



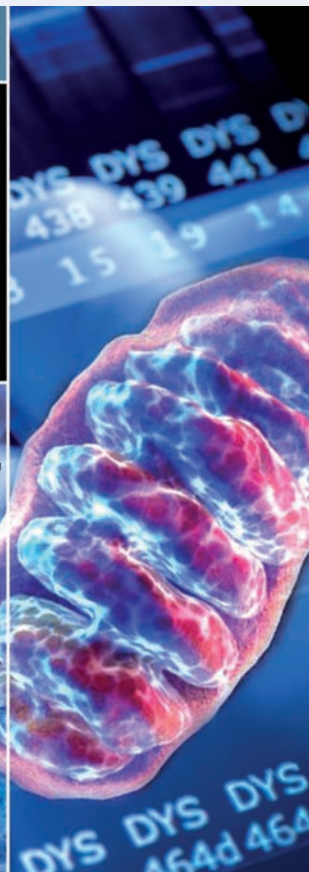
FUNDACIÓN
TEJERINA

Unidad Docente
Aula de Estudios Avanzados

ep^tisa
salud
casta

COLECCIÓN DOCENCIA UNIVERSITARIA

Aspectos fundamentales del Citocromo P450



Serie Ciencias Biomédicas

Editor de la Colección Docencia Universitaria: **Fernando Bandrés Moya**

Coordinadora de la Monografía: **Eva Arribas Arbiol**



CÁTEDRA ROCHE – UCM
DE DIAGNÓSTICO E INNOVACIÓN



Cátedra Florencio Tejerina
de Patología de la Mama y
Humanidades Médicas



Editor de la Colección Docencia Universitaria

Fernando Bandrés Moya

Director del Aula de Estudios Avanzados. Unidad Docente Fundación Tejerina.

Profesor Titular de Toxicología y Legislación Sanitaria.

Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

Coordinadora de la Monografía

Eva Arribas Arbiol

Directora Técnica. Unidad de Farmacia para el Tratamiento de Deshabituación de

Opiáceos. CASTA Arévalo.

Autores

Antonio Gallego Fernández

Farmacéutico. Unidad de Farmacia para el Tratamiento de Deshabituación de Opiáceos.

CASTA Arévalo.

María Asunción de Sande García

Farmacéutica. Unidad de Farmacia para el Tratamiento de Deshabituación de Opiáceos.

CASTA Arévalo.

Ana María Marín Fernández

Farmacéutica. Unidad de Farmacia para el Tratamiento de Deshabituación de Opiáceos.

CASTA Arévalo.

Sonia Blanco Ramos

Farmacéutica. Unidad de Farmacia para el Tratamiento de Deshabituación de Opiáceos.

CASTA Arévalo.

María José González Galán

Psiquiatra. CASTA Guadarrama.



Fernando Bandrés Moya
Editor de la Colección Docencia Universitaria

Eva Arribas Arbiol
Coordinadora de la Monografía

© 2011

ASPECTOS FUNDAMENTALES DEL CITOCROMO P450

ISBN: 978-84-937689-9-7

Edita

ADEMÁS Comunicación Gráfica, s.l.

Diseño y Maquetación

Francisco J. Carvajal

Generalidades del citocromo P450 <i>Antonio Gallego Fernández</i>	7
Aspectos farmacológicos del citocromo P450. Importancia clínica <i>María Asunción de Sande García</i>	33
Polimorfismos genéticos de los citocromos P450 <i>Ana María Marín Fernández y Eva Arribas Arbiol</i>	93
Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos <i>Sonia Blanco Ramos</i>	121
Casos prácticos para la docencia universitaria	
Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos <i>Eva Arribas Arbiol</i>	145
Casos clínicos <i>María José González Galán</i>	163
Discusión de los casos clínicos <i>Eva Arribas Arbiol</i>	173

Prólogo

Esta segunda monografía que presentamos, referida a la toxicología clínica y las drogodependencias, pertenece, al igual que la publicada en 2009 sobre metadona, a la colección Docencia Universitaria, Serie de Ciencias Biomédicas, y pretende introducir al lector universitario, o profesional de ciencias de la salud en un tema de absoluta actualidad como es la relación de los citocromos implicados en el metabolismo de sustancias, tanto endógenas como exógenas, con la evolución en la terapéutica del paciente y con su salud en general.

A medida que los nuevos avances científicos y biotecnológicos nos permiten conocer el mecanismo íntimo de acción de los fármacos, así como de su fisiopatología molecular, somos capaces de detectar nuevos biomarcadores, determinantes, no solo para evitar efectos adversos, sino también para tomar decisiones en los protocolos de tratamiento personalizados a cada paciente.

Los avances en el conocimiento sobre el metabolismo de fármacos, especialmente en fase I, ponen en evidencia la gran importancia que adquiere el mejor conocimiento de la intervención del CYP-450, sus diferentes familias y subfamilias, así como los polimorfismos asociados. Todo ello comienza a insinuar nuevas y futuras aplicaciones de uso clínico, que a buen seguro tendrán una importante repercusión socio sanitaria.

La monografía se ha estructurado en una sucesión de capítulos en los que se tratan los aspectos más importantes del tema en cuestión, realizando una revisión bibliográfica actualizada, para poder ofrecer los últimos avances en este campo. Aún así, debido a la elevada complejidad del tema, así como a la evolución científica constante en el mismo, consideramos esta revisión como una introducción a la inmensidad del problema.

La unidad de farmacia de CASTA Arévalo, ha pretendido aportar desde sus inicios, no solo la cobertura farmacológica necesaria para los tratamientos de sustitutivos opiáceos de los centros dependientes del instituto de adicciones de Madrid Salud, sino también avances sustanciales, tanto desde el punto de vista técnico, como también desde otras perspectivas como la formación, participación en congresos y seminarios científicos, y publicaciones de revisión como la que nos ocupa.

La estrecha colaboración con instituciones como la Fundación Tejerina, gracias a los acuerdos suscritos en 2009, ha propiciado, entre otras cosas, que fuéramos capaces de ofrecer una unidad de farmacia viva, convirtiéndola, gra-

Prólogo

cias al esfuerzo de todos, en un apoyo indiscutible en la gestión integral del paciente drogodependiente.

No podemos terminar este prólogo sin agradecer a todas los colaboradores que han participado de alguna manera en la edición de esta monografía, al Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (UCM), a la Fundación Tejerina, al Instituto de Adicciones de Madrid Salud, a la Cátedra Roche-UCM de Diagnóstico e Innovación, a la Cátedra Florencio Tejerina-Universidad Europea de Madrid, y por supuesto a los profesionales tanto de la Unidad de Farmacia de CASTA Arévalo, como de CASTA Guadarrama.

Esperamos que esta monografía, como las demás, cumpla el objetivo de ser de utilidad para los universitarios y profesionales de ciencias de la salud, en el contexto del nuevo Espacio Europeo de Educación Superior.

FERNANDO BANDRÉS MOYA

EVA ARRIBAS ARBIOL

Generalidades del citocromo P450

Antonio Gallego Fernández

1. Introducción

El descubrimiento del citocromo P450 se remonta a la década de los años 50, en la que comenzaron a estudiarse unos pigmentos encontrados en células hepáticas, a los que se les denominó *citocromos*, del griego *cytos* (κύτος «hueco», «recipiente», «urna» —en biología *célula*—) y *croma* (χρῶμα «color»). A principios de esta década Martin Klingenberg, investigador alemán, observó durante sus estudios con el citocromo b5, la presencia de un pigmento unido al monóxido de carbono con una banda de absorbancia máxima a 450nm de longitud de onda. ¿Podría ser una hemoproteína?. Sin embargo, esta característica no era propia de las hemoproteínas tipo Protoporfirina IX que se conocían hasta el momento (1). No sería hasta 1964 cuando Omura y Sato (2), identifican la naturaleza hemoproteica de este pigmento, que se encontraba presente en los microsomas hepáticos de diferentes especies de mamíferos y que tras ser reducido por NADPH, era capaz de unirse al CO, mostrando un característico pico de absorbancia en el espectro UV a 450 nm (pico de Soret). Por este motivo a esta hemoproteína se la denominó *citocromo P-450* (P por pigmento y 450 por su pico de absorbancia en el UV).

Se encuentra ampliamente distribuido en animales, plantas y protistas (3), y existe en la naturaleza desde antes de la división entre organismos eucariotas y procariotas (4).

Pronto se relacionó su actividad con el metabolismo de gran número de xenobióticos como drogas, pesticidas, procarcinógenos, anestésicos, solventes or-

Figura 1. Ryo Sato y Tsuneo Omura (imágenes tomadas de www.issx.org)



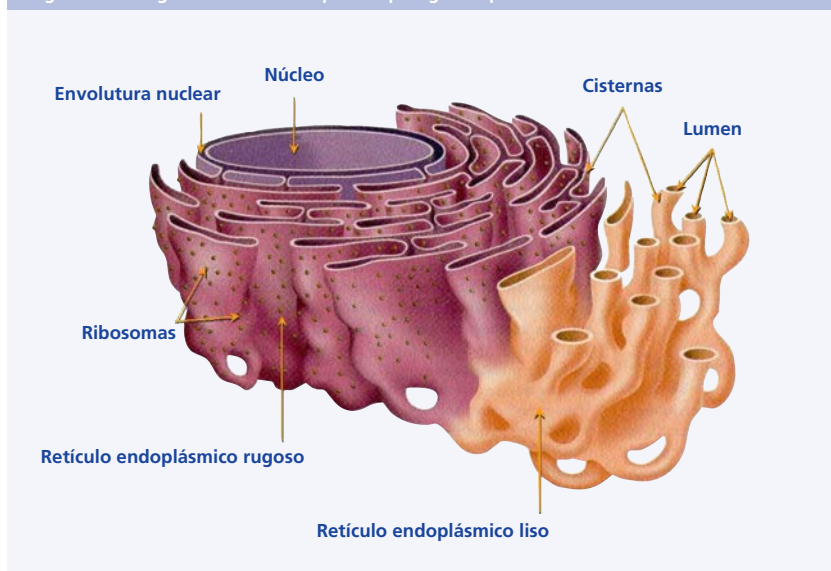
Generalidades del citocromo P450

gánicos, etc., así como de algunas sustancias endógenas como colesterol, ácidos biliares, esteroides, vitaminas liposolubles y ácidos grasos. Se vio que presentaba una amplia distribución entre distintas especies, desde bacterias hasta mamíferos, así como dentro de un mismo organismo, estando presente en una gran variedad de tejidos como riñón, pulmón, piel, intestino, corteza adrenal, testículos, placenta y otros, aunque es particularmente activo en el hígado (5).

En organismos eucariotas se ha detectado prácticamente en todas las membranas subcelulares (6, 7), siendo la mitocondria, y principalmente el retículo endoplásmico las fuentes más importantes (8, 9).

En las bacterias, los citocromos no tienen una asociación a membrana y se solubilizan fácilmente (10, 11).

Figura 2. Imagen tomada de <http://cmap.udg.co.cup>



Los citocromos P450 son miembros de una superfamilia de hemoproteínas que activan dioxígeno para catalizar la oxidación de hidrocarburos inactivados mediante la siguiente reacción (el ciclo catalítico se verá mas adelante) (12):



Generalidades del citocromo P450

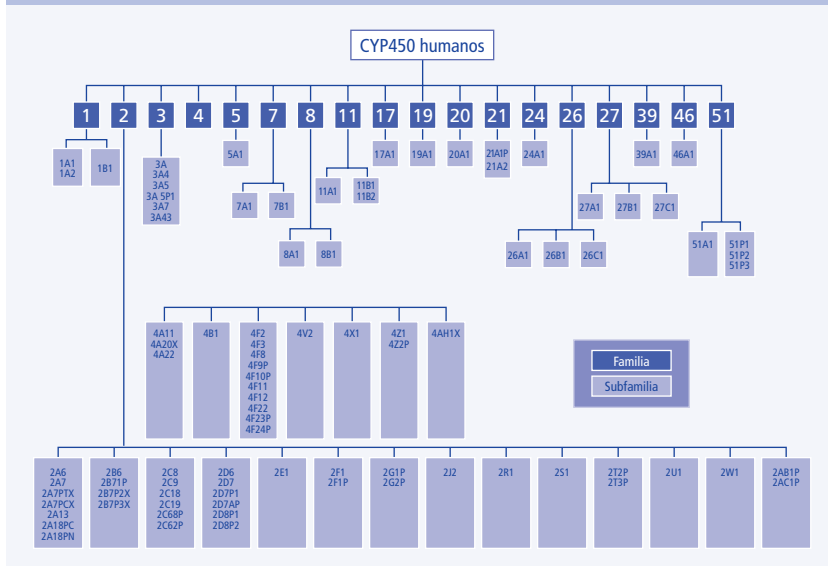
Se han identificado más de 7.700 secuencias de P450 distribuidas en 866 familias. 2.740 secuencias se encuentran en animales y 2.675 en plantas (14), aunque estos datos se encuentran en continua evolución (figura 3).

Siguiendo las recomendaciones de un comité de nomenclatura, los P450 se nombran según la identidad de la secuencia de aminoácidos. Los P450 pertenecientes a una misma familia comparten el 40% de identidad, los pertenecientes a una subfamilia comparten como mínimo el 55% (13), mientras que la identidad de la secuencia en las especies ronda el 15%.

Presentan una amplia versatilidad funcional, siendo capaz de catalizar una gran cantidad de procesos y unirse a un número elevado de sustratos (14).

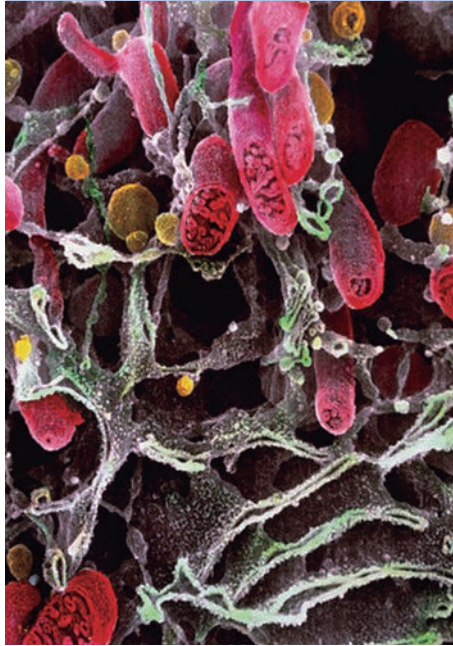
Entre las reacciones catalizadas por este citocromo se encuentran principalmente reacciones de oxidación (N-oxidaciones, S-oxidaciones, epoxidaciones), hidroxilaciones aromáticas y alifáticas, desalquilaciones, desulfuraciones, desaminaciones y deshalogenaciones. Este gran número de reacciones metabólicas hace que el citocromo P450 sea una herramienta fundamental en la comprensión de la respuesta individual a los fármacos, ayudándonos a comprender mejor determinados efectos beneficiosos, o adversos que pudieran ocurrir en un paciente.

Figura 3. Citocromos P450 humanos [modificado de (14)]



Generalidades del citocromo P450

Figura 4. Fotografía de mitocondria (en rojo) y retículo endoplasmático (tomada de www.sciencephoto.com)



Como ya se ha mencionado en párrafos anteriores, los citocromos P-450 constituyen una superfamilia de hemoproteínas que pueden encontrarse en numerosas especies (bacterias, hongos, plantas, insectos, nematodos, peces, aves, mamíferos), para los que se supone un origen común (14). Algunos citocromos P-450 son comunes a varias especies (por ejemplo, CYP1A2 y CYP2E1 presentes en diferentes mamíferos y roedores) y otros son característicos de una especie en particular como es el caso del CYP2A6 o CYP3A4 exclusivos del hombre (15). En cualquier caso, cada especie presenta su propio patrón de citocromos P-450. Estos enzimas se han utilizado como instrumentos para estudios filogenéticos. En este sentido, la información obtenida tras el análisis de la homología de los genes que codifican los citocromos P-450 en diferentes especies ha permitido la generación de mapas de la evolución de dichas especies y las relaciones existentes entre las mismas (16).

Generalidades del citocromo P450

En general el citocromo P450 de eucariotas tiene un peso molecular de unos 50 a 60 kD. La concordancia en la secuencia de aminoácidos entre los diferentes citocromos P450 viene siendo inferior al 20% en algunos casos (17), aunque el extremo C-terminal de la molécula presenta una conservación de las secuencias de aminoácidos entre los distintos citocromos P450 mayor que la región N-terminal, siendo las secuencias intermedias las que presentan un menor grado de concordancia; de tal forma que un 30% de identidad de la secuencia en la zona intermedia puede considerarse como significativa, mientras que un 50% de correlación en la región C-terminal podría considerarse como baja. No obstante, en los estudios de cristalización de proteínas se ha podido observar que existe una elevada conservación en la topografía y estructura tridimensional de los citocromos P450 (18).

En cuanto a su localización, podemos decir que presentan una amplia distribución en el organismo, estando presentes en la práctica totalidad de los tejidos de mamíferos, presentándose en ellos uno o más citocromos diferentes, si bien son especialmente abundantes en hígado e intestino delgado. En el interior celular se localizan en diversos orgánulos celulares, aunque principalmente lo hacen en condriosomas y retículo endoplasmático liso.

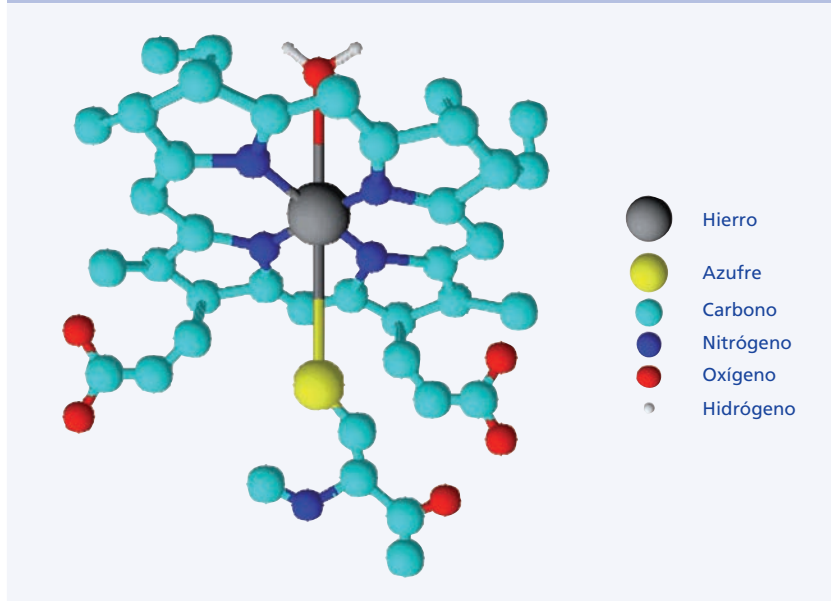
2. Estructura del citocromo P450

En las estructuras cristalinas del enzima libre, disponibles hasta el momento se observa un grupo hemo (figura 5), en el cual el hierro se encuentra unido a un grupo tiol (-SH) de una cisteína y a una molécula de agua (19).

La estructura secundaria del P450 consiste en aproximadamente 12 alfa hélices, de las cuales las hélices I y L, altamente conservadas, están en contacto directo con el grupo hemo (12). La hélice I contiene también residuos críticos implicados en el suministro de protones a los intermediarios hidroperoxo y peroxo del ciclo catalítico (12). La zona del núcleo está constituida por cuatro hélices (α D, α E, α I y α L), hélices J y K, dos láminas β , y una espiral denominada *meander loop* (serpentina) (12) (figura 6). Abarca entre 7-10 residuos de aminoácidos y se supone que juega un papel en la unión del grupo hemo, y en la estabilización de la estructura terciaria de la proteína (20).

Generalidades del citocromo P450

Figura 5. Grupo Hemo del citocromo P450



Existen seis regiones denominadas SRSs (*substrate recognition sites*), involucradas en el reconocimiento y unión de sustratos, que por lo tanto determinan la especificidad de los mismos (21).

De un modo resumido, vemos que la molécula del enzima está constituida por una combinación de regiones α -hélice y de hojas (laminas β), fundamentalmente en la región de la proteína que rodea al grupo hemo (figura 7), mientras que las regiones más variables son las que constituyen los lugares de anclaje a la membrana o de unión y reconocimiento de sustratos (22). La alta conservación de la región del hemo, que se corresponde con el centro catalítico del enzima, refleja un mecanismo común de transferencia de electrones y de protones y de activación de oxígeno (23). El enzima permanece anclado a la membrana a través de una hélice hidrofóbica cercana al extremo N-terminal, por lo que la mayor parte de la proteína se sitúa en la cara citosólica de la membrana (24). Esta hélice transmembrana está seguida, por regla general, por una serie de aminoácidos básicos cuyos residuos interaccionan con las cargas negativas de los lípidos de la membrana (14).

Generalidades del citocromo P450

Figura 6. Estructura secundaria y terciaria de las proteínas P450. Representación de la cara distal del CYP2C5. El grupo hemo se representa en naranja y el sustrato en amarillo (19). Tomado de (21)

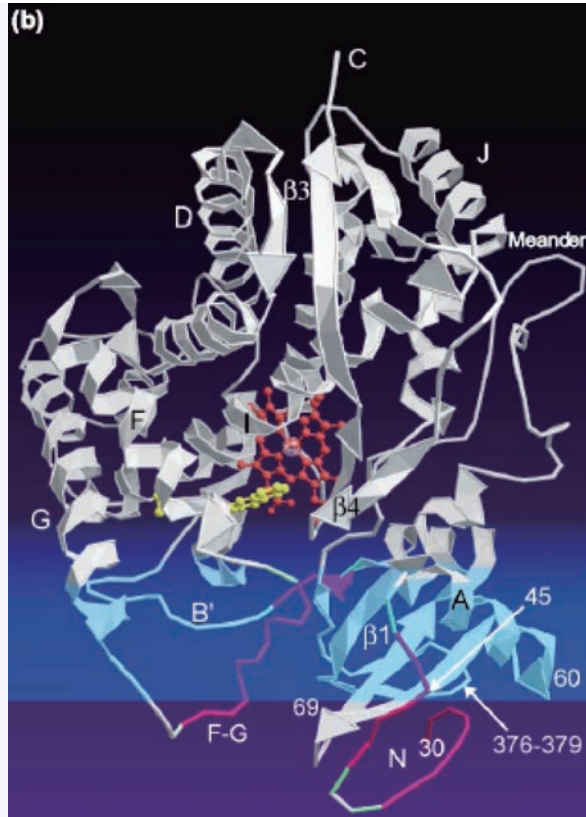
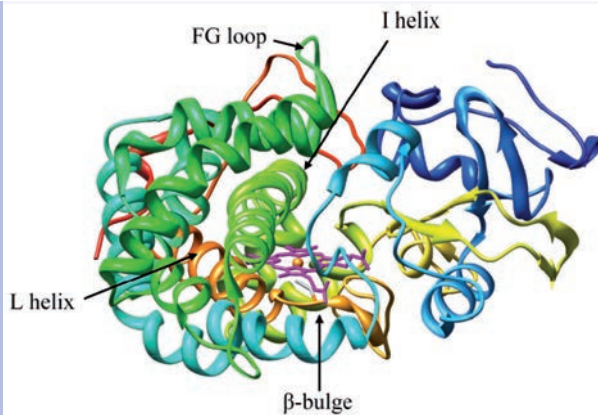


Figura 7. Estructura cristalina (Rayos X) del P450cam. En rojo se muestra la región C terminal, en azul la N terminal y en fucsia el grupo hemo. Tomada de (12)



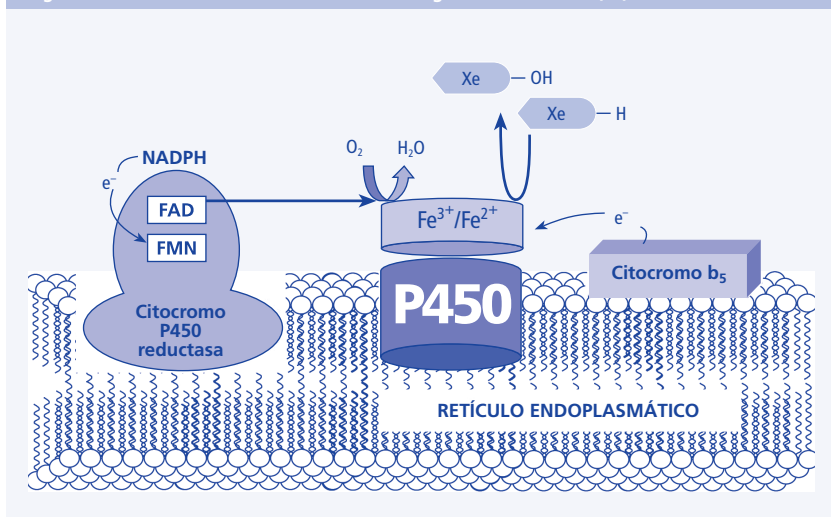
Generalidades del citocromo P450

Como puede observarse en la figura 8, esta hemoproteína se encuentra relacionada con una segunda proteína de membrana, la NADPH-citocromo P450 reductasa en una relación aproximada de 10:1 (10 moléculas de citocromo P450 por cada una de reductasa); esta reductasa posee el complejo FAD/FMN capaz de transferir los electrones necesarios para la reacción oxidativa producida en el citocromo P450, aunque estos electrones también pueden provenir desde el citocromo b₅, que facilita su transferencia desde el NAD(P)H.

3. Citocromo P450. Nomenclatura y distribución

Desde los años 50 hasta finales de los 80, los enzimas se nombraban en función de la reacción que catalizaban o de su inducibilidad, lo que provocó que un mismo citocromo P-450 tuviese diferentes nombres dependiendo del laboratorio donde había sido aislado. A finales de los años 80 el elevado número de citocromos P-450 conocidos hizo que la comunidad científica se planteara la necesidad de establecer unos criterios de nomenclatura que evitaran posibles ambigüedades (14).

