounidense (Wang, Hopper, 2014). Los pacientes que la sufren presentan una intolerancia genética a la gliadina, una fracción alcohol-soluble del gluten. El gluten es una proteína presente en algunos cereales como el trigo, la cebada o el centeno, cuya ingesta en estos pacientes resulta en una respuesta inflamatoria de la mucosa de los primeros segmentos del intestino delgado que conduce progresivamente a la atrofia de las vellosidades intestinales (Kochhar *et al.*, 2016). La patología, además, se acompaña de otra serie de alteraciones gastrointestinales: aumento del pH luminal intestinal (Kitis *et al.*, 1982; Benn, Cooke, 1971), enlentecimiento del tiempo de vaciamiento gástrico (Tursi, 2004; Holt *et al.* 1981), deficiencia de enzimas gastrointestinales –principalmente

enzimas CYP450– (Tran *et al.*, 2013), daño de sistemas de transporte activo (Tran *et al.*, 2013), incremento de la permeabilidad de la mucosa del yeyuno (Gubbins, Bertch, 1989), variaciones en el tiempo de tránsito gastrointestinal (Tran *et al.*, 2013; Tursi, 2004)

## 1.2. Absorción de fármacos por vía oral

La vía oral es la más utilizada en la administración de fármacos, debido a que es la vía menos invasiva y más cómoda para el paciente. Ahora bien, a la hora de interpretar las curvas de concentración plasmática tras la administración de fármacos por vía oral, hay que tener en cuenta que existen una gran cantidad de factores que afectan a la absorción de fármacos administrados por dicha vía, la cual tiene lugar principalmente en los primeros segmentos del intestino delgado (Parsons, 1977; Gubbins, Bertch, 1989). Estos se podrían clasificar en tres grupos:

- Las características fisicoquímicas del fármaco –peso molecular, constante de ionización (pKa), liposolubilidad, metabolismo por enzimas y flora gastrointestinales– van a determinar la capacidad del fármaco de atravesar las membranas biológicas por difusión pasiva.
- Las características de la formulación –tamaño de partícula, velocidad de desintegración, velocidad de disolución– determinan la velocidad y el alcance de la disolución del principio activo. Estos, a su vez, condicionan la fracción y velocidad de fármaco absorbido puesto que es necesario que esté disuelto para atravesar las barreras biológicas.
- Por último, las características del tracto gastrointestinal –tiempo de vaciamiento gástrico, superficie intestinal de absorción, pH gástrico, pH luminal intestinal, tiempo de tránsito intestinal, presencia de alimentos u otras sustancias– también afectan en gran medida a la absorción. Así, el tiempo de vaciamiento gástrico determina el tiempo que el fármaco tiene para disolverse antes de llegar a su lugar de absorción; la cantidad de fármaco absorbido es directamente proporcional a la superficie de absorción; y el pH intestinal determina la fracción de fármaco en forma no ionizada.

En la enfermedad celiaca algunos de los factores correspondientes al tracto gastrointestinal están alterados, lo cual explicaría que la absorción de ciertos fármacos no sea igual en pacientes con dicha patología que en pacientes que no la padezcan (Tran *et al.*, 2013; Parsons, 1977; Gubbins, Bertch, 1989).

### 1.3. Predicción «in silico»

Los métodos de predicción «in silico» permiten realizar ensayos simulados con fármacos utilizando métodos computacionales que se basan en algoritmos matemáticos y extensas bibliotecas de datos generados en estudios clínicos en fase II y III (Jamei *et al.*, 2013).

Estos métodos tienen la ventaja de que son más rápidos y menos costosos que los ensayos «in vitro», y además menos éticamente problemáticos que los ensayos «in vivo», ya que permiten predecir respuestas farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas sin necesidad de realizar experimentos ni en animales ni en humanos. Por todo ello, los métodos «in silico» se han convertido en una herramienta cada vez más utilizada en la investigación clínica y el desarrollo industrial de fármacos para llevar a cabo las primeras fases de algunos ensayos, lo cual permite ahorrar grandes cantidades de tiempo y dinero (Jamei, 2016).