Figura 8. Localización del citocromo P450. Imagen modificada de (14)



Generalidades del citocromo P450

Así, en 1987 se establecieron los principios del sistema de nomenclatura y clasificación que se utiliza hoy en día, los cuales obedecen a criterios filogenéticos y se basan en la identidad de la secuencia de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de los diferentes enzimas (25). Según este criterio, los P-450 se identifican con las siglas CYP seguido de un número que designa la familia, una letra que identifica la subfamilia y otro número que se corresponde con el gen (por ejemplo, CYP1A1, CYP2C9). Con este sistema de nomenclatura quedan totalmente identificados todos los citocromos P-450, tanto procariotas como eucariotas.

CYP	3	A	4
Citocromo	Familia > 40%	Subfamilia > 55%	Individuo > 3%

En una misma familia se agrupan aquellos enzimas cuya secuencia de aminoácidos tiene una similitud mayor del 40%, independientemente de la especie de procedencia. Dentro de una familia los citocromos P-450 se agrupan en diferentes subfamilias que, siempre que haya más de una, se denominan correlativamente empezando siempre por la letra A (por ejemplo, CYP2A, CYP2B, CYP2C, etc.). En este caso, el requisito para que dos citocromos P-450 pertenezcan a la misma subfamilia es que tengan una homología en la secuencia de aminoácidos superior al 55%. Así, una concordancia superior al 40% en la secuencia de aminoácidos se daría en citocromos pertenecientes a una misma familia; si la concordancia fuese superior al 55%, estaríamos hablando de miembros de una misma subfamilia.

Por último, dentro de la misma subfamilia, los enzimas individuales se designan según números empezando siempre por el 1 (por ejemplo, CYP1A1, CYP1A2), teniendo en cuenta que dos citocromos P-450 se consideran como diferentes siempre y cuando sus respectivas secuencias difieran en más de un 3%.

Actualmente se conocen 57 genes y más de 59 pseudogenes divididos en 18 familias de genes y 43 subfamilias (13).

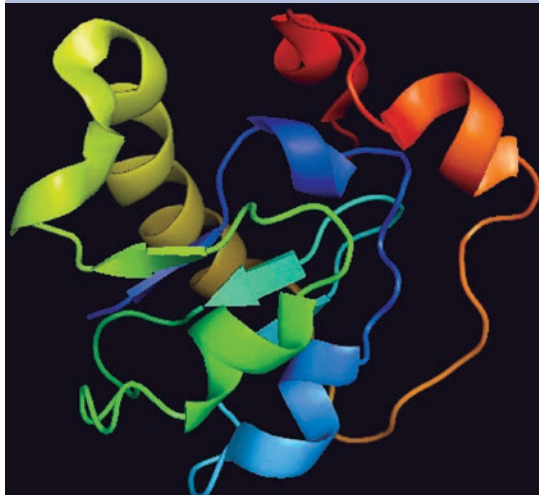
Generalidades del citocromo P450

4. Clasificación

Dependiendo de la forma en la que captan los electrones del NADPH, los enzimas P450 pueden clasificarse en cuatro clases:

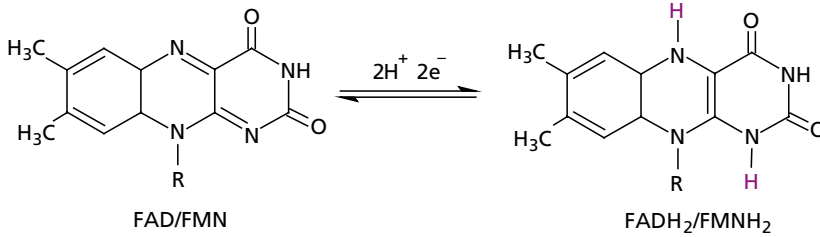
- **Clase I:** Se encuentran en las membranas mitocondriales de bacterias y eucariotas. Reciben los electrones de la ferredoxina que se reduce gracias a la acción de la ferredoxina reductasa (19). Catalizan diferentes pasos en la biosíntesis de hormonas esteroideas y la vitamina D3 en mamíferos (16).

Figura 9. Estructura de la Ferredoxina. Imagen obtenida de <http://commons.wikipedia.org/wiki/File:Ferredoxin.png>

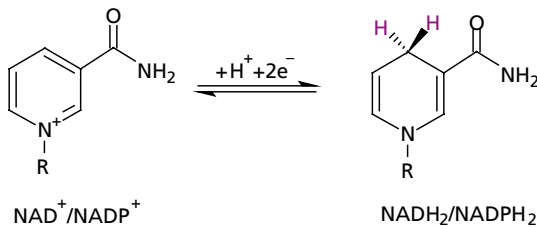


- **Clase II:** Son las mas comunes en eucariotas. Se encuentran ancladas a la cara externa del retículo endoplásmico (ER) por los residuos amino terminales (16). Reciben los electrones directamente del NADPH dependiente de CYP P450 reductasa (CPR), que es una diflavoproteína FAD/FMN (19).

Generalidades del citocromo P450



- **Clase III:** no requieren un donador de electrones, son autosuficientes. Catalizan las reacciones de deshidratación de alquil-hidroperóxidos y alquil-peróxidos inicialmente generados por dioxigenasas (26).
- **Clase IV:** reciben los electrones directamente del NADPH (19).



Las enzimas de clase I y II, de todos los organismos participan en la detoxificación, o en algunos casos activación, de xenobióticos. Se ha demostrado que tienen contribución en los procesos de carcinogénesis, y son determinantes en el metabolismo, tolerancia, selectividad y compatibilidad, de drogas y pesticidas (27, 28, 29, 30).

Las clases III y IV pueden considerarse como los restos más ancestrales de las formas de los P450 involucradas en la detoxificación de especies de oxígeno activo (16).

Generalidades del citocromo P450

Tabla 1. Citocromos P450 humanos [modificada de (31)]

P450	Tejido	Sustrato		
CYP1A1	Varios	Benzopireno		
CYP1A2	Hígado	Aflatoxina B1 Cafeína	Arlaminas heterocíclicas Fenacetina	
CYP2A6	Hígado	Cumarina Dietilnitrosamina		
CYP2A7	Hígado			
CYP2B6	Hígado	Ciclofosfamida	Metadona	
CYP2B7	Pulmón			
CYP2C8	Hígado Intestino	Tolbutamida R-Mefentoína		
CYP2C9	Hígado Intestino	R-Mefentoína Tolbutamida Warfarina		
CYP2C17	Hígado			
CYP2C18	Hígado			
CYP2C19	Hígado	Metadona		
CYP2D6	Hígado Intestino Riñón	Bufuralol Debrisoquina Riñón Esparteína		
CYP2E1	Hígado Intestino Leucocitos	Tetracloruro de carbono Etanol Dimetilnitrosamina		
CYP2F1	Pulmón			
CYP3A3	Hígado	Aflatoxina B1 Ciclosporina	Nifedipino Testosterona	
CYP3A4	Tracto gastro intestinal Hígado	Aflatoxina B1 Ciclosporina	Nifedipino Testosterona	Metadona
CYP3A5	Hígado	Ciclosporina Nifedipino Testosterona		
CYP3A7	Hígado (fetal)	Aflatoxina B1 Testosterona		
CYP4B1	Pulmón			

Generalidades del citocromo P450

5. Mecanismo de acción

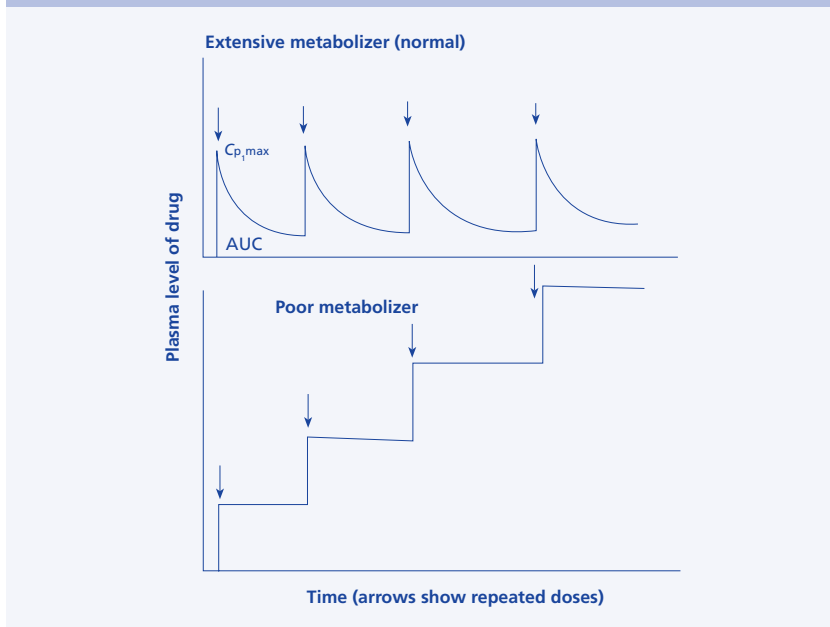
Con el fin de eliminar los xenobióticos, en el organismo se producen reacciones de Biotransformación (tabla 2), encaminadas a incrementar la hidrofilia de estas moléculas para facilitar su rápida excreción. Estas reacciones se pueden diferenciar en reacciones de Fase I y Fase II. En las reacciones de Fase I se produce una modificación del xenobiótico por oxidación, reducción o hidrólisis, dando lugar a la aparición de grupos polares en la molécula, lo que se traduce en un aumento de su hidrosolubilidad y por tanto una mayor facilidad para su excreción. En las de Fase II, el sustrato, que puede tratarse tanto de un xenobiótico como un metabolito proveniente de una reacción de Fase I, se conjuga con una sustancia endógena, lo que facilita su transporte en el organismo y su posterior excreción.

Los P450s, así como otras enzimas, también pueden activar profármacos u otras sustancias químicas, pudiendo incluso dar lugar a productos reactivos que pudieran dañar la célula (32).

En la figura 10, puede verse claramente como queda demostrada la importancia en la variabilidad de los niveles de P450. En la mayor parte de la población, al administrar una dosis de un medicamento, se observa un patrón farmacocinético como el que se muestra en la parte superior del dibujo, y que mantiene el efecto farmacológico en el rango deseado (metabolizador extensivo). En la parte de abajo del dibujo se muestra lo que ocurriría en un metabolizador pobre, en el que tras sucesivas dosis del fármaco, se produce un efecto acumulativo del mismo, pudiendo producirse efectos indeseables (33).

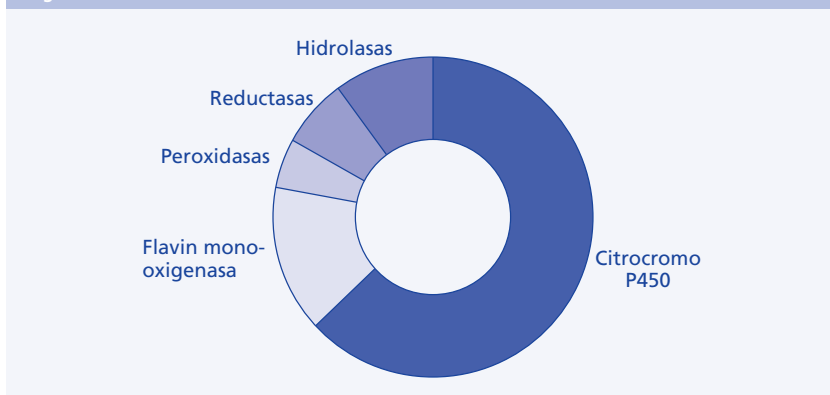
Generalidades del citocromo P450

Figura 10. Obtenida de (33)



Las enzimas del citocromo P450 son las que más frecuentemente se encuentran involucradas en el metabolismo de xenobióticos, junto con las UDP (uridin difosfato) glucuronil transferasas y esterasas (33, 34) (figura 11).

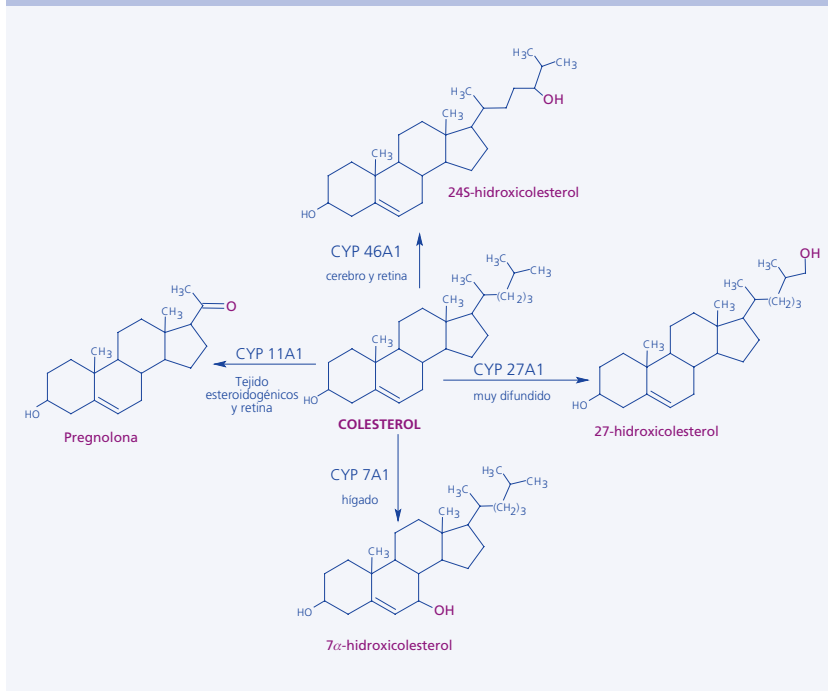
Figura 11. Actividad relativa de diferentes enzimas



Generalidades del citocromo P450

Una de las características importantes en relación con el metabolismo, es que un mismo sustrato puede ser inducido por diferentes citocromos P450, lo que nos da como resultado la formación de diferentes metabolitos (<http://citocromop450.com/citocromos-p450-funciones/>) (figura 12).

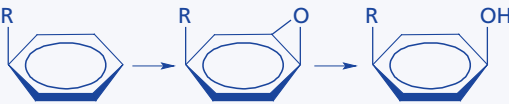
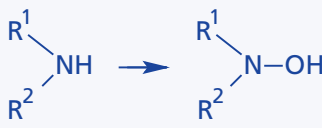
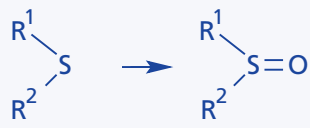
Figura 12. <http://citocromop450.com/citocromos-p450-funciones/>



A continuación, se expone una tabla resumen con las principales reacciones de biotransformación. Tanto las reacciones de hidrólisis como las de oxidación, corresponderían a Fase I del metabolismo, y las de glucuroconjugación, sulfonación y acetilación, a Fase II.

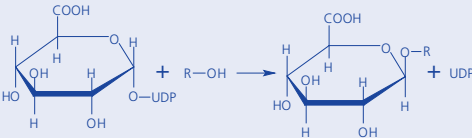
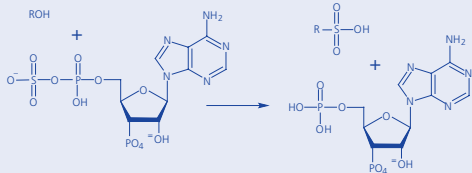
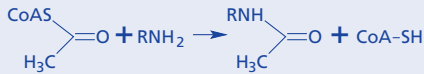
Generalidades del citocromo P450

Tabla 2. Principales reacciones de biotransformación [modificado de (35)]

	Reacción	Ejemplo
1. Reacciones oxidativas		
N-Desalquilación	$\text{RNHCH}_3 \longrightarrow \text{RNH}_2 + \text{CH}_2\text{O}$	Imipramina, diazepam, codeína, eritromicina, morfina, tamoxifeno, teofilina
O-Desalquilación	$\text{ROCH}_3 \longrightarrow \text{ROH} + \text{CH}_2\text{O}$	Codeína, indometacina, dextrometorfán
Hidroxilación alifática	$\text{RCH}_2\text{CH}_3 \longrightarrow \text{R}-\overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_3$	Tolbutamida, ibuprofeno, pentobarbital, meprobamato, ciclosporina, midazolam
Hidroxilación aromática		Fenilhidantoina, fenobarbital, propranolol, fenilbutazona, etinilestradiol
	$\text{RNH}_2 \longrightarrow \text{RNHOH}$	Clorfeniramina, dapsona
N-Oxidación		Guanetidina, quinidina, acetaminofén
S-Oxidación		Cimetidina, clorpromazina, tioridazina
Desaminación	$\text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_3 \longrightarrow \text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\overset{\text{OH}}{\text{C}}}}-\text{CH}_3 \longrightarrow \text{R}-\overset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{CH}_3 + \text{NH}_3$	Diazepam, anfetamina
2. Reacciones de Hidrólisis		
	$\text{R}^1-\overset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}^2 \longrightarrow \text{R}^1\text{COOH} + \text{R}^2\text{OH}$	Procaina, aspirina, clofibrato
	$\text{R}^1-\overset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{NHR}^2 \longrightarrow \text{R}^1\text{COOH} + \text{R}^2\text{NH}_2$	Lidocaina, procainamida, indometacina

Generalidades del citocromo P450

Tabla 2. Principales reacciones de biotransformación [modificado de (35)]. (Continuación)

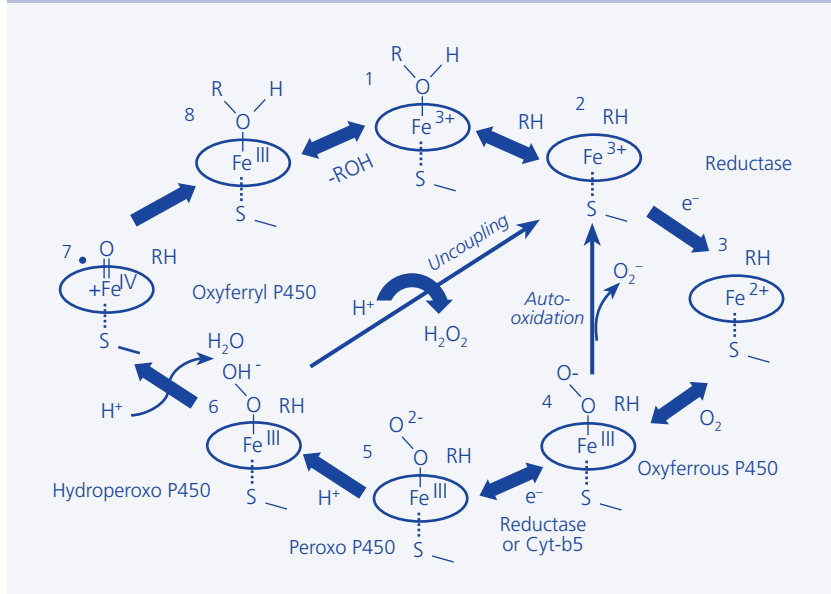
	Reacción	Ejemplo
3. Reacciones de Conjugación		
Glucurono-conjugación		Acetaminofén, morfina, diazepam
Sulfonación		Acetaminofén, esteroides, metildopa
Acetilación		Sulfonamida, isoniazida, dapsona, clonazepam

Es también característico del citocromo P450 su capacidad de inducibilidad por sus propios sustratos, observándose que sujetos tratados con ciertos fármacos, desarrollan una tolerancia a los mismos, de forma tal que es necesario incrementar las dosis de estos para obtener la misma acción terapéutica. Este hecho fue constatado en estudios con animales de experimentación y se comprobó la existencia de tipos o grupos de inductores que actuaban de forma selectiva sobre diferentes enzimas P-450 (36).

Tal como se muestra en la figura 13, los P450 siguen un ciclo de reacción generalmente aceptado. El estado de reposo del citocromo presenta un grupo hemo de bajo spin hexacoordinado (6c-Ls) [1]. El sexto ligando axial es una molécula de agua unida débilmente. La unión del sustrato desplaza el ligando del agua para obtener un grupo hemo de alto spin pentacoordinado-estado funcional- (5c-Hs) [2]. El cambio de bajo spin a alto spin provoca en general un aumento de potencial redox del hemo, que facilita la transferencia de electrones de su pareja redox al P450. En este momento, el P450 férrico 5c-Hs se reduce mediante su pareja redox, para producir hemo ferroso [3], al que se une el oxígeno para producir un intermedio oxiferroso [4]. P450 oxiferroso es el primero de una serie de intermediarios «oxi» que conducen a la activación del dioxígeno. El segundo electrón se transfiere en este momento desde la

Generalidades del citocromo P450

Figura 13. Tomada de (12)



pareja redox al intermediario oxiferroso, para obtener un intermedio peroxo [5], que posteriormente se protona dando un intermedio hidroperoxo [6]. Para finalizar se produce la ruptura heterolítica del enlace O-O, con la formación del intermediario oxiferrilo altamente reactivo denominado Compuesto I por analogía con el grupo hemo de las peroxidasas (12).

A continuación exponemos gráficamente el ciclo catalítico del citocromo P450 tal como se ha detallado anteriormente. Debido a su complejidad hemos elaborado en la figura 14, un ciclo esquemático con los aspectos más relevantes para entender su funcionamiento.

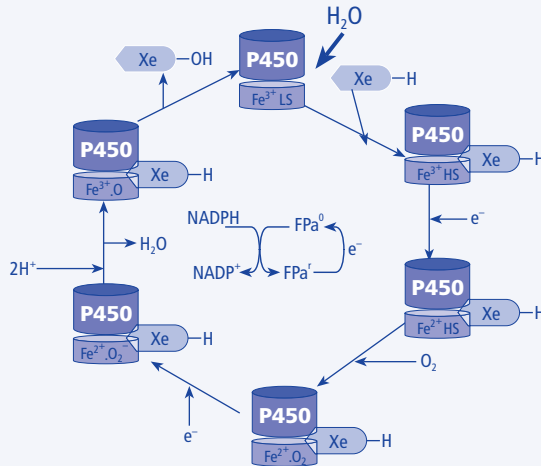
El ciclo catalítico lleva asociado un sistema de transporte de electrones, y de oxígeno molecular:



Cuando el sistema está completamente acoplado, este opera con una eficiencia catalítica completa, de tal manera que los equivalentes redox, y el oxí-

Generalidades del citocromo P450

Figura 14. Esquema de la oxidación de un xenobiótico por el citocromo P450



El ciclo catalítico del P450 supone la unión del sustrato al sitio activo del enzima, lo cual provoca el desplazamiento de agua. Este proceso de desolvatación está asociado con una alteración en el estado de equilibrio del spin del hierro hemo, el cual cambia a hierro férrico de alto spin (Fe^{3+} HS) (37). El centro catalítico del enzima en su forma oxidada (Fe^{3+}), capta el xenobiótico (Xe) en la posición del solvente (normalmente agua) de forma regio y estereoespecífica (se une a un punto concreto del sustrato, originando exclusivamente un esteroisómero). El cambio conformational en el P450 provoca una disminución del potencial de oxido-reducción, facilitando la transferencia de electrones desde la molécula de reductasa (38); en un tercer estadio y mediante la captación de un átomo de oxígeno molecular se forma un complejo superóxido ($\text{Fe}^{2+} \cdot \text{O}_2^-$) el cual se vuelve a reducir mediante el aporte de un segundo electrón formando una especie activada de oxígeno ($\text{Fe}^{2+} \cdot \text{O}_2^-$) capaz de unirse a dos protones con la liberación de una molécula de agua ($\text{Fe}^{3+} \cdot \text{O}^- + \text{H}_2\text{O}$). Esta última especie oxigenada del complejo pasa a la forma reducida del citocromo P450 liberando el metabolito oxidado del Xenobiótico, el cual ve aumentada su hidrosolubilidad y es por tanto capaz de ser excretado, bien directamente o bien tras sufrir una reacción de fase II (sulfonación, glucuronoconjugación, acetilación) (35, 14, 31).

geno consumido están en relación estequiométrica con los productos hidroxilados (39).

Cuando el sistema está desacoplado, se produce la formación de H_2O , H_2O_2 , O_2^- . Los dos últimos pueden convertirse en radicales OH altamente tóxicos en presencia del Fe del grupo hemo. Estos radicales libres pueden causar efectos tóxicos sobre la célula impredecibles. Este es uno de los motivos por el cual es importante conocer la base molecular del sistema acoplamiento-desacoplamiento, y así, elegir sustratos del P450, que no sufran este proceso (40).

Generalidades del citocromo P450

6. Isoenzimas del citocromo P450 en humanos

El citocromo P-450 está compuesto por enzimas ampliamente distribuidas en la naturaleza, cuya función primordial fue en un inicio, el metabolismo de los compuestos endógenos. La evolución a la que se ven sometidas todas las especies fue la responsable de la adaptación del citocromo al metabolismo de sustratos externos (fármacos o xenobióticos). Esta evolución nos ha llevado a la situación actual, en la que existen familias de P-450 que siguen catalizando la transformación de moléculas endógenas, mientras que otras enzimas se han «especializado» en el metabolismo de compuestos exógenos (40).

Los citocromos P450 se encuentran ampliamente distribuidos por los diferentes tejidos del organismo, debido, probablemente al gran número de funciones que realizan. A pesar de existir algunos citocromos P450 que se localizan exclusivamente en tejidos extrahepáticos (por ejemplo, CYP1A1 o CYP2F1), es en tejido hepático donde alcanzan su máxima expresión. Las familias 1, 2 y 3 son las que catalizan la mayor parte de las reacciones de biotransformación de fármacos. El 70% del contenido hepático de citocromos P450 corresponde a estas familias. Las principales enzimas del citocromo biotransformadoras son CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C8, 2C19, 2D6, 2E1, y 3A443, siendo CYP2D6 y CYP3A4 las dos más importantes a nivel de biotransformación y CYP3A4 y CYP2C, los más abundantes representando un 30% y un 20% respectivamente en hígado (tabla 3).