## 2. OBJETIVO

La finalidad principal de este trabajo es predecir las posibles alteraciones en la absorción de fármacos en pacientes celíacos, mediante la realización de ensayos «in silico» bajo diferentes supuestos, con el fin de discernir los mecanismos implicados en la aparición de dichas alteraciones, así como las condiciones que más las favorecen.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Software utilizado

#### *Simcyp*®

Las simulaciones han sido realizadas con el programa *Simcyp*® V14. El simulador permite implementar datos sobre una población ya existente, modificándola para que se adapte a las condiciones especiales de una población particular en estudio. En este estudio se ha realizado una revisión bibliográfica para implementar los datos necesarios para simular varias poblaciones de análisis: «celíacos» y «control».

#### *Office*®

Como procesador de textos y hoja de cálculo se emplearon los programas Microsoft Word® y Microsoft Excel® de la suite Office 2016.

### 3.2. Revisión bibliográfica

La búsqueda de información se realizó a través de las herramientas disponibles en la Biblioteca de la USAL, como Medline/Pubmed, y otros recursos accesibles de manera gratuita en la web, como Google Académico y la base de datos DrugBank v.5.0.6.

Una lectura somera de los trabajos finalmente seleccionados permitió comprobar que muchos presentaban información repetida y, en otros muchos casos, no respondieron a las expectativas de búsqueda, por lo que finalmente se recurrió a la información contenida en los artículos recogidos en el apartado de Bibliografía que pone en evidencia la existencia de pocos estudios experimentales que evalúen de forma exhaustiva la incidencia y las causas de alteraciones en la absorción de fármacos en pacientes celíacos.

### 3.3. Poblaciones

Para realizar las simulaciones, se generaron cuatro poblaciones nuevas en Simcyp® a partir de la población «*Healthy volunteers*» (Peso de referencia 70 kg, rango etario 20-50 años, 34% mujeres, tiempo medio de vaciamiento gástrico en ayunas 0,4 h, tiempo medio de tránsito intestinal 3,33873 h, pH intestinal en ayunas Yeyuno I 6,5, pH intestinal en ayunas Yeyuno II 6,6). Utilizando los datos de bibliografía de pH luminal del yeyuno (Kitis *et al.*, 1982) y los datos de vaciamiento gástrico (Holt *et al.*, 1981) de pacientes celíacos y sanos, se introdujeron las siguientes cuatro poblaciones de estudio, con las características diferenciales de la población *Healthy volunteers* detalladas a continuación.

- POBLACIÓN CONTROL pH --- pH en ayunas de yeyuno I y II: 5,96
- POBLACIÓN CELIACA pH --- pH en ayunas de yeyuno I y II: 6,37
- POBLACIÓN CONTROL vaciamiento --- tiempo vaciamiento gástrico: 0,39333 h
- POBLACIÓN CELIACA vaciamiento --- tiempo vaciamiento gástrico: 0,66916 h

### 3.4. Fármacos sustrato

Los fármacos seleccionados dentro de la biblioteca de fármacos de Simcyp® fueron desipramina, clozapina, digoxina y warfarina. Se incluyen en el estudio dos bases monoproticas (desipramina pKa 10,26 y clozapina pKa 7,75) con distinto pKa, un fármaco de naturaleza neutra (digoxina) y un ácido monoprotico (warfarina pKa 5,1); lo cual nos sirve para evaluar la influencia del pH en fármacos de distinto pKa. Desipramina, clozapina y warfarina pertenecen a la

clase biofarmacéutica II (fármacos cuyo factor limitante de la absorción es la solubilidad, ya que presentan alta permeabilidad y baja solubilidad); y digoxina pertenece a la clase biofarmacéutica III (fármacos cuyo factor limitante de la absorción es la permeabilidad, ya que presentan alta solubilidad y baja permeabilidad).

Todos los fármacos incluidos en el estudio presentan su pico de absorción en el yeyuno, que es el segmento en el cual se modifica el pH en los supuestos de modificación de pH.

### 3.5. Simulaciones

En todas las simulaciones se utiliza un diseño común. Se realizaron 10 pruebas experimentales por simulación con 10 sujetos por prueba (total de 100 sujetos por simulación). La duración del estudio fue de 240 h y se tomaron 800 muestras por simulación. La vía de administración fue oral, con el sujeto en ayunas. El régimen de dosificación fue en dosis única, con dosis habituales de mantenimiento –desipramina: 100 mg, clozapina: 100 mg, digoxina 0,5 mg, Warfarina 10 mg–. El modelo de absorción utilizado en el programa fue ADAM, y la formulación sólida de liberación inmediata.

Se llevan a cabo dos bloques de simulaciones (tabla 1). El primero atendiendo a diferencias en el pH intestinal y el segundo a diferencias en el tiempo de vaciamiento gástrico. De esta manera, se busca evaluar por separado la influencia de ambos factores.

Tabla 1. Relación de simulaciones realizadas para evaluar la influencia del pH y vaciamiento gástrico sobre la absorción gastrointestinal de los fármacos analizados (vía oral).

Simulación	Fármaco	Población
Bloque 1: Influencia pH intestinal		
1	Desipramina	CONTROL pH
2	Desipramina	CELIACA pH
3	Clozapina	CONTROL pH
4	Clozapina	CELIACA pH
5	Digoxina	CONTROL pH
6	Digoxina	CELIACA pH
7	Warfarina	CONTROL pH
8	Warfarina	CELIACA pH

Simulación	Fármaco	Población
Bloque 2: Influencia vaciamiento gástrico		
9	Desipramina	CONTROL vaciamiento
10	Desipramina	CELIACA vaciamiento
11	Clozapina	CONTROL vaciamiento
12	Clozapina	CELIACA vaciamiento
13	Digoxina	CONTROL vaciamiento
14	Digoxina	CELIACA vaciamiento
15	Warfarina	CONTROL vaciamiento
16	Warfarina	CELIACA vaciamiento

### 3.6. *Análisis estadístico*

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el complemento XLSTAT® para Excel (Office 2016®).

El tratamiento estadístico elegido para comparar las diferencias en los parámetros de los distintos pares de simulaciones (control *vs.* celiacos) es una prueba no paramétrica de datos no apareados, U de Mann Whitney. El nivel de significación fijado es  $p < 0,01$ .

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros farmacocinéticos elegidos para comparar los resultados entre las distintas simulaciones son C<sub>max</sub>, t<sub>max</sub> y AUC. Los resultados poblacionales medios de cada simulación vienen detallados junto con sus intervalos de confianza en la tabla 2. Las comparaciones se hacen entre simulaciones con el mismo fármaco y distinta población (control y celiaca), dentro del mismo bloque de simulaciones.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos obtenidos en las simulaciones. \*

Simulación	AUC (mg/L·h)			t <sub>max</sub> (h)			C <sub>max</sub> · 10 <sup>-2</sup> (mg/L)		
	Media	Intervalo de confianza		Media	Intervalo de confianza		Media	Intervalo de confianza	
Bloque 1									
1	2,574	1,286	1,831	2,883	2,725	2,938	4,010	3,247	3,932
2	2,574	1,256	1,831	2,883	2,725	2,938	4,010	3,247	3,932

Simulación	AUC (mg/L·h)			tmax (h)			Cmax · 10 <sup>-2</sup> (mg/L)		
	Media	Intervalo de confianza		Media	Intervalo de confianza		Media	Intervalo de confianza	
3	4,566	3,797	4,521	1,760	1,685	1,793	51,821	45,300	52,201
4	4,566	3,796	4,521	1,762	1,686	1,795	51,820	45,298	52,200
5	0,027	0,023	0,027	1,089	1,012	1,111	0,204	0,187	0,208
6	0,027	0,023	0,027	1,089	1,012	1,111	0,204	0,187	0,208
7	48,854	32,482	43,440	3,143	2,968	3,207	105,883	93,451	107,208
8	48,854	32,482	43,440	3,143	2,968	3,207	105,883	93,451	107,208
Bloque 2									
9	2,575	1,287	1,832	2,869	2,712	2,924	4,014	3,250	3,936
10	2,543	1,256	1,793	3,600 **	3,359	3,665	3,869	3,119	3,787
11	4,565	3,795	4,520	1,773	1,693	1,807	51,811	45,247	52,179
12	4,550	3,784	4,506	2,206 **	2,095	2,248	48,539	42,516	48,917
13	0,027	0,023	0,027	1,078	1,003	1,101	0,195	0,187	0,208
14	0,027	0,023	0,027	1,366 **	1,264	1,395	0,179 **	0,163	0,182
15	48,856	32,483	43,441	3,125	2,951	3,189	105,924	93,487	107,249
16	48,817	32,461	43,410	3,773 **	3,541	3,847	103,975	91,816	105,279

\*Se respetan el número de cifras decimales que presenta el programa.