Tabla 3. Principales P450 de metabolización de fármacos en el hígado humano [tomado de (14)]

CYP	% en hígado (41)	Expresión	Metabolismo de fármacos (%) (42)	Activación de precarcinógenos
1A2	10	Inducible, polimórfico	4	Sí
2A6	5	Polimórfico	<1	Sí
2B6	1	Inducible	<1	
2C8	<1	Polimórfico	<1	
2C9	15	Polimórfico	11	Sí
2C19	4	Polimórfico	6	
2D6	4	Polimórfico	25	
2E1	10	Inducible, polimórfico	4	Sí
3A4	30	Inducible, polimórfico	50	Sí
3A5	<1	Inducible, polimórfico	<1	

Generalidades del citocromo P450

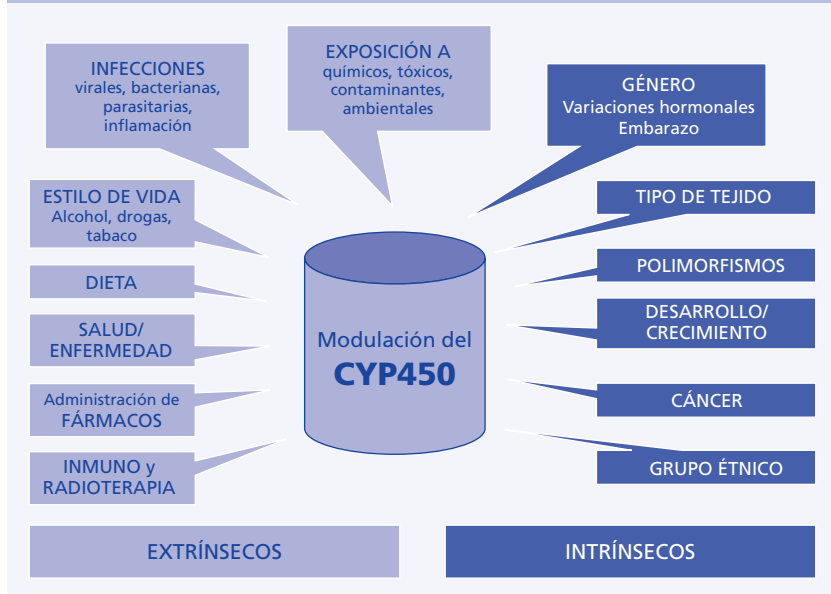
7. Factores moduladores de la actividad de los citocromos P450

El patrón de citocromos P450 de un individuo se encuentra regulado no sólo a nivel genético, sino que también está modulado por otros factores:

- **Edad:** Parece ser que existen diferencias en la actividad del citocromo P450 dependiendo de la edad del individuo, si bien los estudios realizados entre poblaciones de diferentes edades no han aportado resultados significativos (44, 45).
- **Sexo** (46): En primates no humanos y roedores se han observado variaciones ligadas al sexo, pero es sobre todo en ratas donde se han encontrado citocromos P450 que solo aparecen en ratas macho y otros que solo aparecen en ratas hembras (47). El origen de estas diferencias parece ser la existencia de un control hormonal sexo-dependiente de la expresión de los P-450.
- **Fisiología** (48, 49): Diferentes estados fisiológicos como el embarazo o el ayuno, alteraciones fisiopatológicas que afectan a la homeostasis general del organismo, entre los que se incluyen desequilibrios hormonales, procesos inflamatorios, obesidad, neoplasias, etc. o enfermedades hepáticas, tales como esteatosis, cirrosis o tumores hepáticos modifican la expresión del citocromo P450 y su capacidad funcional.
- **Dieta:** La influencia de la dieta y del estado nutricional del individuo ha sido ampliamente estudiada (50, 51). La expresión del citocromo P450 puede modularse por cambios en los niveles de macro o micronutrientes, por el ayuno y la reducción en la ingesta calórica, o por la presencia en los alimentos de otros componentes que no pueden considerarse como nutrientes y que pueden producir inducción o inhibición de los citocromos P450. Entre estos últimos se pueden incluir aditivos alimentarios (conservantes, estabilizantes, colorantes, antioxidantes, etc.), compuestos indólicos presentes en ciertos vegetales, la cafeína, flavonoides naturales de ciertos vegetales, terpenoides y una larga lista de compuestos a la que habría que añadir los productos que se generan como consecuencia de la preparación de los alimentos a elevadas temperaturas. Mención especial merecen los efectos inductores producidos por el alcohol y ciertos componentes del humo del tabaco (14).

Generalidades del citocromo P450

Figura 15. Factores moduladores de la actividad del CYP450



- **Xenobióticos:** La ingesta, inhalación o contacto de otros xenobióticos tales como contaminantes ambientales, pesticidas, cosméticos, productos tóxicos o los propios fármacos provocan posibles efectos inductores e inhibidores en los citocromos P450.

8. Bibliografía

- (1) Estabrook RW. (2003): A passion for P450s (remembrances of the early history of research on cytochrome P 450. pp 1465-1467.
- (2) Omura, T. & Sato R. (1964): The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem*, **239**, 2370-2378.
- (3) Black SD and Coon MJ (1986): En *Cytochrome P450*, pp 161-216, P Ortiz de Montellano, ed. Plenum, New York.
- (4) Ladero JM, García-Agúndez JA, Benítez J.: Enzymatic polymorphisms and lung cancer. *Med Clin*. Barcelona 1998; 111:465-470.

Generalidades del citocromo P450

- (5) Ding X, Kaminsky LS.: Human extrahepatic cytochromes p450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003; 43: 149-73.
- (6) Stasiecki P, Oesch F, Bruder G, Jarasch ED, Franke WW.: Distribution of enzymes involved in metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons among rat liver endomembranes and plasma membranes. *Eur J Cell Biol*, 1980; 21:79-92.
- (7) Oesch F, Bentley P, Golan M, Stasiecki P.: Metabolism of benzo(a)pyrene by subcellular fractions of rat liver: evidence for similar patterns of cytochrome P-450 in rough and smooth endoplasmic reticulum but not in nuclei and plasma membrane. *Cancer Res*, 1985; 45: 4838-4843.
- (8) Lee CP, Schatz G, Dallner, G. (eds) (1981): *Mitochondria and Microsomes*, Addison-Wesley Reading, Massachusetts.
- (9) Nebert DW, Negishi M, Lang MA, Hjelmelend LM, Eisen HJ.: The Ah locus, a multigene family necessary for survival in a chemically adverse environment: comparison with the immune system. *Adv Genet*, 1982; 21:1-52.
- (10) Gunsalus IC, Wagner GC.: Bacterial P450 cam methylene monooxygenase components: cytochrome m, putidaredoxin, and putidaredoxin reductase. *Methods Enzymol*, 1978; 52: 166-88.
- (11) Gunsalus IC, Blattacharyya PK, Suhara K.: Bioregulation of binding and dynamics: the cytochrome P-450 CAM model. *Curr Top Cell Regul*, 1985; 26:295-309.
- (12) Hamdane D; Zhang H, Hollenberg P; *Photosynth Res*. 2008; 98(1-3): 657-666.doi: 10.1007/s11120-008-9322-1.
- (13) Nelson, DR.: Cytochrome P450 nomenclature, 2004. *Methods Mol Biol* 2006; 320:1-10.
- (14) Donato, MT.: ¿Qué es el citocromo P-450, y cómo funciona?. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*; 2004. P 32-43
- (15) Nelson, DR (2009): The Cytochrome P450 Homepage. *Human Genomics* 4, 59-65.
- (16) Nelson, D.R. (2003): Comparison of P-450s from human and fugu: 420 million years of vertebrate P-450 evolution. *Arch Biochem Biophys* 409, 18-24.
- (17) Werck-Reichhart, D. & Feyereisen R. (2001): Cytochromes P-450: a success story. *Gen Biol* 1, 1-8.

Generalidades del citocromo P450

- (18) Graham, S.E. & Peterson, J.A. (1999): How similar are P-450s and what can their differences teach us. *Arch Biochem Biophys* **369**, 24-29.
- (19) Ortiz de Montellano, P.R. & De Voss J.J. (2002): Oxidizing species in the mechanism of cytochrome P-450. *Nat Prod Rep* **19**, 477-493
- (20) Sirim D, et al.: Prediction and analysis of the modular structure of cytochrome P450 monooxygenases. *BMC Structural Biology*, 2010 10:34.
- (21) Williams PA, Cosme J, Sridhar V, Johnson EF, Mc Ree DE: Microsomal cytochrome P450 2C5: comparison to microbial P450s and unique features. *J Inorg Biochem*, 2000, 81: 183-190.
- (22) Gotoh, O. (1992): Substrate recognition sites in cytochrome P-450 family 2 (CYP2) protein from comparative analysis of amino acid and coding nucleotide sequences. *J Biol Chem* **267**, 83-90.
- (23) Williams, P.A., Cosme, J., Sridhar, Y., Johnson, E.F. & McRee, D.E. (2000): Mammalian microsomal cytochrome P-450 monooxygenase: structural adaptations for membrane binding and functional diversity. *Mol Cell* **5**, 121-131.
- (24) Chapple, C. (1998): Molecular-genetic analysis of plant cytochrome P-450-dependent monooxygenases. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**, 311-343.
- (25) Nebert, D.W., Adesnik, M., Coon, M.J., Estabrook, R.W., González, F.J., Guengerich, F.P., Gunsalus, J.C., Johnson, E.F., Kemper, B. Levin W, Phillips, J.R., Sato, R. & Waterman, M.R. (1987): The P-450 gene superfamily: recommended nomenclature. *DNA* **6**, 1-11.
- (26) Mansuy D: The great diversity of reactions catalyzed by cytochrome P450. *Comp Biochem Physiol Part C* 1998, 121: 5-14.
- (27) Hasler JA et al.: Human Cytochromes P450. *Mol Aspects Med*, 1999, 20:1-137.
- (28) Feyereisen R: Insect Cytochrome P450 enzymes. *Annu Rev Entomol*, 1999, 44: 507-533.
- (29) Kahn R, Durst F: Function and evolution of plant cytochrome P450. *Recent Adv Phytochem*, 2000, 34: 151-189.
- (30) González FJ, Kimura S: Role of gene knockout mice in understanding the mechanisms of chemical toxicity and carcinogenesis. *Cancer Lett*, 1999, 143: 199-204.
- (31) Florez, J.: *Farmacología Humana*, 3.^a ed., Masson-Salvat Medicina Garsi, 74-75.

Generalidades del citocromo P450

- (32) Guengerich, P.F: Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS Journal* 2006; 8 (1) Article 1 (<http://www.aapsj.org>). P.E102-E103.
- (33) Williams JA, Hyland R, Jones BC, et al.: Drug-drug interactions for UDP-glucuronosyltransferase substrates: a pharmacokinetic explanation for typically observed low exposure AUC_i/AUC ratios. *Drug Metab Dispos.* 2004;32: 1201-1208.
- (34) Wienkers LC, Heath TG. Predicting in vivo drug interactions from in vitro discovery data. *Nat Rev Drug Discov.* 2005; 4:825-833.
- (35) Goodman & Gilman: *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, IX ed. Sección I, pag. 13-14.
- (36) Okey, A.B. (1990): Enzyme induction in the cytochrome P-450 system. *Pharm Ther* 45, 241-298.
- (37) Lewis DFV, Pratt JM: The P450 cycle catalytic cycle and oxygenation mechanism. *Drug Metab. Rev.* 30, 789-786 (1998).
- (38) Hlavica P, Lewis DFV: Allosteric phenomena in cytochrome P450- catalyzed monooxygenations. *Eur. J. Biochem.* 268, 4817-4832 (2001).
- (39) Narasimhulu, S.: Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2010 January; 6(1): 1-15. Doi: 10.1517/17425250903329095.
- (40) Nelson DR.: Cytochrome P-450 and the individuality of species. *Arch Biochem Biophys*, 1999; 369: 1-10.
- (41) Shimada, T, Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y. & Guengerich, F.P. (1994): Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 japanese and 30 caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 270, 4 14-423.
- (42) Clarke, S.E. (1998): In vitro assessment of human cytochrome P-450. *Xenobiotica* 28, 1167-1202.
- (43) Hickman D, Wang JP, Wang Y, Unadkat JD.: Evaluation of the selectivity of in vitro probes and suitability of organics solvents for the measurements of human cytochrome P450 monooxygenase activities. *Drug Metab Dispos* 1998; 26: 207-15.
- (44) Blanco, J.G., Harrison, P.L., Evans, W.E. & Relling, M.V. (2000) Human cytochrome P-450 maximal activities in pediatric versus adult liver. *Drug Metab Dispos* 28, 379-382.

Generalidades del citocromo P450

- (45) Gow, P.J., Ghabrial, H., Smallwood, R.A., Morgan, D.J. & Ching, M.S. (2001): Neonatal hepatic drug elimination. *Pharmacol Toxicol* **88**, 3-15.
- (46) Meibohm, B., Beierle, I. & Derendorf, H. (2002): How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet* **41**, 329-342
- (47) Mugford, C.A. & Kedderis, G.L. (1998): Sex-dependent metabolism of xenobiotics. *Drug Metab Rev* **30**, 441-498.
- (48) Pelkonen, O. & Breimer, D.D. (1994): Role of environmental factors in the pharmacokinetics of drugs: considerations with respect to animal models, P-450 enzymes, and probe drugs. In: Welling PG, Balant LP editors. *Handbook of experimental pharmacology*, vol 110. Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 289-322.
- (49) Kotlyar, M. & Carson, S.W. (1999): Effects of obesity on the cytochrome P-450 enzyme system. *Int J Clin Pharmacol* **37**, 8-19.
- (50) Walter-Sack, I. & Klotz, U. (1996): Influence of diet and nutritional status on drug metabolism. *Clin Pharmacokinet* **31**, 47-64.
- (51) Ioannides C. (1999): Effect of diet and nutrition on the expression of cytochromes P-450. *Xenobiotica* **29**, 109-154.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

María Asunción de Sande García

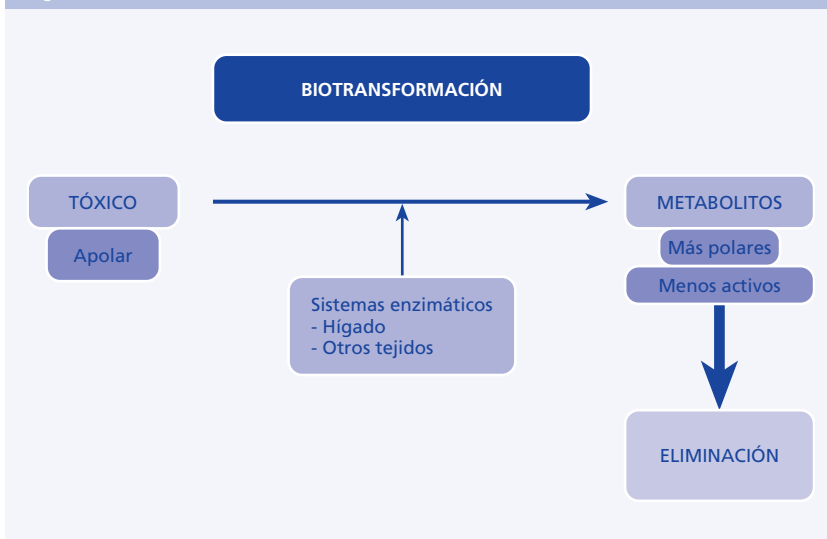
1. Aspectos farmacológicos del citocromo P-450

1.1. Reacciones Involucradas en la Biotransformación de Fármacos

La biotransformación o metabolismo (figura 1) consiste en un conjunto de reacciones encaminadas a dotar a los xenobióticos, de la hidrosolubilidad suficiente para ser eliminados del organismo con mayor facilidad. Para ello se necesita la introducción de grupos funcionales en la molécula que aumenten la polaridad de la misma, lo que se consigue gracias a las reacciones de Fase I o Funcionalización (1).

Como ya hemos adelantado, estas reacciones se clasifican en reacciones de funcionalización o reacciones de **Fase I** y reacciones de conjugación o **Fase II**. Tienen lugar fundamentalmente en la fracción microsomal hepática (1) (retículo endoplásmico liso de los hepatocitos), no obstante, también ocurren en otros tejidos como SNC, riñón, pulmón, intestino, aunque siempre en menor proporción que en el hígado.

Figura 1. Biotransformación de fármacos



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Reacciones de Fase I (1)

Son el conjunto de reacciones encaminadas a aumentar la polaridad de la molécula introduciendo grupos OH, NH₂ y COOH. Estos grupos funcionales propician las posteriores reacciones de conjugación (Fase II) de las que resultan ácidos y bases orgánicas fuertes. El producto final resultante es más hidrosoluble y fácilmente eliminable.

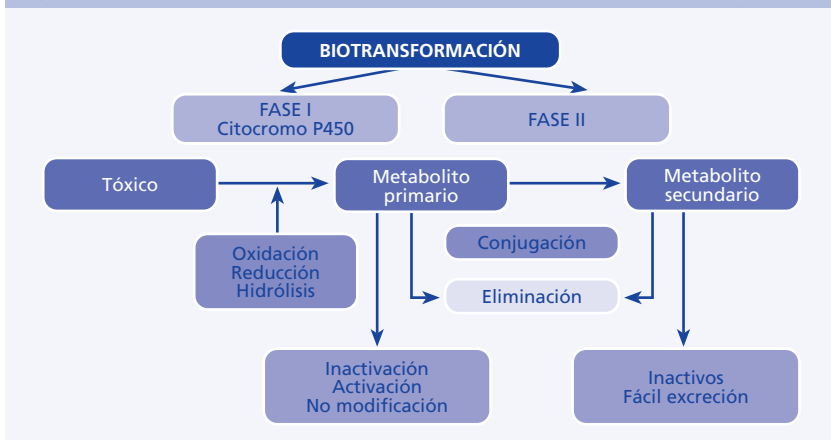
Las reacciones de Fase I pueden ser:

- **Reacciones de oxidación.** Tienen lugar preferentemente en la fracción microsómica del hígado y de otros tejidos, y en menor grado en la fracción mitocondrial.
- **Reacciones de reducción.** Tienen lugar en la fracción microsómica.
- **Reacciones de hidrólisis.** Tienen lugar en el plasma y diversos tejidos.

Los cambios producidos por estas reacciones pueden tener diferentes resultados (1) (figura 2):

- Activación de un profármaco.
- Conversión de un producto activo en otro activo, cuya actividad puede ser similar o distinta de la del fármaco original.
- Conversión de un producto activo en otro activo, cuya actividad es tóxica.
- Inactivación.

Figura 2. Reacciones de biotransformación de fármacos. Modificada de www.ugr.es



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

• Reacciones de oxidación (1):

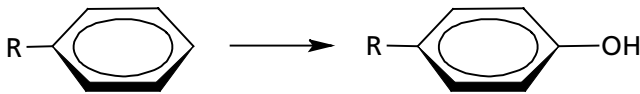
Se puede decir que las reacciones enzimáticas más importantes que intervienen en la fase I del metabolismo de los fármacos son las biotransformaciones oxidativas catalizadas por las enzimas microsomales hepáticas (2).

Son reacciones muy variadas, y pueden afectar a diferentes radicales. A continuación se expone un resumen con las principales.

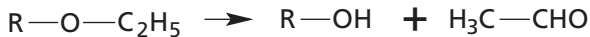
- a) Hidroxilación de cadenas laterales alifáticas, en las que el producto es un alcohol, que posteriormente puede convertirse en aldehído:



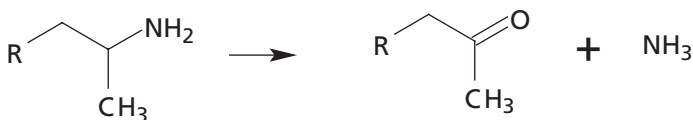
- b) Hidroxilación de un anillo aromático:



- c) Desalquilación oxidativa de grupos alquilo asociados a grupos N, O y S, en los que los radicales alquilo se convierten en aldehídos:



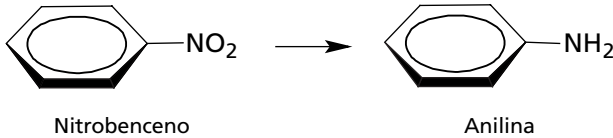
- d) Desaminación oxidativa, en la que el oxígeno sustituye a un grupo amino (NH_2). No debe confundirse con la monoaminación oxidativa, que es una reacción mitocondrial:



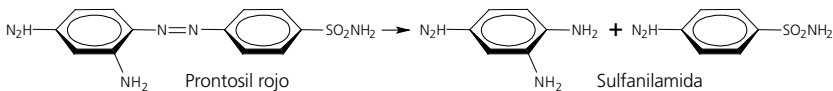
- ## Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.
- ### Importancia clínica

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

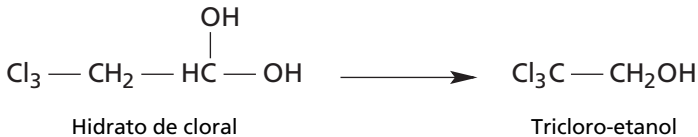
NADPH citocromo c-reductasa, xantinooxidasa, y una reductasa no identificada.



- b) Azorreducción, gracias a la cual se obtuvo desde el prontosil, la sulfanilamida, primera sulfamida. Puede tener lugar en el microsoma hepático con o sin intervención del P450, en otros tejidos, y en bacterias intestinales.



- c) Reducción de aldehídos a alcoholes por alcohol deshidrogenasas.



• Reacciones de hidrólisis (1)

Producidas por hidrolasas ampliamente distribuidas en plasma y tejidos. Pueden ser:

- a) Esterasas.
- b) Amidasas.
- c) Glucosidasas.
- d) Peptidasas.

Las enzimas mayormente implicadas en las oxidaciones de fase I son las monooxigenasas u oxidasas de función mixta, ampliamente distribuidas. En

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

estas reacciones, un átomo de la molécula de oxígeno es incorporado al sustrato orgánico, y el otro es reducido y combinado con iones hidrógeno para formar agua según la siguiente reacción:



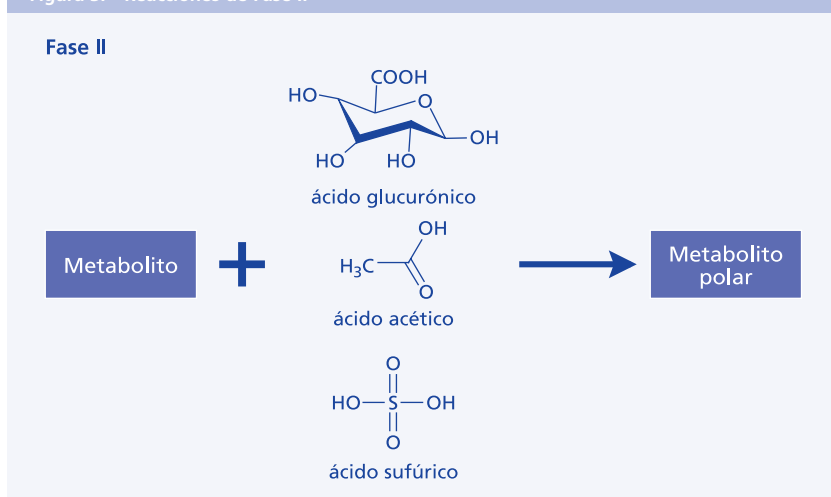
Las monooxigenasas dependientes del citocromo P450, son las que se encuentran implicadas mayoritariamente en las reacciones de fase I del metabolismo.

Reacciones de Fase II

Las reacciones de **fase II** o de conjugación, convierten los metabolitos intermedios procedentes de la fase I en productos fácilmente eliminables por el organismo (figura 2). Tienen lugar sobre todo en el hígado aunque también en otros tejidos (1).

El metabolito procedente de la fase I, se acopla a un sustrato endógeno que puede ser ácido glucurónico, acético o sulfúrico (figura 3). Los productos resultantes, son fuertemente polares, inactivos, y se excretan con rapidez por orina y por heces.

Figura 3. Reacciones de Fase II



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

A continuación, en las tablas 1 y 2, se resumen las principales reacciones de cada fase.

Tabla 1. Reacciones de Fase I (reacciones de funcionalización)
Oxidación (sistema microsómico hepático)
Oxidación alifática Hidroxilación aromática N-desalquilación O-desalquilación S-desalquilación Epoxidación Desaminación oxidativa Formación de sulfóxidos Desulfuración N-oxidación y N-Hidroxilación
Oxidación (mecanismos no microsómicos)
Oxidaciones de alcohol y aldehídos Oxidación de purinas Desaminación oxidativa (monoaminoxidasa y diaminooxidasa)
Reducción
Azorreducción Nitrorreducción
Hidrólisis
Hidrólisis de ésteres y amidas Hidrólisis de enlaces peptídicos Hidratación de epóxidos

Tabla 2. Reacciones de Fase II (reacciones de conjugación)
Glucuronidación Acetilación Formación de ácido mercaptúrico N, O y S-metilación Transulfuración

Tablas 1 y 2 modificadas de (1).

1.2. Sistema monooxigenasa del citocromo P-450

El sistema de monooxigenasas es un complejo multienzimático cuya oxidasa final es una hemoproteína que se denomina citocromo P-450 (CYP). Este sistema se encuentra en diferentes tejidos: riñón, pulmón, piel, intestino, corteza adrenal, testículos, placenta; siendo particularmente activo en el hígado (3).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

Además de participar en el metabolismo de sustratos de naturaleza exógena como drogas, pesticidas, procarcinógenos, anestésicos, solventes orgánicos, etc. (4), el CYP interviene en el metabolismo de sustratos endógenos de gran importancia como el colesterol, los ácidos biliares, las hormonas esteroideas y los ácidos grasos (5).

En los mamíferos, el CYP se encuentra presente en la mitocondria y en otras membranas celulares, siendo más abundante en los microsomas del retículo endoplásmico liso (3) (figura 4).

La denominación citocromo P-450 se debe a que esta hemoproteína en su forma reducida y unida al monóxido de carbono forma un complejo de color rosa que presenta una absorbancia a los 450 nm (7).

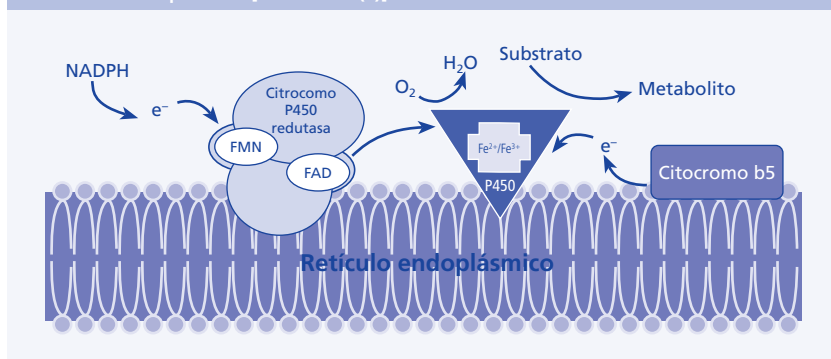
El 50% de los fármacos utilizados por el hombre se metaboliza por estas enzimas, y entre sus características se encuentra la posibilidad de ser inducibles por las mismas drogas que van a metabolizar.