\*\* Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre la población celiaca y control.

Luteolina: todos los compuestos se cuantificaron con apigenina debido a la no disponibilidad de patrón de luteolina. Ambos compuestos son flavonas con parecido coeficiente de extinción molar; 1µg Apigenina/g teff seco: los resultados se expresan en contenido seco de teff. La variedad blanca mostró en nuestro estudio un 4,9% de humedad. La variedad roja mostró en nuestro estudio un 5,7% de humedad.

Los resultados del bloque 1 de simulaciones no muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en los parámetros extraídos de las curvas de concentraciones plasmáticas tras la administración de un mismo fármaco en condiciones similares a pacientes «control» y «celiacos», cuya única diferencia es el pH del yeyuno en ayunas.

Ninguno de los cuatro fármacos, que tienen características fisicoquímicas de pKa diferentes, parece verse afectado por los cambios en el pH, al contrario de lo que sugería la bibliografía existente, a pesar de pertenecer tres de ellos a la clase

biofarmacéutica II –cuya absorción se ve afectada principalmente por cambios en la solubilidad, a su vez condicionada por el pH–.

Los resultados del bloque 2 de simulaciones muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en el  $t_{max}$  tras la administración oral de los cuatro fármacos en estudio en condiciones similares a dos poblaciones que solo se diferencian en el tiempo de vaciamiento gástrico. Además, se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en  $C_{max}$  tras la administración de digoxina (Figura 1).

Respecto a la diferencia observada en el valor de  $C_{max}$  en el caso de la digoxina se barajan hipótesis relativas a la absorción limitada por la permeabilidad, dado que se trata de un fármaco de la clase biofarmacéutica III, pero también a la posible influencia de la p-glicoproteína.

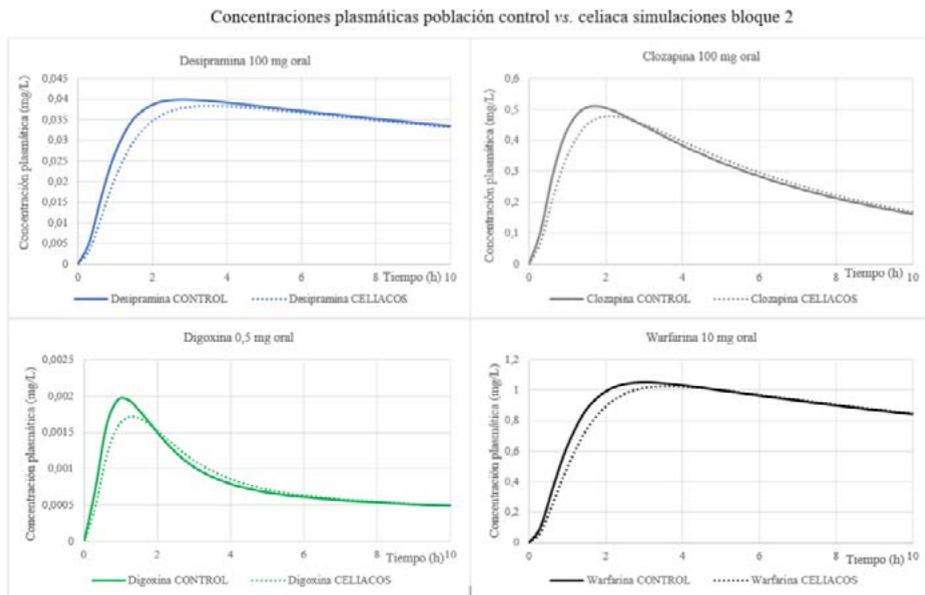


Figura 1. Curva de concentraciones plasmáticas de desipramina 100 mg oral, clozapina 100 mg oral, digoxina 0,5 mg oral, y Warfarina 10 mg oral en pacientes control vaciamiento y celiacos vaciamiento.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio para cuatro fármacos de distintas características de acidez-basicidad (desipramina, clozapina, digoxina y warfarina) indican que los cambios en el pH en pacientes celiacos no parecen ser

lo suficientemente determinantes como para modificar la absorción por sí solos y provocar un cambio significativo en la curva de concentraciones plasmáticas.