En la expresión de estas enzimas y en su actividad influyen diversos factores: edad, sexo, dieta, especie, tejido, estado hormonal, y a diferencia de las enzimas clásicas, tienen especificidad superpuesta para algunos sustratos (8).

1.3. Citocromo P-450 y metabolismo

Como ya hemos expuesto con anterioridad, el CYP cataliza la biotransformación de un elevadísimo número de fármacos fundamentalmente en el hígado,

Figura 4. Localización del sistema citocromo P-450 en la membrana del retículo endoplásmico [tomada de (6)]



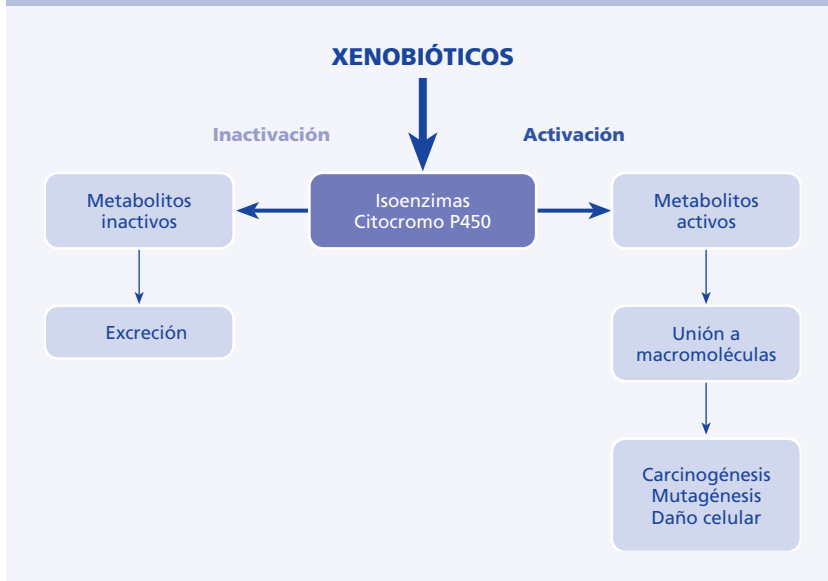
Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

pero también participa en el metabolismo de otros compuestos de naturaleza endógena tanto en hígado como en otros órganos. La gran cantidad de reacciones químicas catalizadas y la amplia especificidad de sustrato característico de estas enzimas, hacen del CYP uno de los catalizadores más versátiles conocidos (9).

Generalmente, los P450s presentes en especies no animales tienen un papel en el metabolismo de sustratos endógenos. En los mamíferos, su papel en el metabolismo de sustancias endógenas incluye la biosíntesis de hormonas esteroideas, prostaglandinas, así como el metabolismo de ácidos grasos, oxidación de lípidos, e hidrólisis de la vitamina D₃ (10, 11, 12) (figura 6).

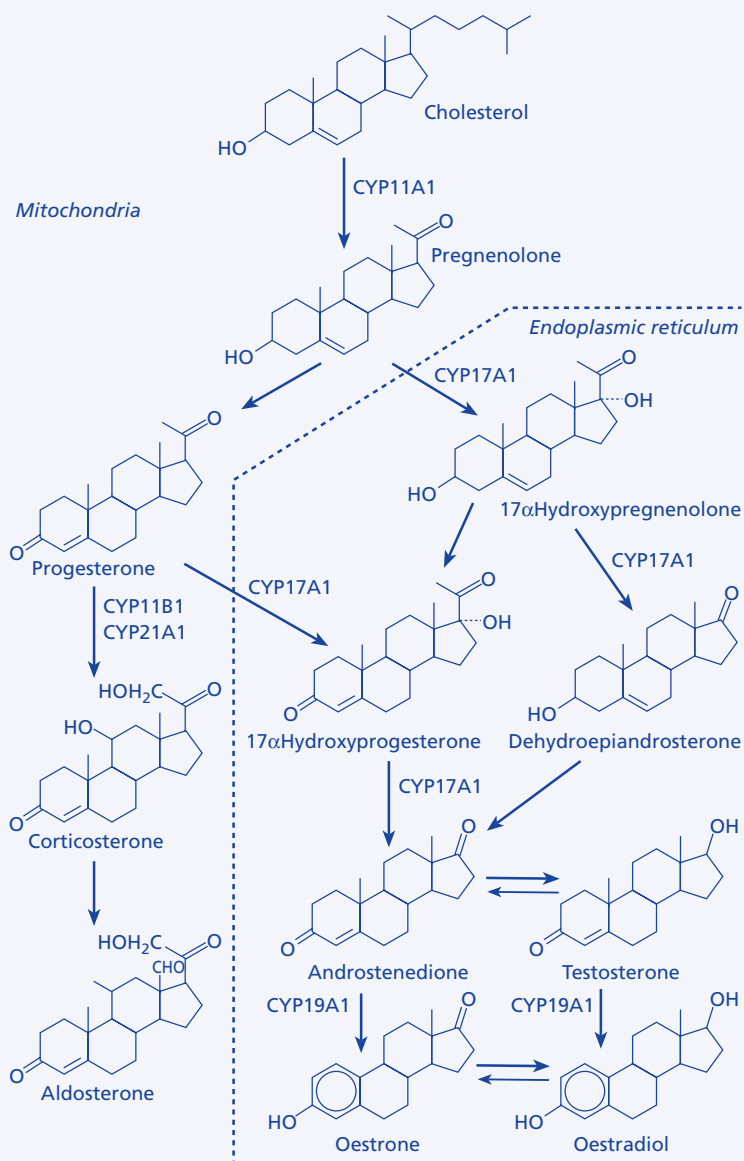
Aunque la principal función del CYP es participar en reacciones de detoxificación transformando un compuesto farmacológicamente activo en otro inactivo excretado por la orina, también interviene en procesos de activación metabólica (figura 5); de este modo compuestos inertes y poco reactivos se convierten en otros de gran reactividad química que son tóxicos para el organismo.

Figura 5. Reacciones de activación o inactivación mediadas por enzimas citocromo P-450 [tomada de (13)]



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Figura 6. Biosíntesis de hormonas esteroideas [tomada de (12)]



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

En cuanto a las enzimas responsables del metabolismo, el hígado humano contiene cerca de 20 enzimas P-450s relacionadas con la biotransformación de xenobióticos, pero no todas ellas participan con igual intensidad en el metabolismo de fármacos tal como se refleja en la figura 7.

A pesar de la gran cantidad de enzimas del citocromo P450 que se han identificado hasta el momento, podemos asegurar, que las familias génicas 1, 2, y 3 del citocromo P450 (CYP1, CYP2 y CYP3) codifican las enzimas que intervienen en la mayor parte de las biotransformaciones de los fármacos. Las demás familias tienen importancia en el metabolismo de compuestos endógenos, esteroides y ácidos grasos (15). Sin embargo, se ha visto, que aquellos citocromos involucrados en el metabolismo de sustancias exógenas (CYP1, CYP2, y CYP3), también catalizan sustratos endógenos, particularmente esteroides (16).

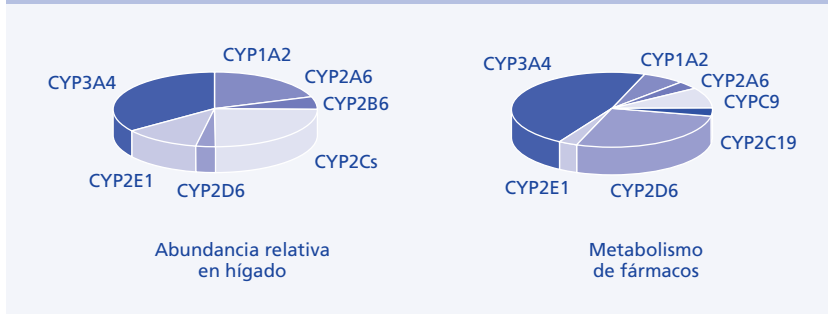
A continuación, enumeraremos brevemente las características de los principales miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3 implicados en el metabolismo.

• Familia CYP1

Incluye dos subfamilias, 1A y 1B; a su vez 1A presenta dos citocromos muy parecidos, **CYP1A1** y **CYP1A2**. La subfamilia 1B solamente el **CYP1B1**.

Esta familia está representada por la aril hidrocarburo hidroxilasa, responsable de la activación metabólica de numerosos hidrocarburos policíclicos am-

Figura 7. Enzimas P-450 hepáticos implicados en el metabolismo de fármacos [tomado de (14)]



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

bientales, promutágenos y procarcinógenos, como el benzopireno, presentes en el humo del cigarrillo y otros productos de combustión.

En cuanto al metabolismo de drogas, el miembro más relevante es el **CYP1A2** que se encarga de inactivar las metilxantinas, varios antidepresivos y la clozapina. Esta familia está sujeta a inducción, especialmente por tóxicos ambientales (17, 18, 19, 20, 21).

CYP1B1: es el principal enzima del metabolismo de estrógenos carcinogénicos y está involucrado en la activación metabólica de procarcinógenos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (22).

- **Familia CYP2**

Está representada en los tejidos, especialmente el hígado, por 5 subfamilias. Las subfamilias 2A y 2B tienen escasa importancia para el metabolismo de drogas, en cambio, las subfamilias 2C, 2D y 2E son más relevantes.

CYP2A6: constituye alrededor del 5-10% del total CYP hepático microsomal en el hombre. Aunque la cumarina es su principal sustrato, muchos tóxicos y pro-carcinógenos como el metilterbutiléter, la nicotina, la N-nitrosodietilamina y la N-nitrosobenzilmetilamina también lo son (23).

CYP2B6: lleva a cabo el metabolismo de compuestos como la nicotina, el bupropión, y muchas toxinas y carcinógenos. Su expresión en el cerebro es específica de determinadas regiones y se localiza tanto en neuronas como en astrocitos. Los niveles de CYP2B6 en cerebro se encuentran elevados en fumadores y alcohólicos, alterando de este modo la sensibilidad a fármacos que actúan a nivel central, incrementando la susceptibilidad a toxinas y carcinógenos, y contribuyendo a la tolerancia central de la nicotina (24).

La *subfamilia 2C* contiene al menos siete genes de los cuales, CYP2C9 y CYP2C19 exhiben alto polimorfismo.

El **CYP2C9** constituye un porcentaje importante de la masa metabólica del órgano y es inducible por drogas; metaboliza el anticoagulante warfarina, la fenitoína y algunas sulfonilureas.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

El **CYP2C19** representa la [S]- mefenitoína hidroxilasa y entre otras drogas metaboliza algunos inhibidores de la bomba de protones, citalopram y otros antidepresivos, diazepam y varios antiepilépticos, y el propranolol (17, 18, 19).

La *subfamilia 2D*, a la que pertenece el **CYP2D6**, a pesar de su relativamente baja contribución a la masa metabólica del hígado (sólo el 2% del total), metaboliza entre el 20 y 25% de los fármacos, entre ellos fármacos de uso cardiovascular, la mayoría de los neurolépticos, los antidepresivos tricíclicos, ciertos ISRS como la fluoxetina, los inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) y los opiáceos codeína y dextrometorfano; por ello la mayoría de las interacciones entre psicofármacos y fármacos cardiovasculares se observan a este nivel.

El CYP2D6 exhibe alto polimorfismo, especialmente en las poblaciones europeas. Debido a que los polimorfismos solo afectan la capacidad metabólica de las drogas, la enzima carece de función endógena (17, 18, 19).

La *subfamilia 2E*, contiene el **CYP2E1**, que es también inducible. CYP2E1, es una de las enzimas CYP más estudiadas tanto en animales como en humanos, debido a su papel en el metabolismo del etanol y por su participación en la activación metabólica de una serie de procarcinógenos, como N-dimetil nitrosamida y de solventes orgánicos como el tetracloruro de carbono y el benceno (25). El contenido hepático de CYP2E1 es alrededor de 7% de CYP total y también se encuentra presente en el cerebro y pulmón.

• Familia CYP3A

La familia 3 metaboliza casi el 55% de las drogas en uso a través de su miembro más representativo, el CYP3A4, que en el hígado representa el 30% del contenido total de citocromos.

Otros miembros de la familia son, el CYP3A3, el CYP3A7 y el CYP3A5. Todos se hallan agrupados en una zona estrecha del brazo corto del cromosoma 7.

Las enzimas de la familia 3 son inducibles por fármacos y su presencia es clínicamente relevante en la mucosa intestinal (donde participan reduciendo la biodisponibilidad oral de muchos medicamentos) y otros tejidos. Adicionalmente, estos citocromos participan en el metabolismo de esteroides endógenos (17, 18, 19).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

CYP3A4 contribuye fundamentalmente al metabolismo del 50% de los fármacos utilizados actualmente y que sufren metabolismo oxidativo (26). Este citocromo es el más abundante en el hígado humano y también es abundante su expresión en el tracto gastrointestinal. El enorme metabolismo que tiene lugar en las vías gastrointestinales debido al CYP3A4, contribuye a la baja disponibilidad de muchos fármacos que se administran por vía oral.

Por otra parte, el estudio del intestino delgado está adquiriendo un gran interés respecto al metabolismo de fármacos, ya que el conocimiento del CYP intestinal no es tan grande como el del CYP hepático. Existe una elevada variabilidad interindividual en CYP1A2, CYP2A6 y CYP2E1 en duodeno humano, que puede dar lugar a una variable biodisponibilidad de los fármacos utilizados por vía oral, complicando así la terapia farmacológica, especialmente en el caso de fármacos que poseen una estrecha ventana terapéutica (27).

En general podemos concluir que CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 son las principales isoformas del metabolismo de los fármacos y contribuyen al metabolismo oxidativo de más del 90% de los fármacos de uso clínico actual (28).

En la tabla 3 se muestran las principales enzimas CYP metabolizadoras de drogas presentes en el hígado humano, los sustratos utilizados como sondas para su estudio tanto in vivo como in vitro, y alguno de sus inhibidores.

Además de las enzimas indicadas en esta tabla, existen otras enzimas CYP que metabolizan sustratos endógenos y que cumplen importantes funciones fisiológicas en el organismo, por ejemplo, las enzimas de la subfamilia 4A (CYP4A9 y CYP4A11) presentes en gran cantidad en el hígado humano y caracterizadas por participar en el metabolismo de ácidos grasos como el araquidónico (29).

Otros CYP presentes en hígado humano son los pertenecientes a las subfamilias 4B y 4F, 11A y 11B y a las familias 17, 19, 21 y 27 (30, 31).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Tabla 3. Principales enzimas CYP y sus sustratos (sustrato usado como sonda en negrita) [tomado de (13)]			
Enzima		Sustratos in vivo o in vitro	Inhibidores
Familia CYP1			
Subfamilia 1A	1A2	7-etoxiresorufina (sustrato de toda la subfamilia 1A) Cafeína , teofilina Fenacetina (O-demetilación)	Furafillina 7-8-benzoflavona Metoxalem
Familia CYP2			
Subfamilia 2A	2A6	Cumarina (7-hidroxilación) Nicotina	Dietilditiocarbamato Metoxsalem
Subfamilia 2B	2B6	7-bencil-oxiresorufina S-Mefenitoína (N-desmetilación)	Fluoxetina Sertralina
Subfamilia 2C	2C8 2C9 2C19	Paclitaxel, tolbutamida (sustrato de toda la subfamilia 2C) Diclofenaco, warfarina S-Mefenitoína (4-hidroxilación)	Sulfafenazol Sulfafenazol, Fluvoxamina Dietilditiocarbamato
Subfamilia 2D	2D6	Bufuralol (1-hidroxilación) Dextrometorfano (O-desmetilación) Debrisoquina	Quinidina, paroxetina Fluoxetina
Subfamilia 2E	2E1	Cloroxazona (6-hidroxilación) Anilina,acetaminofen, p-nitrofenol	Dietilditiocarbamato Disulfiram,isoniacida
Familia CYP3			
Subfamilia 3A	3A4	Diazepam (sustrato de toda la subfamilia 3A) Midazolam Flunitrazepam, dextrometorfano (N-desmetilación) Testosterona (6-B-hidroxilación) Quinina	Troleandomicina Ketoconazol Fluvoxamina Ciprofloxacino

2. Papel del citocromo P-450 en el metabolismo de fármacos. Interacciones farmacológicas

2.1. Citocromo P-450 y su relación con el metabolismo de fármacos

El citocromo P-450 es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los fármacos. Su expresión está regulada por:

- Factores genéticos: formas polimórficas.
- Factores fisiopatológicos: regulación hormonal, enfermedades.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- Factores ambientales.
- Factores nutricionales.
- Inducción, inhibición.

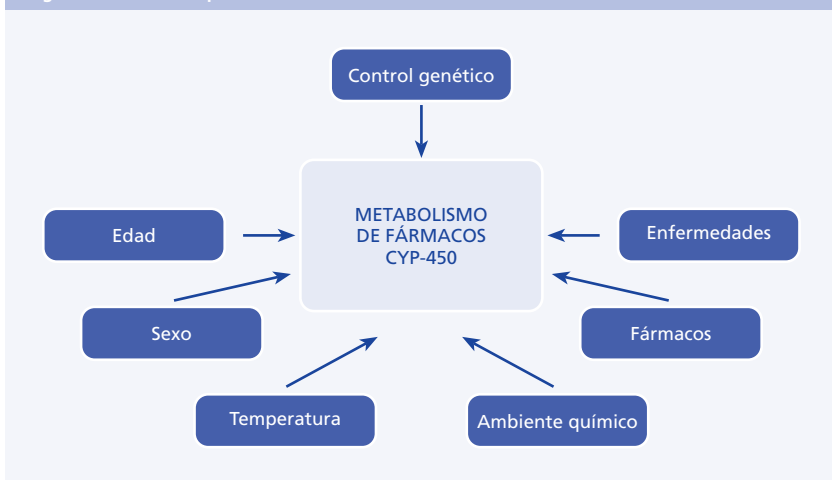
Todos estos factores (figura 8) condicionan que los niveles hepáticos de las enzimas p450 varíen notablemente entre diferentes individuos (32).

Esta variabilidad explica las notables diferencias que en ocasiones se observan en el metabolismo de fármacos, justificando además la aparición de alteraciones en la respuesta farmacológica, así como las diferencias individuales en la susceptibilidad a la acción de tóxicos o carcinógenos (33, 34).

Los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción a los que se ve sometido un fármaco regulan su concentración en el lugar de acción, jugando un papel determinante en su eficacia farmacológica. Un fármaco con una farmacocinética inapropiada puede dar lugar a una respuesta inadecuada o muy variable, que comprometa su uso terapéutico (35). Por otro lado, un fármaco además de eficaz tiene que ser seguro, resultando, la farmacocinética del mismo clave en su efecto tóxico (36).

Por último, el metabolismo hepático de los fármacos tiene una notable influencia sobre su aclaramiento plasmático, y es la causa más frecuente de

Figura 8. Factores que intervienen en el metabolismo de los fármacos



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

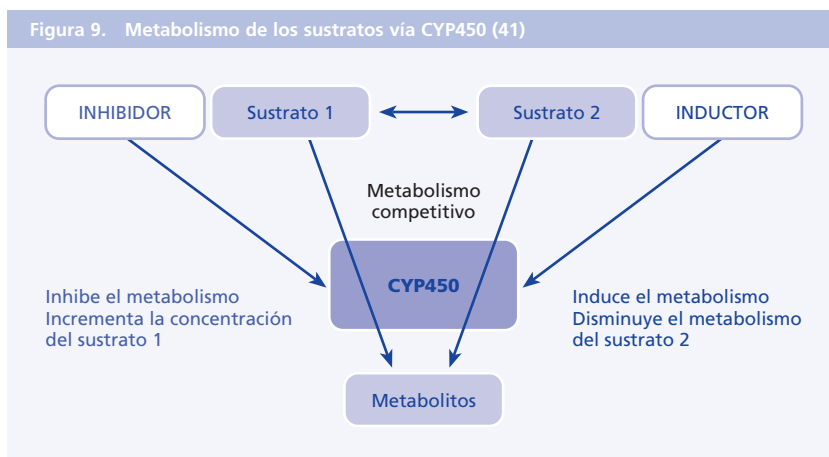
la variabilidad individual que se observa en los parámetros farmacocinéticos (34, 37). Es por tanto uno de los factores con más peso en su biodisponibilidad, su efecto farmacológico y su toxicidad. Es también una de las causas más frecuentes de incompatibilidad y de aparición de interacciones entre fármacos (38).

2.2. Interacciones metabólicas

Durante la administración simultánea de dos o más fármacos se pueden originar interacciones metabólicas que alteren la farmacocinética de al menos uno de los fármacos, con las correspondientes implicaciones farmacológicas y/o toxicológicas.

Las interacciones farmacológicas pueden ser FARMACOCINÉTICAS (cuando la llegada del fármaco a su sitio de acción es modificada por el segundo fármaco), o FARMACODINÁMICAS (cuando lo que se modifica es la respuesta) (39).

Una de las interacciones más notables es la que sufren las enzimas del citocromo P450, generalmente por inducción o inhibición de las mismas, acelerando el metabolismo o disminuyéndolo (40) tal y como se refleja en el siguiente esquema (figura 9).



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

2.2.1. Inhibición enzimática

Podemos definir los **inhibidores enzimáticos** (42) como aquellos agentes moleculares que interfieren en la catálisis de una reacción haciéndola más lenta o deteniéndola. Como los enzimas catalizan todos los procesos celulares podemos decir que los inhibidores enzimáticos se encuentran entre los agentes farmacéuticos más importantes, un ejemplo es la aspirina, la cual inhibe el enzima que cataliza el primer paso de la síntesis de prostaglandinas, compuestos que intervienen en procesos que producen dolor.

Por otra parte, el estudio de los inhibidores enzimáticos ha proporcionado una información muy importante sobre mecanismos enzimáticos y también ha ayudado a definir algunas rutas metabólicas.

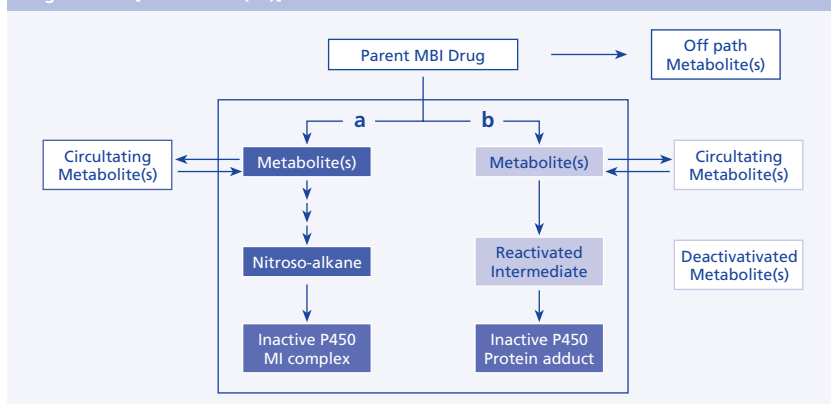
Por definición, los mecanismos basados en la inhibición, implican la transformación del inhibidor en un metabolito reactivo que modifica las enzimas del citocromo P450, y produce una pérdida de actividad enzimática (43). No se incluyen entre los inhibidores a aquellas sustancias o factores como el pH o la T^a , que actúan produciendo una desnaturalización de la enzima, ni tampoco las acciones externas que retardan o dificultan la acción de cualquier tipo de enzima.

Aunque los mecanismos de inhibición de los metabolitos inhibidores no están bien establecidos, expondremos a continuación la revisión mas reciente.

En general, los mecanismos inhibitorios pueden clasificarse en dos grupos (44):

- Alquilación del hemo y/o proteína.
- Formación de un complejo metabólico intermedio (MI).

Figura 10. [Tomada de (44)]



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Se produce una fuerte unión entre el metabolito, y el estado reducido del hierro hemo, dando lugar al complejo metabólico intermedio, MI, sin actividad catalítica. La unión es fuerte, pero no se forman enlaces covalentes, por lo que puede revertirse bajo determinadas condiciones experimentales como por ejemplo la adición de ferrocianida potásica (44).

La formación de aductos en las enzimas del P450, está generalmente caracterizada por una unión covalente, entre una sustancia electrofílica, y la parte nucleofílica de un aminoácido del sitio activo del citocromo, o de su grupo prostético.

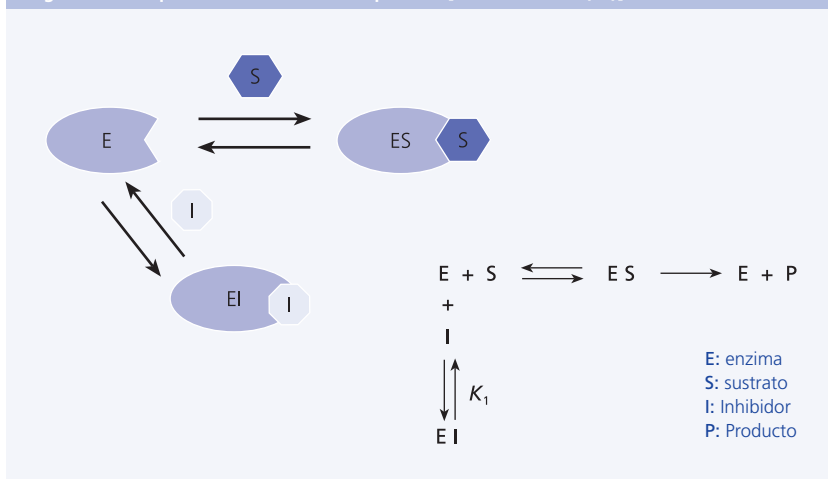
De los 31 mecanismos inhibitorios *in vitro* descritos en la literatura, 9 (29%) se han clasificado como inhibiciones irreversibles por alquilación; 14 (45%) se han clasificado como formadores de complejos inhibidores (MI). Los 8 mecanismos restantes (26%), se han clasificado como desconocidos (44).