Las modificaciones en el tiempo de vaciamiento gástrico, sin embargo, sí parecen ser determinantes de una alteración en el tmax, produciendo un retraso en la llegada del fármaco al lugar preferente de absorción (yeyuno). Esto puede ser un problema importante en la administración de fármacos para los que se necesita un rápido inicio de acción, por lo que en la práctica clínica sería interesante tener en cuenta esto a la hora de tratar a un paciente celiaco.

Los cambios observados a nivel de la absorción en el TGI en pacientes celiacos parecen presentar mayor trascendencia en los fármacos de baja permeabilidad, pertenecientes a las clases biofarmacéuticas III y IV, representados en este estudio por la digoxina.

Considerando que la enfermedad celiaca cursa con diversas alteraciones fisiológicas, son necesarios más estudios, tanto «in vitro» como «in vivo», para determinar la influencia del resto de ellas en la absorción de fármacos, así como para evaluar el efecto combinado en el organismo de todas ellas; y así poder establecer un protocolo común de actuación clínica en pacientes celiacos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Benn A, Cooke WT. Intraluminal pH of duodenum and jejunum in fasting subjects with normal and abnormal gastric or pancreatic function. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1971;6(4):313-7.
- Gubbins PO, Bertch KE. Drug absorption in gastrointestinal disease and surgery. *Clinical pharmacokinetic and therapeutic implications*. *Pharmacotherapy*. 1989; 9(5):285-95.
- Holt S, Heading RC, Clements JA, Tohill P, Prescott LF. Acetaminophen absorption and metabolism in celiac disease and Crohn's disease. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1981 Aug;30(2):232-8.
- Jamei M, Marciniak S, Edwards D, Wragg K, Feng K, Barnett A, Rostami-Hodjegan A. The simcyp population based simulator: architecture, implementation, and quality assurance. *In silico pharmacology*. 2013 Jun. 3; 1:9.
- Jamei M. Recent Advances in Development and Application of Physiologically-Based Pharmacokinetic (PBPK) Models: a Transition from Academic Curiosity to Regulatory Acceptance. *Current pharmacology reports*. 2016;2:161-169.
- Kitis G, Lucas ML, Bishop H, Sargent A, Schneider RE, Blair JA, Allan RN. Altered jejunal surface pH in coeliac disease: its effect on propranolol and folic acid absorption. *Clinical Science (London)*. 1982 Oct;63(4):373-80.
- Kochhar GS, Singh T, Gill A, Kirby DF. Celiac disease: Managing a multisystem disorder. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2016 Mar;83(3):217-27.
- Law V, Knox C, Djoumbou Y, Jewison T, Guo AC, Liu Y, Maciejewski A, Arndt D, Wilson M, Neveu V, Tang A, Gabriel G, Ly C, Adamjee S, Dame ZT, Han B, Zhou

- Y, Wishart DS. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan 1;42(1):D1091-7. PubMed: 24203711.
- Parsons RL. Drug absorption in gastrointestinal disease with particular reference to malabsorption syndromes. *Clinical Pharmacokinetics.* 1977 Jan-Feb;2(1):45-60.
- SimCyp Simulator (v. 14) [software]. 2011-2016. Princeton: Certara USA, Inc. Obtenido de: <https://support.certara.com>
- Tran TH, Smith C, Mangione RA. Drug absorption in celiac disease. *The American Journal of Health System Pharmacy.* 2013 Dec 15;70(24):2199-206.
- Tursi A. Gastrointestinal motility disturbances in celiac disease. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 2004 Sep;38(8):642-5.
- Wang I, Hopper I. Celiac disease and drug absorption: implications for cardiovascular therapeutics. *Cardiovascular Therapeutics.* 2014 Dec;32(6):253-6.
- XLSTAT base [software]. 2017. Barcelona: Addinsoft España. Obtenido de: <https://www.xlstat.com/es/>