Los inhibidores enzimáticos pueden ser **reversibles** e **irreversibles** dando lugar a los siguientes tipos de inhibición:

- **Inhibición reversible** (42)

Un tipo frecuente de inhibición reversible es la **inhibición competitiva** (figura 11).

Figura 11. Esquema de inhibición competitiva [modificada de (42)]



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

En este tipo de inhibición, el inhibidor competitivo compite con el sustrato por el sitio activo del enzima. Mientras el inhibidor [I] ocupa el sitio activo, impide la fijación del sustrato. Muchos inhibidores competitivos son compuestos que se parecen al sustrato y que se combinan con el enzima formando el complejo EI, pero sin llevarlo a la catálisis.

La inhibición competitiva se puede analizar cuantitativamente mediante cinética del estado estacionario, y en presencia de un inhibidor competitivo la ecuación de Michaelis-Menten que relaciona la concentración de sustrato con la velocidad de reacción es la siguiente:

$$V_o = \frac{V_{máx}[S]}{\alpha K_m + [S]}$$

donde:

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

K_m = Constante de Michaelis. En presencia de inhibidor se denomina K_m aparente.

K_i = Constante de equilibrio de fijación del inhibidor a E.

Debido a que el inhibidor se une de manera reversible al enzima, se puede cambiar el sentido de la competición a favor del sustrato, simplemente con la adición de más sustrato.

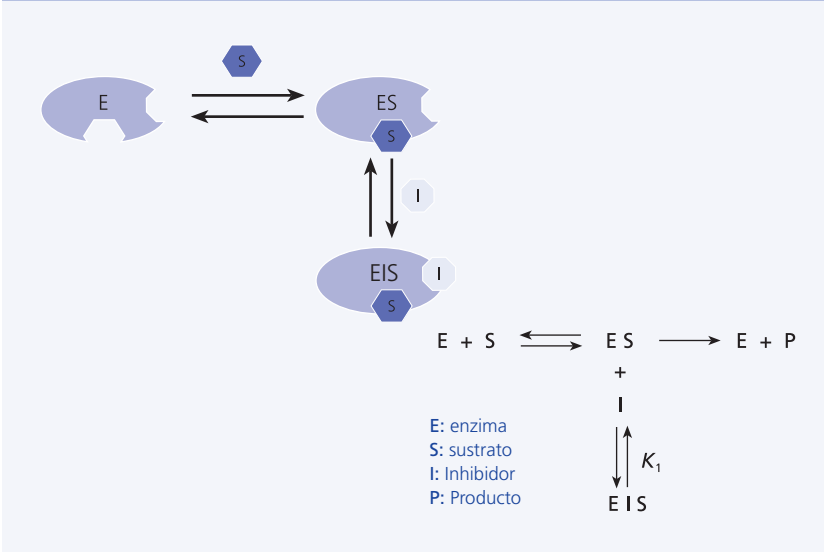
Cuando la [S] es mayor que la [I], disminuye notablemente la probabilidad de que se fije una molécula de inhibidor, en este caso la reacción muestra una $V_{máx}$ normal. Sin embargo, cuando la [S] es tal que $V_o = \frac{1}{2} V_{máx}$, la K_m aparente aumentará en presencia del inhibidor en un factor α .

Otros tipos de inhibición reversible son la **inhibición acompetitiva** y la **inhibición mixta** (42) que a menudo se aplican a enzimas con un solo sustrato pero que en la práctica sólo se observan con enzimas que actúan con dos o más sustratos.

Un **inhibidor acompetitivo** (42) (figura 12) es el que se fija a un sitio distinto al que se fija el sustrato en el sitio activo y que a diferencia del inhibidor competitivo, sólo se une al complejo ES.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Figura 12. Esquema de inhibición acompetitiva [modificada de (42)]



En presencia de un inhibidor acompetitivo, la ecuación de Michaelis-Menten cambia a:

$$V_o = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{K_m + \alpha'[S]}$$

donde:

$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_1}$$

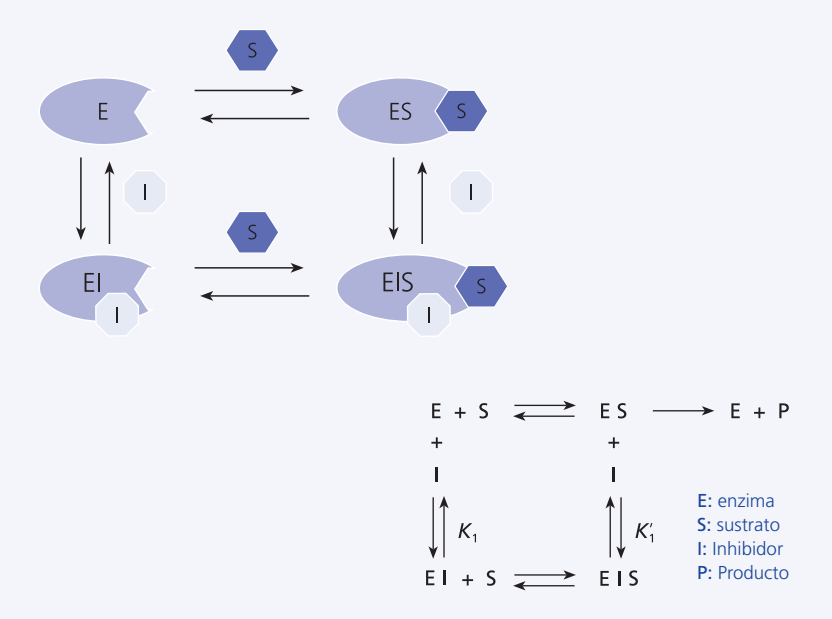
$$K'_1 = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

A elevadas concentraciones de sustrato, V_o se aproxima a $V_{m\acute{a}x}/\alpha'$; así, un inhibidor acompetitivo disminuye la $V_{m\acute{a}x}$ medida y la K_m aparente también disminuye debido a que la $[S]$ necesaria para alcanzar la mitad de la $V_{m\acute{a}x}$ disminuye en un factor α' .

Un **inhibidor mixto** (42), (figura 13) también se fija en un sitio distinto al del sustrato, pero se fija tanto a E como a ES.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.
Importancia clínica

Figura 13. Esquema de inhibición mixta [modificada de (42)]



La ecuación de velocidad que describe la inhibición mixta es:

$$V_o = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$$

α y α' se definen igual que anteriormente. Normalmente, un inhibidor mixto afecta tanto a K_m como a $V_{m\acute{a}x}$. El caso en que $\alpha = \alpha'$ es raro en la pr\ctica y se denomina **inhibici3n no competitiva** (42).

En la tabla 4 podemos ver los efectos de inhibidores reversibles sobre los valores aparentes de $V_{m\acute{a}x}$ y K_m .

Tabla 4. [Modificada de (42)]		
Tipo de inhibidor	$V_{m\acute{a}x}$ aparente	K_m aparente
Ninguno	$V_{m\acute{a}x}$	K_m
Competitivo	$V_{m\acute{a}x}$	αK_m
Acompetitivo	$V_{m\acute{a}x}/\alpha'$	K_m/α'
Mixto	$V_{m\acute{a}x}/\alpha'$	$\alpha K_m/\alpha'$

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- **Inhibición irreversible (42)**

Los **inhibidores irreversibles** son aquellos que se combinan con, o destruyen, un grupo del enzima que es esencial para su actividad, o los que forman una asociación no covalente muy estable.

Estos inhibidores son útiles para estudiar los mecanismos de reacción. También es frecuente la formación de un enlace covalente entre un inhibidor irreversible y un enzima.

Existe un tipo de inhibidores irreversibles llamado **inactivadores suicidas**, los cuales son compuestos poco reactivos hasta que se unen al sitio activo de un enzima específico. Un inactivador suicida pasa a través de los primeros pasos de una reacción enzimática normal, pero enseguida se convierte en un compuesto muy reactivo que se combina irreversiblemente con el enzima, en lugar de transformarse en el producto normal. Estos compuestos también se conocen con el nombre de **inactivadores basados en el mecanismo**, ya que utilizan el mecanismo de reacción enzimático normal para inactivar el enzima.

Debido a que el inactivador suicida se ha diseñado para un enzima específico y no es reactivo hasta que se encuentra en el sitio activo del enzima, los fármacos basados en este método son a menudo muy eficaces y con pocos efectos secundarios.

En lo que se refiere al CYP450, una posible causa de interacción es que dos fármacos sean sustratos del mismo P-450 y se produzca una competencia por su unión al enzima. Así mismo en determinadas ocasiones, uno de los compuestos puede bloquear o inactivar irreversiblemente la actividad del P-450 que metaboliza al otro fármaco.

En ambos casos se produce una elevación de los niveles circulantes de éste último, y en el caso de fármacos con un índice terapéutico estrecho, da lugar a situaciones de sobredosis con una respuesta exagerada y/o toxicidad (41).

En la siguiente tabla (tabla 5) se detallan los inhibidores selectivos de los enzimas P-450.

Se estima que alrededor del 75% de los fármacos son metabolizados por el CYP3A4 y/o el CYP2D6, con lo que es fácil imaginar que la mayor parte de las interacciones metabólicas se deben a interferencias a nivel de estos enzimas (36, 47, 48).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.
Importancia clínica

Tabla 5. [Modificada de (14)]		
CYP	Inhibidor (18, 45, 46)	inhibición
1A2	Furafilina	Irreversible
	7,8-Benzoflavona	Competitiva
	Fluvoxamina	Competitiva
2A6	Metoxalen	Irreversible
	Triptamina	Competitiva
	Tranilcipromina	Competitiva
2C8	Quercetina	Competitiva
2C9	Sulfafenazol	Competitiva
	Acido tienílico	Irreversible
2C19	Tranilcipromina	Competitiva
2D6	Quinidina	Competitiva
2E1	Dietil ditiocarbamato	Irreversible
	4-Metilpirazol	Competitiva
	Disulfiram	Irreversible
3A4	Troleandromicina	Complejo inactivo
	Eritromicina	Complejo inactivo
	Ketoconazol	Competitiva
	Getodene	Irreversible

En la siguiente tabla (14) (tabla 6) se reflejan los inhibidores e inductores de los enzimas CYP2D6 y CYP3A4 con mayor relevancia clínica.

Tabla 6. [Modificada de (14)]		
CYP	Inhibidores	Inductores
2D6	Antiarrítmicos: quinidina, amiodarona Antidepresivos: fluoxetina, paroxetina, sertralina	
3A4	Azoles antifúngicos: ketokonazol, itraconazol, miconazol, fluconazol Antibióticos macrólidos: eritromicina, claritromicina, troleandromicina Inhibidores de la proteasa del VIH: ritonavir, indinavir, aprenavir Antidepresivos: fluoxetina, fluvoxamina, nefazodona Antiarrítmicos: amiodarona Zumo de pomelo	Antituberculosos: rifampicina, rifampin, rifabutin Anticonvulsivantes: fenobarbital, carbamazepina, fenitoína Glucocorticoides: Dexametasona Hierba de San Juan

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

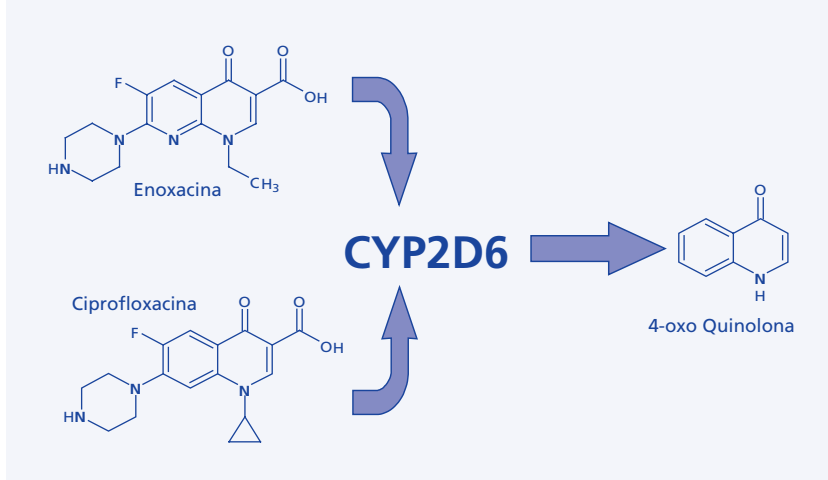
Cuando se administran dos o más fármacos, estos compiten por su unión al CYP y se interfieren mutuamente, en este caso la inhibición por sustrato es **competitiva** y su grado es función de la concentración del inhibidor. La inhibición del CYP2D6 por el antiarrítmico quinidina es un ejemplo típico.

Otras veces el efecto inhibidor puede realizarse competitivamente pero a través de alguno de los productos resultantes. Por ejemplo (figura 14), algunas fluoquinolonas, especialmente enoxacina y ciprofloxacina, a través del CYP2D6 forman el metabolito 4-oxoquinolona, inhibidor de los CYP1A2, CYP2C9 y CYP3A4 (49).

Otras sustancias actúan como inactivadoras «suicidas», es decir, se unen covalentemente o destruyen el hemo, «gastándose» en la reacción. Estas sustancias como el secobarbital, la noretindrona y el etinilestradiol, producen la forma de inhibición **irreversible** (38, 47).

Finalmente otras drogas como los imidazoles (cimetidina, ketokonazol y otros) o los macrólidos (eritromicina, troleandomicina y sus metabolitos) inhiben el metabolismo oxidativo al formar un complejo fuertemente unido al hemo del P450. Esta forma de inhibición es **no competitiva** pues actúa impidiendo el acceso del O_2 y los electrones al centro activo (38, 47, 50).

Figura 14. Inhibición de enoxacina y ciprofloxacina por CYP2D6



Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

2.2.2. Inducción enzimática

El fenómeno de inducción enzimática fue demostrado hace más de 40 años y es tejido-específico, concentración dependiente, rápido y reversible (51).

Existen diferentes teorías para explicar el mecanismo de inducción enzimática. Algunas propuestas teóricas publicadas recientemente se basan en tres hipótesis (figura 15) (52):

- a) Cada isoforma CYP inducible químicamente, se corresponde con un receptor intracelular con el que interactúa, mediando así la inducción.
- b) Cada isoforma CYP inducible químicamente y su receptor correspondiente, pueden poseer una alta similitud estructural y estérica en los puntos de unión al sustrato inductor.
- c) Cada gen CYP inducible puede tener diferentes elementos de respuesta génica, que interactúan selectivamente con el receptor activado.

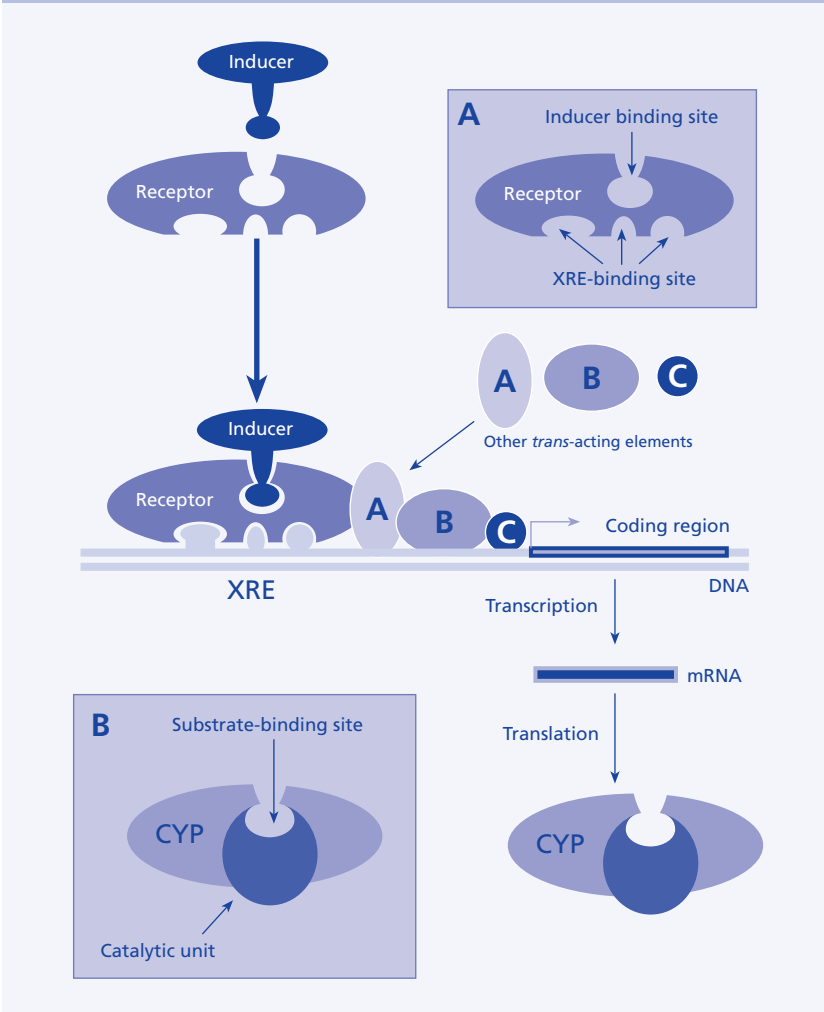
En realidad, inducción es la síntesis de nuevas moléculas enzimáticas (lo que incrementa bruscamente su número en un tejido y momento dados) como consecuencia de la transcripción génica (14) (figura 15).

En la inducción enzimática la presencia de algunos principios activos aumenta la producción enzimática, reduciendo la disponibilidad y la eficacia del mismo inductor o de otras sustancias que usan la misma vía enzimática. Cuando un mismo compuesto induce la biotransformación de otros y también su propio metabolismo, el fenómeno se conoce como **autoinducción**, es el caso de la rifampicina, la carbamazepina y otros anticonvulsivantes (14).

La inducción de los citocromos está sometida al control de proteínas intensificadoras de la transcripción génica, perteneciendo casi todas a la superfamilia de los receptores citosólico-nucleares (51, 53, 54). Estas proteínas de control se hallan en el citosol o se ubican directamente sobre el ADN. En la mayoría de los casos la unión del xenobiótico favorece la entrada al núcleo, la dimerización del intensificador y su fijación con alta eficacia sobre la secuencia de ADN reguladora del gen CYP a transcribir. En otros casos, el xenobiótico favorece la entrada al núcleo y la dimerización del intensificador que ya de por sí es activo. Como consecuencia se pone en marcha la maquinaria de la transcripción y se sintetiza ARN-m que será traducido en las diferentes proteínas CYPm (38, 53) (figura 15).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Figura 15. Inducción enzimática [modificada de (52)]



Existen 4 tipos de inductores de los CYP que actúan sobre las proteínas de control (55, 56):

- **Hidrocarburos aromáticos policíclicos y dibenzodioxinas:** inducen la familia CYP1 a través del receptor **Ah** (*Aromatic hydrocarbon*).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- **Fenobarbital:** induce fundamentalmente las subfamilias 2B y 2C a través del receptor **CAR** (*Constitutive Androstane Receptor*).
- **Rifampicina y glucocorticoides:** activan fundamentalmente las subfamilias 3A y 2C a través del receptor **PXR** (*Pregnane X Receptor*).
- **Fibratos:** activan la familia CYP3A4 a través del receptor **PPAR** (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*).

La subfamilia 2E es inducida por el etanol y la isoniazida (54), sin embargo, los mecanismos por los que tiene lugar esta inducción son distintos. En ellos podrían participar el **HNF-1** (*Hepatic Nuclear Factor*) y otros reguladores, que inhibirían procesos que normalmente terminan y degradan el mensaje genético y las proteínas (supresión de la transcripción, desestabilización del ARN-m) (54, 55).

Hay que destacar que los propios intensificadores mencionados incrementan su autotranscripción y que los glucocorticoides, a través de su propio receptor GR, induce la síntesis de CAR y PXR, por lo que su efecto inductor sobre los CYP es mayor (54). También debe decirse que varias citocinas (IL-6, IFN- γ , TFN- α) , por el contrario, reprimen la expresión CYP (57).

2.2.3. Consecuencias clínicas de la inducción y de la inhibición enzimáticas

Estos dos procesos al operar sobre los CYP u otras enzimas del metabolismo xenobiótico generan profundos cambios en el clearance metabólico, Clm (tanto hepático como intestinal) de los fármacos, modificando, no sólo los niveles séricos y tisulares, sino también la biodisponibilidad de las formas farmacéuticas orales que los contienen (56). Asimismo contribuyen a las variaciones interindividuales observadas en las respuestas a las drogas, causando interacciones potencialmente peligrosas (38).

El conocimiento de las enzimas metabolizadoras y sus posibles inductores e inhibidores permite un mejor desarrollo de fármacos pues obliga a estudiar con antelación las posibles interacciones (57).

La inducción enzimática aumenta la biotransformación y la actividad del fármaco original, lo que conduce a una pérdida de efectividad terapéutica.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

La inhibición retarda o elimina el Clm de los fármacos, esto causa un incremento de sus niveles séricos y tisulares, y/o acumulación que puede derivar en fenómenos tóxicos (19, 57).

Existen compuestos inductores de varios CYP y a la vez inhibidores de otros. Es el caso de la fenitoína, y como resultado, dependiendo de cada paciente, puede observarse el predominio de una u otra actividad, complicando la predicción de posibles efectos secundarios (58).

La inhibición es muy rápida y se produce cuando se alcanza una concentración plasmática y tisular estable, por el contrario, la inducción es lenta (semanas) ya que como todo fenómeno genético requiere la síntesis de nuevas proteínas y puede no depender de una exposición constante (59).

En el caso de la metadona el fenómeno de inducción enzimática del metabolismo suele demorarse entre 2 y 3 semanas desde el inicio del tratamiento, por lo que el metabolismo de la sustancia es más lento en sujetos no habituados en los que no se ha producido este fenómeno de inducción.

Existen evidencias de que hay variedades genéticas del sistema CYP2D6 que hacen que algunos sujetos tengan una capacidad metabólica acelerada de la metadona y otros disminuida con independencia del fenómeno de inducción por la tolerancia. Además, sustancias que son capaces de interferir, sobre todo, con el sistema 3A4 pueden alterar el metabolismo de la metadona acelerándolo o retrasándolo. Es importante valorar estas interacciones en caso de posible intoxicación ya que el uso concomitante de rifampicina, por ejemplo, puede obligar a duplicar la dosis de metadona para evitar síndromes de abstinencia o el uso de antirretrovirales como el efavirenz puede hacer disminuir los niveles de metadona entre un 20% y 80%. Por el contrario, el uso de Ketoconazol o fluoxetina puede inhibir sustancialmente el metabolismo de la metadona (60, 61, 62, 63, 64).

Finalmente, hay que destacar que algunos componentes alimentarios y productos fitoterápicos pueden inducir o inhibir el metabolismo xenobiótico. Como estos hechos muchas veces no son tenidos en cuenta, conducen a fracasos terapéuticos y a determinados riesgos que podrían ser evitados.

Uno de los más potentes inductores CYP3A4 en el ser humano es la hiperforina, componente del hipérico o hierba de San Juan (figura 16).

Es de origen fitoterápico y ampliamente consumida como ansiolítico-antidepresivo, además ocasiona la disminución de los niveles plasmáticos de muchos fármacos prescritos (54).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Figura 16. Hierba de San Juan. Hypérico
(tomada de www.sciencephoto.com)



Otro ejemplo es el jugo de pomelo que contiene flavonoides y otras sustancias que inhiben al CYP3A4 sobre todo a nivel intestinal, hecho que aumenta notablemente la biodisponibilidad de fármacos como las dihidropiridinas (por ejemplo, la nifedipina, la felodipina, etcétera) y la ciclosporina, pudiendo dar lugar a fenómenos tóxicos (58, 65).

3. Importancia clínica del citocromo P-450

3.1. Introducción

Como ya se ha mencionado en varias ocasiones, existen grandes diferencias interindividuales en la respuesta a la mayoría de los fármacos que se utilizan en clínica debido a que intervienen factores de tipo farmacodinámico, farmacocinético etc.

En lo que se refiere a la administración oral de fármacos la primera etapa que hay que tener en cuenta es la **liberación** del fármaco. Esta etapa puede variar en función del proceso de fabricación, del vehículo que contiene el fármaco, de su formulación y de los excipientes, estos factores determinan que la liberación del fármaco sea mayor, menor, más rápida o más lenta (66).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

A continuación se produce la *absorción* del fármaco en el tracto gastro-intestinal, este proceso es muy variable y en el intervienen diversos factores entre los que destaca el metabolismo en la luz intestinal que muchos fármacos sufren dentro del conocido metabolismo presistémico. En la mucosa intestinal existen isoenzimas del sistema del citocromo P-450, especialmente la isoenzima CYP3A4, y es sabido que diversos fármacos, sustratos de esta enzima, muestran una baja y variable biodisponibilidad por vía oral debido a este metabolismo presistémico en el tracto gastrointestinal. Alguno de estos fármacos sufren también un proceso de extrusión hacia la luz intestinal mediado por bombas de transporte como la P-glicoproteína (Pgp). Si consideramos factores dietéticos como el zumo de pomelo, pueden inhibir el CYP3A4 y/o la Pgp, dando lugar a una mayor o menor biodisponibilidad que en muchos casos puede ser de importancia clínica (66).

En la fase de *distribución*, además de la unión a proteínas plasmáticas existen también bombas transportadoras (Pgp y otras no tan conocidas) que determinan una mayor o menor capacidad de extrusión de fármacos desde diversos tejidos a sangre. También es conocida la existencia de diversas isoenzimas del sistema del citocromo P-450 en tejidos distintos al hígado o pared intestinal, como es el caso del cerebro cuya actividad además puede ser regulada por diversos neurotransmisores. La presencia de estas isoenzimas a nivel cerebral podría ser responsable de la biotransformación a este nivel de fármacos activos en el sistema nervioso central y de la regulación en la concentración de los psicofármacos a este nivel (66).

En la fase *cinética* del metabolismo el sistema de isoenzimas del citocromo P-450 juega un papel claramente preponderante en la mayoría de los fármacos utilizados en clínica.

En la fase de *eliminación*, la existencia de bombas transportadoras puede contribuir significativamente a la excreción facilitada de fármacos de ciertos tejidos. La presencia de isoenzimas en tejidos como riñón y pulmón es también un factor a considerar en la variabilidad interindividual en la eliminación de fármacos del organismo (66).

Por último, los isoenzimas del sistema citocromo P-450 juegan un papel crucial en la magnitud y duración de los efectos de muchos fármacos, bien por su papel en el catabolismo de estos hacia metabolitos inactivos o por la bioactivación de profármacos a fármacos activos. Estas isoenzimas están también implicadas en la formación de metabolitos reactivos, que pueden ser alergénicos, tóxicos o mutagénicos (67).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

A continuación repasaremos la importancia clínica de las isoenzimas del sistema citocromo P-450 individualmente.

3.2. Citocromo P-450 3A

Las isoenzimas de la subfamilia P-450 3A (CYP3A) predominan en la fase I del metabolismo de fármacos en el hombre, además metabolizan otros compuestos como hormonas esteroideas, toxinas y carcinógenos.

Esta subfamilia se compone de al menos 3 genes diferentes: CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7 (68), CYP3A43 también se ha identificado recientemente aunque su importancia metabólica es discutible. De estas enzimas, CYP3A4 es la principal, representando 30% del total del citocromo P-450 en el hígado (68), CYP3A5 presenta una actividad catalítica muy similar mientras que CYP3A7 es la forma enzimática presente en el feto.

Debido a la gran similitud catalítica entre CYP3A4 y CYP3A5 así como a la casi exclusiva localización fetal de CYP3A7, estas enzimas se suelen denominar conjuntamente como CYP3A. Cada vez gana más terreno la idea de un papel más preponderante para CYP3A5 en la actividad total de CYP3A (69).

La actividad de CYP3A presenta una alta variabilidad interindividual entre la población debido a que esta enzima es altamente modulable, ya sea por otros fármacos (inductores o inhibidores), enfermedades, la dieta o factores ambientales.

Debido a la gran cantidad de fármacos metabolizados por esta enzima, la importancia clínica de este citocromo es obvia. Por ejemplo, en la terapia farmacológica post-transplante, muchos de los inmunosupresores utilizados, por ejemplo tacrolimus o ciclosporina, son sustratos de CYP3A y también de la glicoproteína P (Pgp) en el tracto gastrointestinal, de forma que el uso de otros fármacos en dicha terapia, como los esteroides, que alteren la actividad de CYP3A y/o Pgp, pueden afectar a los niveles del inmunosupresor necesitando un ajuste de su dosis para alcanzar el efecto terapéutico o evitar efectos adversos (70).

Del mismo modo, la participación de CYP3A en el metabolismo de la mayor parte de las estatinas hace que la inhibición de esta enzima sea clave en el aumento de los niveles plasmáticos de estos hipocolesterolemiantes, provocando así un riesgo de miopatía que puede llegar a ser fatal (71).

CYP3A también tiene importancia en el metabolismo de muchas sustancias psicoactivas, como cocaína, metadona, ansiolíticos, hipnóticos, antipsicóticos, antiepilépticos o los inhibidores de la recaptación de serotonina (IRSs).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

En el caso de la metadona su metabolismo hepático está mediado fundamentalmente por el citocromo P-450-3A4 (CYP3A4), el 2D6 y el 1A2, dando como metabolitos por N-demetilación el EDDP (2-etil-1,5-difenilpirrolidina) y el EMDP (2-etil-5-metil-3,3-difenilpirrolidina), así como metadol y normetadol, aunque en menor medida (60, 61, 62). En cuanto a los IRSs, muchos de ellos son inhibidores de la actividad enzimática tanto in vitro como in vivo (72, 73) y, de hecho, muchas de las interacciones que se producen tras administrar estos antidepresivos son atribuibles a interacciones con las isoenzimas de la subfamilia CYP3A (74, 75).

En la tabla 7 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP3 A4:

Tabla 7. CYP 3A4 [tomada de (76)]		
Sustratos	Antiarrítmicos	Quinidina, lidocaína, propafenona
	Antihistamínicos	Clorfeniramina, loratadina, terfenadina
	Antirretrovirales	Indinavir, ritonavir, nelfinavir, saquinavir
	Bloqueantes cálcicos	Nifedipina, amilodipina, felodipina, diltiazem, verapamilo
	Benzodiazepinas y otros ansiolíticos e hipnóticos	Diazepam, alprazolam, midazolam, buspirona, zaleplón, zolpidem
	Estatinas	Atorvastatina, lovastatina
	Esteroides endógenos	Hidrocortisona, progesterona, testosterona
	Inmunosupresores	Ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, imantib
	Macrólidos	Eritromicina, claritromicina, troleandomicina
	Otros psicofármacos	Haloperidol, pimozida, trazodona, nefazodona
Inhibidores	Opiáceos	Codeína, dextrometorfano, metadona alfentanilo, fentanilo
	Otros	Cafeína, ergotamina, cocaína, dapsona, finasteride, pioglitazona, repaglinida, sildenafil, taxotere, salmeterol, ondansetrón, irinotecan, vincristina, cisapride
Inhibidores	Amiodarona, antirretrovirales (delavirdina, indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir), 4-oxoquinolona, bloqueantes cálcicos (diltiazem, verapamilo), macrólidos (eritromicina), azoles antifúngicos (ketoconazol, itraconazol, fluconazol), esteroides (gestodeno, mifepristona), fluvoxamina, jugo de pomelo	
Inductores	Antirretrovirales (efavirenz, nevirapina), anticonvulsivantes (fenobarbital, carbamazepina, fenitoína), glucocorticoides, rifamicinas (rifampicina, rifabutina, rifapentin), hipérico, pioglitazona	

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Otro aspecto de gran importancia clínica en el caso del CYP3A son las interacciones que desembocan en Torsades de Pointes (arritmias graves ventriculares que se manifiestan con una prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma). Este efecto adverso se ha observado tras el aumento de los niveles plasmáticos de ciertos sustratos de CYP3A (ej. terfenadina, astemizol o cisaprida) debido a la administración de fármacos u otras sustancias inhibidoras de su metabolismo (77, 78).

También podemos encontrar actividad CYP3A en células tumorales, donde puede ejercer un efecto protector para ellas al metabolizar fármacos anticancerígenos (79).

Otros efectos adversos clínicamente significativos en los que interviene el CYP3A son:

- Hipotensión derivada del aumento de niveles plasmáticos de antihipertensivos bloqueantes de canales de calcio metabolizados por esta enzima.
- Ataxia por incremento de la toxicidad de carbamazepina al administrarse junto con inhibidores de CYP3A.
- Ergotismo producido por un incremento de los niveles de ergotamina, un alcaloide sustrato de CYP3A usado contra la migraña (80).

Por otra parte, el amplio espectro de fármacos metabolizados por el CYP3A también posibilita terapias que, mediante alteración de la actividad enzimática, producen unas consecuencias clínicas beneficiosas, ya sea por ahorro de coste económico, por ejemplo el aumento controlado de los niveles de ciclosporina mediante inhibición de su metabolismo reduce la dosis necesaria de inmunosupresor (81), o por aumento de eficacia, este es el caso de la terapia combinada de los inhibidores de la proteasa ritonavir y saquinavir, la eficiencia del tratamiento aumenta exponencialmente en comparación con la monoterapia, probablemente por la inhibición combinada de CYP3A y Pgp (82).

Asimismo, la expresión de CYP3A4/5 puede ser utilizada como biomarcador en osteosarcomas, el tumor óseo mas común en pediatría, una alta expresión de estas enzimas estaría relacionada con un mayor riesgo de aparición de metástasis (83).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

3.3. Citocromo P-450 2D6

El citocromo P-450 2D6 (CYP2D6) es una enzima que es expresada polimórficamente en el hombre (84) y que está implicada en el metabolismo de un gran número de fármacos, representando casi el 25% del total de fármacos metabolizados por el CYP-450. Es probablemente el citocromo más conocido y caracterizado de todas las enzimas metabolizadoras de fármacos.

La existencia de variantes alélicas divide a la población en metabolizadores lentos (**ML**), rápidos (**MR**) y ultrarápidos (**UR**).

La administración de fármacos metabolizados por CYP2D6 a sujetos ML tiene como consecuencia el aumento de niveles plasmáticos de los mismos con los consiguientes posibles efectos adversos, así mismo, la administración de dichos fármacos en personas que son UR puede derivar en una falta de eficacia terapéutica.

Existen numerosos antidepresivos que son sustratos del CYP2D6. El conocimiento previo del genotipo del paciente puede ser útil a la hora de establecer la dosis de estos compuestos (85). Fármacos como fluoxetina, norfluoxetina o desipramina presentan unos niveles plasmáticos muy diferentes cuando se administran a ML o MR (86, 87) esto implica la posible aparición de efectos adversos graves como el síndrome serotoninérgico (88). De hecho, se ha recomendado una reducción del 50% de la dosis en los antidepresivos tricíclicos cuando se administren a ML, mientras que, en general, para los IRSs las diferencias en la dosificación son menores (89).

Otras sustancias psicoactivas, sustratos a su vez del CYP2D6, están sujetas a las mismas limitaciones, y hay casos descritos de antipsicóticos como risperidona que pueden provocar efectos adversos extrapiramidales si se administran a ML de CYP2D6 (90), asimismo la ganancia de peso producida por el tratamiento con olanzapina parece estar relacionada con el genotipo de este gen (91). La conversión de codeína a morfina es mediada también por el CYP2D6, y dada la presencia de esta enzima en cerebro (92), el metabolismo in situ de este fármaco puede tener mucha relevancia clínica. A este respecto, un estudio demostró que los ML de CYP2D6 necesitaban más dosis de codeína para alcanzar los mismos niveles de analgesia que los MR (93). Esto implica que la posible modulación local en cerebro de esta enzima, ya sea por sustratos endógenos u otros xenobióticos (94), pudiera ser clave para el metabolismo mediado por CYP2D6.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

La administración de IRSs que son inhibidores o sustratos de CYP2D6 (fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, antidepresivos tricíclicos...) puede provocar la aparición de efectos adversos cuando se asocia la terapia a ciertos anticonvulsivantes (95).

Otros muchos fármacos: antiarrítmicos como la amiodarona (96), inhibidores de la prostaglandina como celecoxib (97), antitusígenos como dextrometorfán (98), inmunosupresores como tacrolimus (99), están asociados a efectos adversos clínicamente serios, y a una disminución de su eficacia terapéutica debido a interacciones mediadas por CYP2D6.

En la siguiente tabla 8 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP2D6:

Tabla 8. CYP 2D6 [tomada de (76)]		
Sustratos	Anfetaminas	Anfetamina, dexfenfluramina, metoxianfetamina
	Antiarrítmicos	Lidocaína, encainida, flecainida, mexiletina, propafenona, quinidina
	Antidepresivos	Amitriptilina, clomipramina, imipramina, desipramina, nortriptilina, paroxetina, atomoxetina, venlafaxina
	Antipsicóticos	Clorpromazina, clozapina, haloperidol, risperidona, tioridazina, zuclopentisol, quetiapina, aripiprazol, ziprasidona
	βbloqueantes	Alprenolol, carvediol, labetalol, metoprolol, propanolol, timolol
	Opiáceos	Codeína, etilmorfina, hidroxicodeína, tramadol, dextrometorfano
	Otros	Clorpropamida, flinarizina, tamoxifeno, ondansetrón, tropisetron, clorfeniramina, loratadina
Inhibidores	Amiodarona, ISRS (fluoxetina, sertralina, paroxetina), alcaloides (ergotamina, vincamina, harmalina, cocaína, doxorubicina, quinidina), bupropión, halofantrina, fenotiazinas, clorfeniramina, clormipramina, moclobemida, cimetidina, ranitidina, ritonavir, terbinafina	
Inductores	Dexametasona, rifampicina	

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

3.4. Citocromo P-450 1A2

Esta enzima adquiere una relevancia muy importante en el campo de los fármacos psicoactivos, ya que muchos de estos fármacos se metabolizan por CYP1A2 y otros son potentes inhibidores de esta enzima. Entre estos fármacos se incluyen: amitriptilina, cafeína, imipramina, fluvoxamina, clozapina u olanzapina (100, 101). CYP1A2 es además una enzima altamente inducible, algunos de sus inductores son el tabaco, el ejercicio físico, la ingestión de carnes a la brasa, ciertos vegetales como el brocoli o numerosos contaminantes ambientales (102, 103).

En la tabla 9 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP1A2.

Tabla 9. CYP 1A2 [tomada de (76)]		
Sustratos	Antidepresivos	amitriptilina, clomipramina, imipramina, desipramina, fluvoxamina
	Metilxantinas	Teofilina, cafeína
	Antipsicóticos	Clozapina, olanzapina, haloperidol
	Neurofármacos	Ondasterón, riluzol, tacrina, zolmitriptán
	Cardiovasculares	Mexiletina, verapamilo, propranolol, R-warfarina
	AINES	Naproxeno, paracetamol
	Otros	Ciclobenzaprina, estradiol, ropivacaína, zileuton
Inhibidores	Amiodarona, fluvoxamina, 4-oxoquinolona, ticlopidina	
Inductores	Hidrocarburos aromáticos del humo del cigarrillo (benzopireno, metilcolantreno), modafinilo, omeprazol	

CYP1A2 es junto con CYP1A1, la principal enzima activadora de procarcinógenos. CYP1A2 participa en la activación metabólica de aminas heterocíclicas y aromáticas presentes en la dieta (104, 105). CYP1A2 interviene también en la activación metabólica de estrona a sustancias que se cree pueden estar asociadas con cáncer provocado por estrógenos (106).

En fumadores, la actividad hidroxilasa de hidrocarburos aromáticos que son activados a intermediarios tóxicos y las concentraciones de CYP1A1 y CYP1A2 están relacionadas con riesgo de carcinogénesis (107, 108). Por el con-

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

trario, hay varios estudios que relacionan la inducción del 1A2 por factores dietéticos con una disminución de la incidencia del cáncer de mama (109, 110). De la misma manera, un estudio ha demostrado que la actividad CYP1A2, y por tanto su capacidad activadora de procarcinógenos, es menor en pacientes de cáncer de colon comparados con pacientes sanos (111).

Existen grandes diferencias interindividuales en la actividad enzimática CYP1A2 tanto *in vivo* (99), como *in vitro* (112, 113). Estas diferencias adquieren importancia clínica en relación a la respuesta del individuo frente a fármacos metabolizados por el CYP1A2 como teofilina, imipramina o cafeína (114, 115, 116).

La actividad CYP1A2 es especialmente importante en el caso de fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central. El grado de actividad de esta enzima, junto con el tabaco y el sexo, se ha asociado a la aparición de efectos tóxicos por la ingestión de cafeína (112). La ingesta de cafeína debe ser controlada en terapias con otros sustratos de la enzima para evitar interacciones farmacológicas que pueden tener efectos secundarios graves, por ejemplo en el tratamiento con clozapina (117). Otras terapias con antipsicóticos como la olanzapina, ven afectada su eficacia debido a la reducción de sus niveles plasmáticos asociada al tabaco, a través de la inducción del CYP1A2 (118).

La monitorización de los niveles plasmáticos de este fármaco junto a la realización de un test de cafeína para determinar la actividad enzimática 1A2 pueden ser herramientas muy útiles a la hora de evitar efectos adversos o fallos terapéuticos en pacientes esquizofrénicos tratados con olanzapina (116, 119). También hay que tener en cuenta la posibilidad de una interacción con consecuencias clínicas graves al instaurar un tratamiento antipsicótico con tioridazina y con antidepresivos como fluvoxamina, que sean inhibidores de CYP1A2 (120).

Por último, al estar esta enzima presente en el cerebro (90, 121) su importancia es aún mayor por el probable metabolismo de psicofármacos *in situ*, y como consecuencia, la regulación que pueda experimentar CYP1A2 en este entorno (122).

3.5. Citocromo P-450 2C9

La subfamilia CYP2C representa aproximadamente el 20% del total de citocromo P-450 en los microsomas hepáticos (123). Esta subfamilia está compuesta por cuatro miembros: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 y CYP2C19 (124),

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

siendo CYP2C9 la isoforma más abundante en el hígado (125). Existen diversas variantes alélicas del CYP2C9, de las cuales los alelos *3 y *6 presentan una notable reducción en la capacidad metabolizadora de la enzima *in vivo* (126).

Existen efectos adversos clínicamente relevantes derivados del uso de fármacos sustratos de CYP2C9 que tienen una explicación genética, este es el caso del anticoagulante warfarina, que puede provocar hemorragias en individuos con una enzima CYP2C9 defectuosa (127). En el caso del antiepiléptico fenitoína se ha descrito un caso de toxicidad importante, con síntomas de confusión mental y pérdida de memoria asociada a este fármaco, en un paciente con una variante alélica no funcional de CYP2C9 (128).

CYP2C9 metaboliza también varias sustancias relacionadas con el cáncer de colon, habiéndose ligado su genotipo al riesgo de desarrollar dicho cáncer (129), sin embargo en otros cánceres como el de pulmón esta relación no ha podido ser establecida (130). Estos polimorfismos, pueden ser importantes en el metabolismo local de sustratos neuroactivos de esta enzima como fenitoína, amitriptilina, fluoxetina y varios AINEs con actividad analgésica (131, 132).

Algunos fármacos tienen la capacidad de inhibir esta enzima pudiendo provocar interacciones de cierta importancia clínica. A este respecto, existen estudios que demuestran la potenciación del efecto anticoagulante de la warfarina cuando se administra conjuntamente con amiodarona (133), efecto adverso que continúa aún semanas después de la retirada del fármaco. Asimismo, el antidepresivo fluvoxamina es capaz de reducir significativamente el aclaramiento de tolbutamida, un antidiabético oral sustrato de CYP2C9, con el consiguiente riesgo de hipoglucemia (134).

Los azoles antifúngicos también han mostrado capacidad de inhibir la actividad CYP2C9 *in vivo* y/o *in vitro*.

Varias pirazolonas también se encuentran entre los inhibidores del CYP2C9, algunos antiinflamatorios como fenilbutazona y oxifenbutazona son conocidos como potentes inhibidores del metabolismo de tolbutamida *in vivo* (135), a su vez, el tratamiento durante una semana con sulfipirazona reduce el aclaramiento plasmático de tolbutamida (136) y S-warfarina (137) en aproximadamente un 40%, con el consiguiente trastorno en la terapia hipoglucémica.

En la tabla 10 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP2C9:

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

Tabla 10. CYP 2C9 [tomada de (76)]

Sustratos	Antidiabéticos orales	Sulfonilureas, nateglinida, rosiglitazona
	AINEs	Diclofenac, ibuprofeno, meloxicam, celecoxib, naproxeno, piroxicam
	Psicofármacos	Amitriptilina, fluoxetina, fenitoína, carbamacepina, fenobarbital
	Cardiovasculares	Losartán, irbesartán, fluvastatina, S-warfarina, torasemida
	Otros	Tamoxifeno
Inhibidores	Amiodarona, ISRS (fluvoxamina, sertralina, paroxetina), azoles antifúngicos (Ketoconazol, fluconazol), estatinas (fluvastatina, lovastatina), isoniazida, probencid, sulfametoxazol, tenipósido, trimetropina, zafirlukast	
Inductores	Barbitúricos, rifampicina	

3.6. Citocromo P-450 2C19

Esta enzima metaboliza aproximadamente el 15% de fármacos biotransformados por el CYP-450.

Es una enzima polimórfica que presenta 15 variantes alélicas, y una prevalencia con marcada variabilidad interracial (138) siendo CYP2C19*2 y CYP2C19*3 las responsables del 95% de fenotipos ML, presente en el 1-5% de la población blanca.

El carácter polimórfico de esta enzima tiene una importancia clínica muy significativa. Así, el genotipo ML está asociado con un metabolismo defectuoso de antiinfecciosos como el proguanil (139), antidepresivos como el citalopram (140) o fármacos como la talidomida (141).

Esta enzima interviene además en el metabolismo de inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol, lansoprazol o pantoprazol.

A este respecto, se ha propuesto la genotipación de CYP2C19 como una técnica para identificar pacientes con riesgo de desarrollar hipocloridia en terapias con estos inhibidores (142), así como para individualizar regímenes de dosificación de estos fármacos en la erradicación de *Helicobacter pylori* (143).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

El genotipo de CYP2C19 es también el responsable de la variación en las interacciones causadas por la administración concomitante de sustratos de esta enzima y de inhibidores de su metabolismo como la fluvoxamina (144).

CYP2C19 metaboliza también fármacos usados en el tratamiento de la epilepsia como diazepam, fenitoína, fenobarbitona, S-mefenitoína. Existen estudios que describen casos de toxicidad de fenitoína tras una terapia combinada de este fármaco, diazepam (145), ticlopidina (146) o isoniazida (147) entre otros. El uso combinado de fenitoína con otros antiepilépticos como la carbamazepina puede provocar también problemas debido a la inhibición del metabolismo de CYP2C19 y el consiguiente aumento de niveles de fenitoína, un fármaco con un estrecho margen terapéutico (148).

El metabolismo de antidepresivos como fluoxetina, amitriptilina o moclobemida mediado por CYP2C19 es causa también de numerosas interacciones graves (149, 150). La importancia clínica de estas interacciones vendrá dada por la amplitud de la ventana terapéutica de los fármacos afectados y/o la magnitud del cambio en sus niveles plasmáticos.

En la tabla 11 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP2C19:

Tabla 11. CYP 2C19 [tomada de (76)]		
Sustratos	Anticonvulsivantes	Fenitoína, mefenitoína, fenobarbital y otros barbitúricos, primidona
	Antidepresivos	Amitriptilina, clomipramina, imipramina, moclobemida, citalopram
	Cardiovasculares	Propanolol, R-warfarina
	Inhibidores de la bomba de protones	Omeprazol, lansoprazol, pantoprazol
	Otros	Indometacina, tenipósido, nelfinavir, ciclofosfamida, carisoprodol
Inhibidores	Cimetidina, ISRS (fluvoxamina, fluoxetina, paroxetina), azoles antifúngicos (Ketoconazol, fluconazol), anticonvulsivantes (felbamato, topiramato, fenitoína), inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, lansoprazol), modafinilo, indometacina, ticlopidina, probencid	
Inductores	Carbamazepina, prendisona, noretindrona, rifampicina	

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

3.7. Citocromo P-450 2A6

Esta enzima, activa numerosos carcinógenos y contribuye al metabolismo de fármacos como metoxiflurano, halotano, ácido valproico y disulfiram. Su gran importancia clínica radica en que tiene como sustrato a la nicotina. En humanos, el 70-80% de la nicotina es inactivada a cotinina, siendo el CYP2A6 el responsable de la mayor parte de esta conversión (151) y de posteriores biotransformaciones de cotinina.

CYP2A6 también es una enzima polimórfica con una marcada variabilidad interindividual, siendo los individuos ML mucho más frecuentes en poblaciones asiáticas que en europeas (152). Dicha variabilidad puede explicarse por el uso concomitante de fármacos como los antiepilépticos o por factores ambientales (153). Se ha sugerido que el polimorfismo de CYP2A6 es un factor determinante en el tabaquismo, incluso se ha propuesto el uso de inhibidores de la enzima para tratar la dependencia del tabaco (154). Sin embargo, los resultados de un estudio en el que se observó una representación más baja de individuos portadores de alelos defectuosos del gen entre personas dependientes del tabaco que entre personas no dependientes (155), han sido puestos en duda por otros estudios más recientes que no han podido reproducir sus conclusiones (156, 157).

Teóricamente los individuos sin CYP2A6 activo (ML) estarían más protegidos frente a enfermedades como el cáncer de pulmón por un doble mecanismo, primero porque fumarían menos cigarrillos o no fumarían en absoluto (153) y segundo, porque varios procarcinógenos presentes en el humo del tabaco no serían activados por la enzima.

En la práctica la relación cáncer de pulmón/CYP2A6 es más compleja, existiendo varios estudios con resultados contradictorios (154, 158), por lo tanto, hay más factores de diversa índole que intervienen en la susceptibilidad a padecer este tipo de cáncer.

3.8. Citocromo P-450 2C8

La importancia clínica de este citocromo es limitada y radica principalmente en el metabolismo de compuestos endógenos y ciertas estatinas. CYP2C8 media la transformación del ácido araquidónico en ácidos epoxieicosatrienoicos

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

(EETs) implicados en numerosos procesos. Esta biotransformación se lleva a cabo principalmente en el cerebro (159).

Se ha identificado un polimorfismo en este gen (CYP2C8*3) que afecta significativamente a la producción de EETs, y al flujo sanguíneo en los vasos cerebrales. Esta mutación también reduce el aclaramiento de fármacos anticancerosos como el paclitaxel (taxol) (160).

CYP2C8 está también implicado en el metabolismo de cerivastatina (161). Este hipolipemiente fue retirado del mercado en agosto de 2001 después de registrarse varias muertes por miopatías asociadas a altos niveles plasmáticos del fármaco. Muchas de estas muertes respondían a una terapia concomitante con gemfibrozilo. El mecanismo de esta interacción se explica por una inhibición por parte del gemfibrozilo del metabolismo de cerivastatina mediado por CYP2C8 (162). Gemfibrozilo inhibe también el metabolismo 2C8 de otros compuestos, como el antidiabético rosiglitazona, lo cual podría aumentar la eficacia de este fármaco aunque también el riesgo de efectos adversos dosis-dependientes (163).

3.9. Citocromo P-450 2E1

CYP2E1 es una enzima clave en las reacciones de toxicidad, ya que está implicada en la activación de numerosos procarcinógenos y protoxinas, y metaboliza además numerosos xenobióticos como etanol, benceno, tolueno, nitrosaminas, y también fármacos como acetaminofeno y clorzoxazona (164). El alelo mutado (C2) del CYP2E1 es el responsable de la mayor actividad enzimática (165).

Los niveles de CYP2E1 varían interindividualmente debido sobre todo a su inducibilidad por xenobióticos como el etanol y compuestos orgánicos volátiles (166). Los individuos que sean alcohólicos tienen, por tanto, mayor susceptibilidad a los intermediarios biológicos reactivos generados por CYP2E1 a partir de sus sustratos (167). Por tanto, las variaciones interindividuales en la expresión enzimática pueden determinar el grado de toxicidad provocado por estos compuestos (168).

Existen varios polimorfismos genéticos identificados que también pueden contribuir a dicha variabilidad de la enzima, sin embargo, la relación genotipo-fenotipo no está demostrada aún (169). Por eso, más que el genotipo, la actividad enzimática 2E1 caracterizada por el aclaramiento de clorzoxazona,

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450.

Importancia clínica

un relajante muscular, parece ser un método prometedor para caracterizar dicha actividad y, por tanto, para detectar individuos que sean particularmente sensibles a ciertos compuestos tóxicos (170).

En la tabla 12 se muestran los sustratos, inhibidores e inductores del CYP2E1:

Tabla 12. CYP 2E1 [tomada de (76)]		
Sustratos	Anestésicos volátiles éteres	Halotano, enflurano, isoflurano, metoxiflurano, sevoflurano
	Etol	
	Otros	Paracetamol, clorzoxazona
	Tóxicos ambientales de bajo peso molecular	Derivados del formol, anilinas, benceno
Inhibidores	Ditiocarbamato, disulfiram	
Inductores	Etol, isoniazida	

3.10. Citocromo P-450 2J2

Este citocromo es el único miembro de la subfamilia CYP2J, en el que la enzima se expresa en gran medida a nivel extrahepático, en tejidos como el corazón y endotelio de arterias coronarias (171) y en menor medida en hígado, riñón, pulmón, etc.

Esta enzima metaboliza xenobióticos como el diclofenac, el bufurarol o la ebastina, si bien su importancia radica en la biotransformación del ácido araquidónico, especialmente en el corazón (172, 173, 174).

El ácido araquidónico se transforma por esta vía en EETs (ácidos epoxieicosatrienoicos), los cuales intervienen en procesos tan importantes como la regulación de la proliferación celular, la inflamación, la homeostasis, la regulación de la secreción hormonal o el tono muscular liso en los bronquios y vasos sanguíneos (174).

La biosíntesis de estos EETs, y en consecuencia los procesos antes citados, puede verse afectada por factores que afecten a la funcionalidad de CYP2J2, como por ejemplo la inducción por barbitúricos o por inductores medioambientales, factores nutricionales, la variabilidad genética, si bien la importancia clínica de las variantes alélicas encontradas está todavía por determinar (174).

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

Bibliografía

- (1) Flórez, J.: *Farmacología Humana*, 3.^a ed. Masson, S.A; 1997, p. 73-78.
- (2) Villar del Fresno, A. M; Bermejo Bescós, P; Martín-Aragón, S.: *Aspectos farmacológicos del Citocromo P-450*. Real Academia de Farmacia, 2004, cap. 11, p. 363.
- (3) Ding, X., Kaminsky, L.S.: «Human extrahepatic cytochromes p450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts». *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003; 43: 149-73.
- (4) Goepfert, A.R., Sheerens, H., Vermeulen, N.P.E.: «Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P450». *Crit Rev Toxicol* 1995; 25: 25-65.
- (5) Capdevila, J., Harris, R.C., Falck, JR.: «Microsomal cytochrome P450 and eicosanoid metabolism». *Cell Mol Life Sci*, 2002; 59: 780-9.
- (6) Donato, M.T.: Monografía XIV. *Citocromo P-450. ¿Qué es y cómo funciona?* Real Academia de Farmacia, 2004, p. 36.
- (7) Omura, T., Sato, R.: «The carbon-monoxide binding pigment by liver microsomes». *J Biol Chem*, 1964; 239: 2379-85.
- (8) Coon, M.J., Ding, X., Pernecky, S.J. Vaz: «ADN. Cytochrome P450: progress and predictions». *FASEB J*, 1992; 6: 669-73.
- (9) Guengerich, F.P.: «Cytochromes P450 of human liver. Classification and activity profiles of the major enzymes». En *Advances in drug metabolism in man*. Pacifici GM & Fracchia GN (eds.) European Commission. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg 1995; 179-231.
- (10) Lewis, D.F.V.: *Cytochromes P450: Structure, Function and Mechanism*. Taylor and Francis. London 1996.
- (11) Lewis, D.F.V.: *Molecular modelling of mammalian cytochromes P450: Cytochrome P450 metabolic and toxicological aspects*. (C. Loannides, ed.), CRC Press, Boca Ratón, FL .1996, chapter 14: 355-358
- (12) Lewis, D.F.V.: «Sex and drugs and P450». *Chemistry and industry*, núm. 20, octubre 1997; 381-384.
- (13) Orellana, M., Guajardo, V.: «Actividad del Citocromo P-450 y su alteración en diversas patologías». *Rev Med Chile*, 2004; 132 : 86-89.
- (14) Donato Martín, M.T., O'Connor Blasco, J.E.: *Métodos de evaluación del citocromo P-450 y su papel en el metabolismo de fármacos*. Real Academia de Farmacia, 2004, cap. 10, p. 331-345.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (15) Villar del Fresno, A.M., Bermejo Bescós, P., Martín-Aragón, S.: *Aspectos farmacológicos del Citocromo P-450*. Real Academia de Farmacia, 2004, cap. 11, p. 364-365.
- (16) Schenkman, J.B.: «Steroid metabolism by constitutive cytochromes P450». *Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 1992; 43, 1023-1030.
- (17) Lin, J.H., Lu, A.Y.H.: «Interindividual variability in inhibition and induction of cytochrome P450 enzymes». *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2001; 41:535-67.
- (18) Iannantuono, R., Serra, H.A., Zieher, L.M.: «Absorción, distribución y eliminación de fármacos». En Zieher LM, ed. *Farmacología General y de la Neurotransmisión*, 3.^a ed., Buenos Aires: Ed Ursino, 2004 p. 1-24.
- (19) Guengerich, F. P.: «Cytochromes P450, drugs and diseases». *Mol Interv*, 2003; 3:194-204.
- (20) Guengerich, F.P.: «Human cytochrome P450 enzymes». En Ortiz de Montellano PR, ed. *Cytochrome P450, Structure, Mechanism, and Biochemistry*. 3.^a ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2005. p. 377-530.
- (21) Oscarson, M., Ingelman-Sundberg, M.: «CYP alleles: A web page for nomenclature of human cytochrome P450 alleles». *Drug Metab Pharmacokin*, 2002; 17:491-5.
- (22) Chun, Y.J., Kim, S. (2003): «Discovery of cytochrome P-450 1B1 inhibitors as new promising anti-cancer agents». *Med Res Rev*, 23 (6), 657-668.
- (23) Le Gal, A., Dreano, Y., Lucas, D., Berthou, F. (2003): «Diversity of selective environmental substrates for human cytochrome P-450 2A6 : alkoxyethers, nicotine, coumarin, N-nitrosodiethylamine, and N-nitrosobenzylmethylamine». *Toxicol Lett*, 144(1), 77-91.
- (24) Miksys, S., Lerman, C., Shields, P.G., Mash, D.C., Tyndale, R.F. (2003): «Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain». *Neuropharmacology*, 45 (1), 122-132.
- (25) Lieber, C.S.: «Cytochrome P4502E1: its physiological and pathological role». *Physiol Rev*, 1997; 77: 517-44.
- (26) Gibbs, M., Hosea, N. (2003): «Factors Affecting the Clinical Development of Cytochrome P-450 3A Substrates». *Clin Pharmacokinet*, 42(11), 969-984.
- (27) Lindell, M., Karlson, M.O., Lennernas, H., Palhman, L., Lang, M.A. (2003): «Variable expression of CYP and Pgp genes in the human small intestine». *Eur J Clin Invest*, 33 (6), 493-499.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (28) Alvares, A.P., Prat, W.B.: *Principles of Drug Action*. Eds: William B. Prat & Palmer Taylor. Ed. Churchill Livingstone. Tercera edición. New York, 1990.
- (29) Lin, J.H., Lu, A.: «Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications». *Clin Pharmacokinetic* 1998; 35: 361-90.
- (30) Dierks, E., Stams, K., Lim, H.K., Cornelius, G., Zhang, H., Ball, S.: «A method for the simultaneous evaluation of the activities of seven major human drug metabolizing cytochrome P450s using *in vitro* cocktail of probe substrates and fast gradient liquid chromatography tandem mass spectrometry». *Drug Metab Dispos*, 2001; 99: 23-9.
- (31) Yuan, R., Madani, S., Wei, X., Reynolds, K., Huang, S.M.: «Evaluation of cytochrome p450 probe substrates commonly used by the pharmaceutical industry to study in vitro drug interactions». *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1311-9.
- (32) Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y., Guengerich, F.P. (1994): «Interindividual variations in human cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals : Studies with liver microsomes of 30 japanees and 30 caucasians». *J Pharmacol Exp Ther*, 270, 414-423.
- (33) Fuhr, U. (2000): «Induction of drug metabolising enzymes. Pharmacokinetic and toxicological consequences in humans». *Clin Pharmacokinet*, 38, 493-504.
- (34) Ingelman-Sundberg, M. (2001): «Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of the CYP family of enzymes». *Mutation Res*, 482, 11-19.
- (35) Thompson, T.N. (1997): «Experimental models for evaluating enzyme induction potential of new drug candidates in animals and humans and strategy for their use». *Adv Pharmacol*, 43, 205-229.
- (36) Spatzenegger, M., Jaeger, W. (1995): «Clinical importance of hepatic Cytochrome P-450 in drug metabolism». *Drug Metab Rev*, 27, 397-417.
- (37) Lu, A.Y.H. (1998): «Drug-metabolism research challenges in the new millennium : individual variability in drug therapy and drug safety». *Drug Metab Dispos*, 26, 1217-1222.
- (38) Finch, C.K., Baciewicz, A.M., Selft TH. (2002): «Rifampin and rifabutin drug interactions: an update». *Arch Intern Med*, 162, 985-992.
- (39) Goodman and Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11.^a ed. 2006, pp. 121-125.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (40) Ito, K., Iwatsubo, T., Kanamitsu, S., Ueda, K., Suzuki, H., Sigiyama, Y. (1998): «Prediction of pharmacokinetic alterations caused by drug-drug interactions : metabolic interaction in the liver». *Pharmacol Rev*, 387-411.
- (41) Lin, J.H, Lu, Y.H. (1998): «Inhibition and induction of cytochrome P-450 and the clinical implications». *Clin Pharmacokinetic*, 35, 361-390.
- (42) Nelson, D.L., Cox, M.M. (2006): *Lehninger Principios de Bioquímica*, 6: 209-212.
- (43) Silverman, R.B.: *Mechanism-based Enzyme Inactivation: Chemistry and Enzymology*. CRC Press, 1988.
- (44) VandenBrink, Brooke M.; Isoherranen, N.: «The role of metabolites in predicting drug-drug interactions: Focus on irreversible P450 inhibition». *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2010 January; 13(1): 66-77.
- (45) Rodrigues, A.D. (1999): «Integrated Cytochrome P-450 reaction phenotyping. Attempting to bridge the gap between cDNA-expressed cytochromes P-450 and native human liver microsomes». *Biochem Pharmacol*, 57, 465-480.
- (46) Pelkonen, O., Maenpaa, J., Taavitsainen, P., Rautio, A., Raunio, H.(1998): «Inhibition and Induction of human Cytochrome P-450 (CYP) enzymes». *Xenobiotica*, 28, 1203-1253.
- (47) Guengerich, F.P (1999): «Cytochrome P-450 3A4 : regulation and role in drug metabolism». *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 39, 1-17.
- (48) Dresser, G.K., Spence, J.D., Bailey, D.G. (2000): «Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition». *Clin Pharmacokinet*, 38, 41-57.
- (49) Outman, W.R., Nightingale, C.H.: «Metabolism and fluoroquinolones». *Am J Med*, 1989, 87:37S-42S.
- (50) Podust, L.M., Poulos, T.L., Waterman, M.R.: «Crystal structure of cytochrome P450 14 -sterol demethylase (CYP51) from *Mycobacterium tuberculosis* in complex with azole inhibitors». *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:3068-73.
- (51) Handshin, C., Meyer, U.A.: «Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors». *Pharmacol Rev*, 2003, 55:649-73.
- (52) Bao Ting Zhu: «On the General Mechanism of Selective Induction of Cytochrome P450 Enzymes by Chemicals: Some Theoretical Considerations». *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010 abril, 6(4): 483-494.
- (53) Williams, S.N., Dunham, E., Bradfield, C.A.: «Induction of cytochrome

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- P450 enzymes». En Ortiz de Montellano PR, editor. *Cytochrome P450, Structure, Mechanism, and Biochemistry*. 3.^a ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005, p. 323-376.
- (54) Sueyoshi, T., Negishi, M.: «Phenobarbital response elements of cytochrome P450 genes and nuclear receptors». *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2001, 41:123-43.
 - (55) Riddick, D.S., Lee, C., Bhatena, A., Timsit, Y.E., Cheng, P.Y., Morgan, E.T. et al.: Symposium Article: «Transcriptional suppression of cytochrome P450 genes by endogenous and exogenous chemicals». *Drug Metab Disp*, 2004; 32: 367-75.
 - (56) Wilkinson, G.R.: «Drug Metabolism and variability among patients in drug response». *N Eng J Med*, 2005, 352:2211-21.
 - (57) Wilkinson, G.R.: «Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution and elimination». En Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, eds. Goodman & Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10.^a ed. New York: Mc Graw-Hill, 2001, p. 3-29.
 - (58) Saidón, P., D'Alesio, L., Mazaira, S.: «Fármacos antiepilépticos». En Zieher LM (ed). *Psiconeurofarmacología Clínica y sus Bases neurocientíficas*. 3.^a ed. Buenos Aires: Ed. Ursino, 2003, p. 367-390.
 - (59) De León, J.: «Atypical antipsychotic dosing: The effect of co-medication with anticonvulsivants». *Psychiatr Serv*, 55:125-8.
 - (60) Karch, S.B.: *Pathology of drug abuse*. 4.^a ed. CRC Press. 2009.
 - (61) Wolff, K.: «Characterization of methadone overdose: clinical considerations and the scientific evidence». *Ther Drug Monitor*, 2002, 24(4):457-470.
 - (62) Corkery, J.M., Schifano, F., Ghodse, A.H., Oyefeso, A.: «The effects of methadone and its role in fatalities». *Human Psychopharmacol Clin Exp*, 2004, 19:565-576.
 - (63) Mozayani, A., Raymon, L.: *Handbook of drug interactions. A clinical and forensic guide*. Humana Press, 2004.
 - (64) Segura, L.: *Curso de formación continuada en Toxicología Forense*. Toxicocinética de la metadona. Valencia 20-22 febrero 2008.
 - (65) Bailey, D.G., Malcom, J., Arnold, O., Spence, J.D.: «Grapefruit juice-drug interactions». *Br J Clin Pharmacol*, 1998;46:101-110.
 - (66) Gervasini, G., Carrillo, J.A., Benítez, J.: «Importancia del citocromo P-450 en terapéutica farmacológica». *Real Academia de Farmacia*, 2004, 12: 388-389.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (67) Brockmoller, J., Kirchheiner, J., Meisel, C., Roots, I. (2000): «Pharmacogenetic (diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment». *Pharmacogenomics*, 1: 125-151.
- (68) Wrighton, S.A., Stevens, J.C. (1992): «The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism». *Crit Rev Toxicol*, 22: 1-21.
- (69) Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz, J., Watkins, P.B., Daly, A., Wrighton, S.A., Hall, S.D., Maurel, P., Relling, M., Brimer, C., Yasuda, K., Venkataramanan, R., Strom, S., Thummel, K., Boguski, M.S., Schuetz, E. (2001): «Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression». *Nat Genet*, 27: 383-391.
- (70) Anglicheau, D., Flamant, M., Schlageter, M.H., Martínez, F., Cassinat, B., Beaune, P., Legendre, C., Thervet, E. (2003): «Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation». *Nephrol Dial Transplant*, 18: 2409-2414.
- (71) Vlahakos, D.V., Manginas, A., Chilidou, D., Zamanika, C., Alivizatos, P.A. (2002): «Itraconazole-induced rhabdomyolysis and acute renal failure in a heart transplant recipient treated with simvastatin and cyclosporine». *Transplantation*, 73: 1962-1964.
- (72) Greenblatt, D.J., von Moltke, L.L., Schmider, J., Harmatz, J.S., Shader, R.I. (1996): «Inhibition of human cytochrome P450-3A isoforms by fluoxetine and norfluoxetine: in vitro and in vivo studies». *J Clin Pharmacol*, 36: 792-798.
- (73) von Moltke, L.L., Greenblatt, D.J., Schmider, J., Duan, S.X., Wright, C.E., Harmatz, J.S., Shader, R.I. (1996): «Midazolam hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by fluoxetine, norfluoxetine, and by azole antifungal agents». *J Clin Pharmacol*, 36: 783-791.
- (74) Sproule, B.A., Naranjo, C.A., Brenner, K.E., Hassan, P.C. (1997): «Selective serotonin reuptake inhibitors and CNS drug interactions. A critical review of the evidence». *Clin Pharmacokinet*, 33: 454-471.
- (75) Naranjo, C.A., Sproule, B.A., Knoke, D.M. (1999): «Metabolic interactions of central nervous system medications and selective serotonin reuptake inhibitors». *Int Clin Psychopharmacol*, 14 Suppl 2: S35-47.
- (76) Serra, H.A.: Interacciones medicamentosas metabólicas. Implicaciones sobre psicofármacos y medicación cardiovascular, p. 14.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (77) Monahan, B.P., Ferguson, C.L., Killeavy, E.S., Lloyd, B.K., Troy, J., Cantilena, L.R., Jr. (1990): «Torsades de pointes occurring in association with terfenadine use». *Jama*, 264: 2788-2790.
- (78) Tsai, W.C., Tsai, L.M., Chen, J.H. (1997): «Combined use of astemizole and ketoconazole resulting in torsade de pointes». *J Formos Med Assoc*, 96: 144-146.
- (79) Martínez, C., García-Martín, E., Pizarro, R.M., García-Gamito, F.J., Agúndez, J.A. (2002): «Expression of paclitaxel-inactivating CYP3A activity in human colorectal cancer: implications for drug therapy». *Br J Cancer*, 87: 681-686.
- (80) Dresser, G.K., Spence, J.D., Bailey, D.G. (2000): «Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition». *Clin Pharmacokinet*, 38: 41-57.
- (81) First, M.R., Schroeder, T.J., Michael, A., Hariharan, S., Weiskittel, P., Alexander, J.W. (1993): «Cyclosporine-ketoconazole interaction. Long-term follow-up and preliminary results of a randomized trial». *Transplantation*, 55: 1000-1004.
- (82) Merry, C., Barry, M.G., Mulcahy, F., Ryan, M., Heavey, J., Tjia, J.F., Gibbons, S.E., Breckenridge, A.M., Back, D.J. (1997): «Saquinavir pharmacokinetics alone and in combination with zidovudine in HIV-infected patients». *Aids*, 11: F29-33.
- (83) Dhaini, H.R., Thomas, D.G., Giordano, T.J., Johnson, T.D., Biermann, J.S., Leu, K., Hollenberg, P.F., Baker, L.H. (2003): «Cytochrome P450 CYP3A4/5 expression as a biomarker of outcome in osteosarcoma». *J Clin Oncol*, 21: 2481-2485.
- (84) Mahgoub, A., Idle, J.R., Dring, L.G., Lancaster, R., Smith, R.L. (1977): «Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man». *Lancet*, 2: 584-586.
- (85) Dahl, M.L., Sjoqvist, F. (2000): «Pharmacogenetic methods as a complement to therapeutic monitoring of antidepressants and neuroleptics». *Ther Drug Monit*, 22: 114-117.
- (86) Eap, C.B., Bondolfi, G., Zullino, D., Savary-Cosendai, L., Powell-Golay, K., Kosel, M., Baumann, P. (2001): «Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers». *J Clin Psychopharmacol*, 21: 330-334.
- (87) Shimoda, K., Morita, S., Hirokane, G., Yokono, A., Someya, T., Takahashi, S. (2000): «Metabolism of desipramine in Japanese psychiatric patients: the impact of CYP2D6 genotype on the hydroxylation of desipramine». *Pharmacol Toxicol*, 86: 245-249.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (88) Kaneda, Y., Kawamura, I., Fujii, A., Ohmori, T. (2002): «Serotonin syndrome-“potential” role of the CYP2D6 genetic polymorphism in Asians». *Int J Neuropsychopharmacol*, 5: 105-106.
- (89) Kirchheiner, J., Brosen, K., Dahl, M.L., Gram, L.F., Kasper, S., Roots, I., Sjoqvist, F., Spina, E., Brockmoller, J. (2001): «CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation- specific dosages». *Acta Psychiatr Scand*, 104: 173-192.
- (90) Kohnke, M.D., Griesse, E.U., Stosser, D., Gaertner, I., Barth, G. (2002): «Cytochrome P450 2D6 deficiency and its clinical relevance in a patient treated with risperidone». *Pharmacopsychiatry*, 35: 116-118.
- (91) Ellingrod, V.L., Miller, D., Schultz, S.K., Wehring, H., Arndt, S. (2002): «CYP2D6 polymorphisms and atypical antipsychotic weight gain». *Psychiatr Genet*, 12: 55-58.
- (92) Farin, F.M., Omiecinski, C.J. (1993): «Regiospecific expression of cytochrome P-450s and microsomal epoxide hydrolase in human brain tissue». *J Toxicol Environ Health*, 40: 317-335.
- (93) Eckhardt, K., Li, S., Ammon, S., Schanzle, G., Mikus, G., Eichelbaum, M. (1998): «Same incidence of adverse drug events after codeine administration irrespective of the genetically determined differences in morphine formation». *Pain*, 76: 27-33.
- (94) Martínez, C., Agúndez, J.A., Gervasini, G., Martín, R., Benítez, J. (1997): «Tryptamine: a possible endogenous substrate for CYP2D6». *Pharmacogenetics*, 7: 85-93.
- (95) Monaco, F., Cicolin, A. (1999): «Interactions between anticonvulsant and psychoactive drugs». *Epilepsia*, 40 Suppl 10: S71-76.
- (96) Yamreudeewong, W., De Bisschop, M., Martin, L.G., Lower, D.L. (2003): «Potentially significant drug interactions of class III antiarrhythmic drugs». *Drug Saf*, 26: 421-438.
- (97) Werner, U., Werner, D., Rau, T., Fromm, M.F., Hinz, B., Brune, K. (2003): «Celecoxib inhibits metabolism of cytochrome P450 2D6 substrate metoprolol in humans». *Clin Pharmacol Ther*, 74: 130-137.
- (98) Abdul Manap, R., Wright, C.E., Gregory, A., Rostami-Hodjegan, A., Meller, S.T., Kelm, G.R., Lennard, M.S., Tucker, G.T., Morice, A.H. (1999): «The antitussive effect of dextromethorphan in relation to CYP2D6 activity». *Br J Clin Pharmacol*, 48: 382-387.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (99) Krahenbuhl, S., Menafooglio, A., Giostra, E., Gallino, A. (1998): «Serious interaction between mibefradil and tacrolimus». *Transplantation*, 66: 1113-1115.
- (100) Brosen, K. (1995): «Drug interactions and the cytochrome P450 system. The role of cytochrome P450 1A2». *Clin Pharmacokinet*, 29 Suppl 1: 20-25.
- (101) Carrillo, J.A., Benítez, J. (1994): «Caffeine metabolism in a healthy Spanish population: N-acetylator phenotype and oxidation pathways». *Clin Pharmacol Ther*, 55: 293-304.
- (102) Kalow, W., Tang, B.K. (1991): «Caffeine as a metabolic probe: exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking». *Clin Pharmacol Ther*, 49: 44-48.
- (103) Carrillo, J.A., Benítez, J. (2000): «Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications». *Clin Pharmacokinet*, 39: 127-153.
- (104) Butler, M.A., Iwasaki, M., Guengerich, F.P., Kadlubar, F.F. (1989): «Human cytochrome P-450PA (P-450IA2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines». *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 7696-7700.
- (105) Smith, T.J., Guo, Z., Guengerich, F.P., Yang, C.S. (1996): «Metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by human cytochrome P450 1A2 and its inhibition by phenethyl isothiocyanate». *Carcinogenesis*, 17: 809-813.
- (106) Shou, M., Korzekwa, K.R., Brooks, E.N., Krausz, K.W., González, F.J., Gelboin, H.V. (1997): «Role of human hepatic cytochrome P450 1A2 and 3A4 in the metabolic activation of estrone». *Carcinogenesis*, 18: 207-214.
- (107) Neal, G.E. (1995): «Genetic implications in the metabolism and toxicity of mycotoxins». *Toxicol Lett*, 82-83: 861-867.
- (108) Roberts-Thomson, S.J., McManus, M.E., Tukey, R.H., González, F.J., Holder, G.M. (1995): «Metabolism of polycyclic aza-aromatic carcinogens catalyzed by four expressed human cytochromes P450». *Cancer Res*, 55: 1052-1059.
- (109) Michnovicz, J.J., Bradlow, H.L. (1990): «Induction of estradiol metabolism by dietary indole-3-carbinol in humans». *J Natl Cancer Inst*, 82: 947-949.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (110) Michnovicz, J.J., Bradlow, H.L. (1991): «Altered estrogen metabolism and excretion in humans following consumption of indole-3-carbinol». *Nutr Cancer*, 16: 59-66.
- (111) Sachse, C., Bhambra, U., Smith, G., Lightfoot, T.J., Barrett, J.H., Scollay, J., Garner, R.C., Boobis, A.R., Wolf, C.R., Gooderham, N.J. (2003): «Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (CYP1A2) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism». *Br J Clin Pharmacol*, 55: 68-76.
- (112) Bourrie, M., Meunier, V., Berger, Y., Fabre, G. (1996): «Cytochrome P450 isoform inhibitors as a tool for the investigation of metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes». *J Pharmacol Exp Ther*, 277: 321-332.
- (113) Fuhr, U., Rost, K.L., Engelhardt, R., Sachs, M., Liermann, D., Belloc, C., Beaune, P., Janezic, S., Grant, D., Meyer, U.A., Staib, A.H. (1996): «Evaluation of caffeine as a test drug for CYP1A2, NAT2 and CYP2E1 phenotyping in man by in vivo versus in vitro correlations». *Pharmacogenetics*, 6: 159-176.
- (114) Carrillo, J.A., Benítez, J. (1996): «CYP1A2 activity, gender and smoking, as variables influencing the toxicity of caffeine». *Br J Clin Pharmacol*, 41: 605-608.
- (115) Brosen, K. (1996): «Drug-metabolizing enzymes and therapeutic drug monitoring in psychiatry». *Ther Drug Monit*, 18: 393-396.
- (116) Meyer, M.C., Baldessarini, R.J., Goff, D.C., Centorrino, F. (1996): «Clinically significant interactions of psychotropic agents with antipsychotic drugs». *Drug Saf*, 15: 333-346.
- (117) Carrillo, J.A., Herraiz, A.G., Ramos, S.I., Benítez, J. (1998): «Effects of caffeine withdrawal from the diet on the metabolism of clozapine in schizophrenic patients». *J Clin Psychopharmacol*, 18: 311-316.
- (118) Carrillo, J.A., Herraiz, A.G., Ramos, S.I., Gervasini, G., Vizcaíno, S., Benítez, J. (2003): «Role of the smoking-induced cytochrome P450 (CYP)1A2 and polymorphic CYP2D6 in steady-state concentration of olanzapine». *J Clin Psychopharmacol*, 23: 119-127.
- (119) Gervasini, G., Vizcaíno, S., Herraiz, A.G., Benítez, J., Carrillo, J.A. (2003): «Applicability of an assay for routine monitoring of highly variable levels of olanzapine using HPLC with mass spectrometry detection». *Clin Chem*, 49: 2088-91.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (120) Carrillo, J.A., Ramos, S.I., Herraiz, A.G., Llerena, A., Agúndez, J.A., Bercez, R., Durán, M., Benítez, J. (1999): «Pharmacokinetic interaction of fluvoxamine and (thioridazine in schizophrenic patients». *J Clin Psychopharmacol*, 19: 494-499.
- (121) McFayden, M.C., Melvin, W.T., Murray, G.I. (1998): «Regional distribution of individual forms of cytochrome P450 mRNA in normal adult human brain». *Biochem Pharmacol*, 55: 825-830.
- (122) Agúndez, J.A., Gallardo, L., Martínez, C., Gervasini, G., Benítez, J. (1998): «Modulation of CYP1A2 enzyme activity by indoleamines: inhibition by serotonin and tryptamine». *Pharmacogenetics*, 8: 251-258.
- (123) Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y., Guengerich, F.P. (1994): «Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians». *J Pharmacol Exp Ther*, 270: 414-423.
- (124) Goldstein, J.A., De Morais, S.M. (1994): «Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily». *Pharmacogenetics*, 4: 285-299.
- (125) Inoue, K., Yamazaki, H., Imiya, K., Akasaka, S., Guengerich, F.P., Shimada, T. (1997): «Relationship between CYP2C9 and 2C19 genotypes and tolbutamide methyl hydroxylation and S-mephenytoin 4'-hydroxylation activities in livers of Japanese and Caucasian populations». *Pharmacogenetics*, 7: 103-113.
- (126) Sullivan-Klose, T.H., Ghanayem, B.I., Bell, D.A., Zhang, Z.Y., Kaminsky, L.S., Shenfield, G.M., Miners, J.O., Birkett, D.J., Goldstein, J.A. (1996): «The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism». *Pharmacogenetics*, 6: 341-349.
- (127) Linder, M.W., Looney, S., Adams, J.E., 3rd, Johnson, N., Antonino-Green, D., Laceyfield, N., Bukaveckas, B.L., Valdés, R., Jr. (2002): «Warfarin dose adjustments based on CYP2C9 genetic polymorphisms». *J Thromb Thrombolysis*, 14: 227-232.
- (128) Kidd, R.S., Curry, T.B., Gallagher, S., Edeki, T., Blaisdell, J., Goldstein, J.A. (2001): «Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin». *Pharmacogenetics*, 11: 803-808.
- (129) Martínez, C., García-Martín, E., Ladero, J.M., Sastre, J., García-Gamito, F., Díaz-Rubio, M., Agúndez, J.A. (2001): «Association of CYP2C9 ge-

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- notypes leading to high enzyme activity and colorectal cancer risk». *Carcinogenesis*, 22: 1323-1326.
- (130) García-Martín, E., Martínez, C., Ladero, J.M., Gamito, F.J., Rodríguez-Lescure, A., Agúndez, J.A. (2002): «Influence of cytochrome P450 CYP2C9 genotypes in lung cancer risk». *Cancer Lett*, 180: 41-46.
 - (131) Ghahramani, P., Ellis, S.W., Lennard, M.S., Ramsay, L.E., Tucker, G.T. (1997): «Cytochromes P450 mediating the N-demethylation of amitriptyline». *Br J Clin Pharmacol*, 43: 137-144.
 - (132) Liu, Z.Q., Shu, Y., Huang, S.L., Wang, L.S., He, N., Zhou, H.H. (2001): «Effects of CYP2C19 genotype and CYP2C9 on fluoxetine N-demethylation in human liver microsomes». *Acta Pharmacol Sin*, 22: 85-90.
 - (133) Heimark, L.D., Wienkers, L., Kunze, K., Gibaldi, M., Eddy, A.C., Trager, W.F., O'Reilly, R.A., Goulart, D.A. (1992): «The mechanism of the interaction between amiodarone and warfarin in humans». *Clin Pharmacol Ther*, 51: 398-407.
 - (134) Madsen, H., Enggaard, T.P., Hansen, L.L., Klitgaard, N.A., Brosen, K. (2001): «Fluvoxamine inhibits the CYP2C9 catalyzed biotransformation of tolbutamide». *Clin Pharmacol Ther*, 69: 41-47
 - (135) Pond SM, Birkett, DJ and Wade, DN (1977) Mechanisms of inhibition of tolbutamide metabolism: phenylbutazone, oxyphenbutazone, sulfa-phenazole. *Clin Pharmacol Ther* 22: 573-579.
 - (136) Miners, J.O., Foenander, T., Wanwimolruk, S., Gallus, A.S., Birkett, D.J. (1982): «The effect of sulphinpyrazone on oxidative drug metabolism in man: inhibition of tolbutamide elimination». *Eur J Clin Pharmacol*, 22: 321-326.
 - (137) Miners, J.O., Foenander, T., Wanwimolruk, S., Gallus, A.S., Birkett, D.J. (1982): «Interaction of sulphinpyrazone with warfarin». *Eur J Clin Pharmacol*, 22: 327-331.
 - (138) Goldstein, J.A., Ishizaki, T., Chiba, K., De Morais, S.M., Bell, D., Krahn, P.M., Evans, D.A. (1997): «Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and American black populations». *Pharmacogenetics*, 7: 59-64.
 - (139) Hoskins, J.M., Shenfield, G.M., Gross, A.S. (2003): «Concordance between proguanil phenotype and CYP2C19 genotype in Chinese». *Eur J Clin Pharmacol*.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (140) Yu, B.N., Chen, G.L., He, N., Ouyang, D.S., Chen, X.P., Liu, Z.Q., Zhou, H.H. (2003): «Pharmacokinetics of citalopram in relation to genetic polymorphism of CYP2C19». *Drug Metab Dispos*, 31: 1255-1259.
- (141) Ando, Y., Price, D.K., Dahut, W.L., Cox, M.C., Reed, E., Figg, W.D. (2002): «Pharmacogenetic associations of CYP2C19 genotype with in vivo metabolisms and pharmacological effects of thalidomide». *Cancer Biol Ther*, 1: 669-673.
- (142) Egan, L.J., Myhre, G.M., Mays, D.C., Dierkhising, R.A., Kammer, P.P. and Murray, J.A. (2003): «CYP2C19 pharmacogenetics in the clinical use of proton-pump inhibitors for gastro-oesophageal reflux disease: variant alleles predict gastric acid suppression, but not oesophageal acid exposure or reflux symptoms». *Aliment Pharmacol Ther*, 17: 1521-1528.
- (143) Furuta, T., Shirai, N., Ohashi, K., Ishizaki, T. (2003): «Therapeutic impact of CYP2C19 pharmacogenetics on proton pump inhibitor-based eradication therapy for *Helicobacter pylori*». *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 25: 131-143.
- (144) Suzuki, Y., Shioiri, T., Muratake, T., Kawashima, Y., Sato, S., Hagiwara, M., Inoue, Y., Shimoda, K., Someya, T. (2003): «Effects of concomitant flvoxamine on the metabolism of alprazolam in Japanese psychiatric patients: interaction with CYP2C19 mutated alleles». *Eur J Clin Pharmacol*, 58: 829-833.
- (145) Murphy, A., Wilbur, K. (2003): «Phenytoin-diazepam interaction». *Ann Pharmacother*, 37: 659-663.
- (146) Ko, J.W., Desta, Z., Soukhova, N.V., Tracy, T., Flockhart, D.A. (2000): «In vitro inhibition of the cytochrome P450 (CYP450) system by the antiplatelet drug ticlopidine: potent effect on CYP2C19 and CYP2D6». *Br J Clin Pharmacol*, 49: 343-351.
- (147) Desta Z, Zhao, X, Shin, JG and Flockhart, DA (2002) Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* 41: 913-958.
- (148) Lakehal, F., Wurden, C.J., Kalthorn, T.F., Levy, R.H. (2002): «Carbamazepine and oxcarbazepine decrease phenytoin metabolism through inhibition of CYP2C19». *Epilepsy Res*, 52: 79-83.
- (149) Zimmer, R., Gieschke, R., Fischbach, R., Gasic, S. (1990): «Interaction studies with moclobemide». *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 360: 84-86.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (150) Leroi, I., Walentynowicz, M.A. (1996): «Fluoxetine-imipramine interaction». *Can J Psychiatry*, 41: 318-319.
- (151) Messina, E.S., Tyndale, R.F., Sellers, E.M. (1997): «A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes». *J Pharmacol Exp Ther*, 282: 1608-1614.
- (152) Oscarson, M. (2001): «Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 2A6(CYP2A6) gene: implications for interindividual differences in nicotine metabolism». *Drug Metab Dispos*, 29: 91-95.
- (153) Sotaniemi, E.A., Rautio, A., Backstrom, M., Arvela, P., Pelkonen, O. (1995): «CYP3A4 and CYP2A6 activities marked by the metabolism of lignocaine and coumarin in patients with liver and kidney diseases and epileptic patients». *Br J Clin Pharmacol*, 39: 71-76.
- (154) Sellers, E.M., Kaplan, H.L., Tyndale, R.F. (2000): «Inhibition of cytochrome P450 2A6 increases nicotine's oral bioavailability and decreases smoking». *Clin Pharmacol Ther*, 68: 35-43.
- (155) Pianezza, M.L., Sellers, E.M., Tyndale, R.F. (1998): «Nicotine metabolism defect reduces smoking». *Nature*, 393: 750.
- (156) Lorient, M.A., Rebuissou, S., Oscarson, M., Cenee, S., Miyamoto, M., Ariyoshi, N., Kamataki, T., Hemon, D., Beaune, P., Stucker, I. (2001): «Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2A6 in a case-control study on lung cancer in a French population». *Pharmacogenetics*, 11: 39-44.
- (157) Tiihonen, J., Pesonen, U., Kauhanen, J., Koulu, M., Hallikainen, T., Leskinen, L., Salonen, J.T. (2000): «CYP2A6 genotype and smoking». *Mol Psychiatry*, 5: 347-348.
- (158) Miyamoto, M., Umetsu, Y., Dosaka-Akita, H., Sawamura, Y., Yokota, J., Kunitoh, H., Nemoto, N., Sato, K., Ariyoshi, N., Kamataki, T. (1999): «CYP2A6 gene deletion reduces susceptibility to lung cancer». *Biochem Biophys Res Commun*, 261: 658-660.
- (159) Zeldin, D.C. (2001): «Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism». *J Biol Chem*, 276: 36059-36062.
- (160) Dai, D., Zeldin, D.C., Blaisdell, J.A., Chanas, B., Coulter, S.J., Ghannayem, B.I., Goldstein, J.A. (2001): «Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid». *Pharmacogenetics*, 11: 597-607.
- (161) Muck, W. (2000): «Clinical pharmacokinetics of cerivastatin». *Clin Pharmacokinet*, 39: 99-116.

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

- (162) Wang, J.S., Neuvonen, M., Wen, X., Backman, J.T., Neuvonen, P.J. (2002): «Gemfibrozil inhibits CYP2C8-mediated cerivastatin metabolism in human liver microsomes». *Drug Metab Dispos*, 30: 1352-1356.
- (163) Niemi, M., Backman, J.T., Granfors, M., Laitila, J., Neuvonen, M., Neuvonen, P.J. (2003): «Gemfibrozil considerably increases the plasma concentrations of rosiglitazone». *Diabetologia*, 46: 1319-1323.
- (164) Lieber, C.S. (1997): «Cytochrome P-4502E1: its physiological and pathological role». *Physiol Rev*, 77: 517-544.
- (165) Nakamura, K., Iwahashi, K., Ameno, K., Sekine, Y., Suzuki, K., Minabe, Y., Mori, N. (2003): «CYP2E1 and clinical features in alcoholics». *Neuropsychobiology*, 47: 86-89.
- (166) Song, B.J. (1996): «Ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1): biochemistry, molecular biology and clinical relevance: 1996 update». *Alcohol Clin Exp Res*, 20: 138A-146A.
- (167) Klotz, U., Ammon, E. (1998): «Clinical and toxicological consequences of the inductive potential of ethanol». *Eur J Clin Pharmacol*, 54: 7-12.
- (168) Raucy, J.L. (1995): «Risk assessment: toxicity from chemical exposure resulting from enhanced expression of CYP2E1». *Toxicology*, 105: 217-224.
- (169) Lucas, D., Ferrara, R., Gonzales, E., Albores, A., Manno, M., Berthou, F. (2001): «Cytochrome CYP2E1 phenotyping and genotyping in the evaluation of health risks from exposure to polluted environments». *Toxicol Lett*, 124: 71-81.
- (170) Kim, R.B., Yamazaki, H., Chiba, K., O'Shea, D., Mimura, M., Guengerich, F.P., Ishizaki, T., Shimada, T., Wilkinson, G.R. (1996): «In vivo and in vitro characterization of CYP2E1 activity in Japanese and Caucasians». *J Pharmacol Exp Ther*, 279: 4-11.
- (171) Node, K., Huo, Y., Ruan, X., Yang, B., Spiecker, M., Ley, K., Zeldin, D.C., Liao, J.K. (1999): «Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids». *Science*, 285: 1276-1279.
- (172) Moran, J.H., Mitchell, L.A., Bradbury, J.A., Qu, W., Zeldin, D.C., Schnellmann, R.G., Grant, D.F. (2000): «Analysis of the cytotoxic properties of linoleic acid metabolites produced by renal and hepatic P450s». *Toxicol Appl Pharmacol*, 168: 268-279.
- (173) Hashizume, T., Imaoka, S., Mise, M., Terauchi, Y., Fujii, T., Miyazaki, H., Kamataki, T., Funae, Y. (2002): «Involvement of CYP2J2 and CYP4F12

Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. Importancia clínica

in the metabolism of ebastine in human intestinal microsomes. *J Pharmacol Exp Ther*, 300: 298-304.

- (174) Wu, S., Moomaw, C.R., Tomer, K.B., Falck, J.R., Zeldin, D.C. (1996): «Molecular cloning and expression of CYP2J2, a human cytochrome P450 arachidonic acid epoxygenase highly expressed in heart». *J Biol Chem*, 271: 3460-3468.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Ana María Marín Fernández y Eva Arribas Arbiol

1. Introducción

Los avances en el campo de la terapéutica nos dirigen actualmente hacia la búsqueda de la medicina personalizada. Los medicamentos son una de las causas mas comunes de efectos adversos, aumentando la morbi-mortalidad, así como los costes sanitarios (1, 2). Mientras un medicamento determinado, a dosis estándar, tiene un efecto beneficioso en un paciente, en otro puede desde no tener el efecto deseado, a producir algún tipo de reacción adversa (RAM), de mayor o menor relevancia.

Concentrándonos en el motivo de esta monografía, sabemos, que muchas de estas reacciones «inesperadas» en los tratamientos farmacológicos, tienen una relación importante con el metabolismo de esas sustancias, y es por este motivo, por lo que la variabilidad en los enzimas del citocromo P450, supone un amplio campo de investigación.

La respuesta de cada persona a un medicamento es de origen multifactorial, depende de la interrelación de diversos factores, tanto ambientales como genéticos (3). La impronta genética de cada individuo determina su comportamiento ante los fármacos. No se sabe cuantos genes están implicados desde que un fármaco entra en el organismo humano, hasta que se elimina, lo que sí se sabe es que el perfil genético del individuo permanece estable a lo largo de la vida y hace a cada individuo único e irrepetible a diferencia de otras variables que también pueden influir en la respuesta a los fármacos (4). Del mismo modo, la heterogeneidad genética de la enfermedad también tiene su importancia. Casi todas las enfermedades, en general son conjuntos de subtipos que comparten rasgos clínicos, paraclínicos y hasta histopatológicos. La enfermedad ha pasado de ser conceptualizada a nivel de células órganos y sistemas, a caracterizarla en términos de moléculas y genes, por lo que sería el patrón genético expresado el que llevaría al éxito o fracaso de un determinado tratamiento (5).

La finalización del Proyecto Genoma Humano ha revolucionado la medicina del siglo XXI, lo que permitirá comprender mejor la interacción entre los componentes genéticos de las enfermedades y su fisiopatología. Gracias a este proyecto, ampliado actualmente en el denominado «Proyecto Internacional HapMap (6), los investigadores tratan de definir patrones de asociación entre diferentes variantes génicas y así poder seleccionar un mínimo de SNPs que

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

capturen la máxima diversidad del genoma humano, lo cual evitaría la necesidad de genotipar todos los alelos (7).

Hay dos disciplinas que tratan de explicar las diferencias inter-individuales de la respuesta a los fármacos. Estas disciplinas son la farmacogenética, y su versión cuantitativa más reciente, la farmacogenómica.

Fue Vogel en 1959 el primero en introducir el término farmacogenética para explicar la variación individual en la respuesta a medicamentos (8). La ICH (Conference of Harmonisation) define los dos términos:

Farmacogenómica como el estudio de las variaciones de las características del RNA y DNA relacionadas con la respuesta a los fármacos, y el término **Farmacogenética** como el estudio de las variaciones en la secuencia de DNA relacionadas en la respuesta a los fármacos (9).

La farmacogenética parte de la premisa de que la estructura genética del individuo tiene un papel muy importante en la respuesta a los fármacos y por tanto se puede explicar una respuesta farmacológica a partir de un genotipo. En su sentido mas amplio comprende a la farmacogenómica, que utiliza herramientas para buscar en el genoma completo los factores multigénicos que determinan la respuesta farmacológica (3); es decir, la forma en que dichos genes manifiestan sus variaciones y de qué manera estas variaciones pueden interactuar para configurar el fenotipo de cada individuo, en lo que afecta a su respuesta a los medicamentos.

La farmacogenómica estudia en su conjunto a todos los genes farmacológicamente relevantes (10) y la manera en que estos genes presentan sus variaciones para manifestar el fenotipo.

Hay múltiples mecanismos por lo que un polimorfismo resulta en un fenotipo alterado de respuesta a un fármaco:

- Cambia la secuencia de aminoácidos de la proteína.
- Se altera la región del promotor de un gen.
- Se pierde el gen o se producen varias copias de él (11).

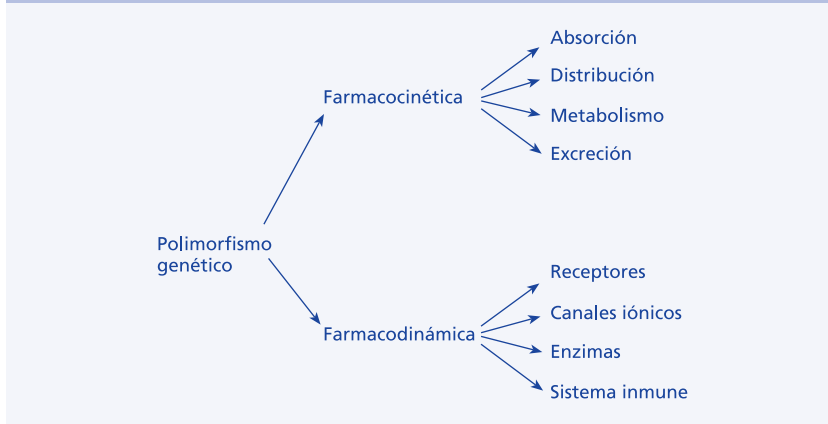
Por tanto, la farmacogenética y la farmacogenómica tratan de explicar las diferencias interindividuales de la respuesta a los fármacos observadas en las poblaciones (12).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Desde la disciplina de la farmacología los fármacos se tratan desde dos perspectivas:

Una perspectiva farmacodinámica y otra farmacocinética. La acción farmacológica de un medicamento estará condicionada por el polimorfismo genético, que influye en ambos procesos, farmacocinético y farmacodinámico. Los genes que codifican para las enzimas encargadas del metabolismo, transporte, recepción y apertura de canales iónicos pueden alterar la eficacia del tratamiento o producir riesgos de que exista una reacción adversa.

Figura 1. Imagen tomada de (10)



En este sentido, los genes CYP, exhiben una amplia variabilidad genética, que frecuentemente deriva en alteraciones de la actividad enzimática. Esto se traduce en alteraciones en los efectos de la medicación, por lo que el genotipado de estas enzimas metabólicas tiene un importante potencial en lo que se refiere a la optimización en la terapéutica farmacológica (13, 14).

2. Definición

Autores como Ford en 1940 (15), Cavalli-Sforza y Bodmer en 1971 (16), Vogel y Motulsky en 1986 (17) y Meyer en 1991 (18), han contribuido a la definición de polimorfismo genético. Hablamos de polimorfismo genético cuando en una población se da una variación alélica con una frecuencia igual o superior al 1% (3).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Un gen específico codifica cada enzima P450, y cada individuo posee un alelo de cada padre. Nos referimos a los alelos como «salvajes» (*wild Type*) o variantes, siendo el alelo salvaje el más común en la población general.

- Un metabolizador normal (*extensive*), recibe dos copias de alelos «wild type». Los polimorfismos ocurren cuando una variante alélica reemplaza a uno o los dos alelos *wild type*.
- Un metabolizador pobre «*poor*», posee dos copias de variantes alélicas, ya que las variantes alélicas normalmente codifican P450 sin actividad, o con actividad reducida (19).
- Los metabolizadores ultrarápidos tienen múltiples copias de alelos salvajes, lo que se traduce en un exceso de actividad enzimática (20).

Los polimorfismos genéticos de enzimas P450, son también responsables de las variaciones observadas en la respuesta a medicamentos entre pacientes de diferentes etnias (11, 21), por ejemplo, el 7% de personas blancas, y del 2-7% de personas negras son metabolizadores pobres de medicamentos dependientes del CYP2D6, responsable del metabolismo de muchos beta-bloqueantes, antidepresivos, y opiáceos (22, 23).

Los datos que se tienen hasta el momento sugieren que los polimorfismos genéticos son los responsables de entre el 15-30% de la respuesta a fármacos (24). Sin embargo, no todos los polimorfismos son funcionales (25). Los polimorfismos de un solo nucleótido comprenden al menos el 90% de todos los polimorfismos del genoma humano, con lo que es esperable, que la mayoría de las técnicas bioinformáticas desarrolladas vayan dirigidas a detectar este tipo de mutación.

Las variaciones del fenotipo humano se han relacionado con dos tipos principales de variaciones de secuencias, los Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), y las Inserciones / deleciones (3), que citaremos muy brevemente en este capítulo.

2.1. Polimorfismos de un solo nucleótido

Los polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs, son sustituciones de un solo par de bases, con una frecuencia de al menos un 1%. Su frecuencia en el geno-

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

ma humano es de aproximadamente un SNP por cada varias centenas a un millar de pares de bases, dependiendo de la región génica (26, 27). Se presentan en la actualidad como marcadores genéticos de elección, debido a su elevada distribución en el genoma humano (28, 29).

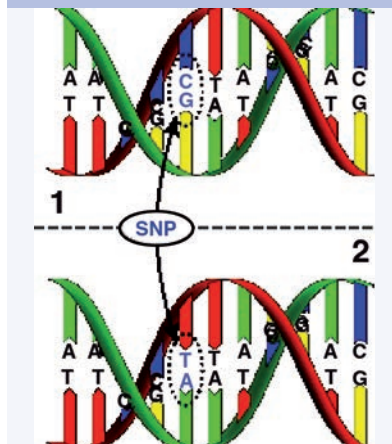
Los SNPs se dividen en (17):

— **cSNP**: SNPs en la región codificadora. Se subdividen en:

- **No sinónimos**: o mutación de aminoácido, cuando el cambio del par de bases provoca la sustitución del aminoácido, lo que puede modificar la estructura y estabilidad de la proteína, su afinidad al sustrato, o introducir un codón de terminación.
- **Sinónimo**: o codificador, cuando la sustitución del par de bases dentro de un codón no modifica el aminoácido codificado. Son mucho mas frecuentes que los No sinónimos (3).

— **SNPs en regiones NO codificadoras**. Tienen consecuencias funcionales, y son muy utilizados con fines de individualización, por lo que se están incluyendo en baterías de marcadores, sobre todo en estudios forenses.

Figura 2. Imagen tomada de <http://www.dnabaser.com>. Se observa gráficamente el cambio de C y G por A y T



Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

2.2. Inserciones/deleciones

Son mucho menos frecuentes en el genoma humano y son especialmente esporádicas en las regiones que codifican genes. Son el segundo grupo más importante, y pueden tener cualquiera de los efectos de las sustituciones de los SNP: repeticiones cortas en el promotor o inserciones/deleciones grandes que añaden o sustraen aminoácidos.

Estos polimorfismos también participan en las duplicaciones de genes, multiplicación de genes de la línea germinativa que se hereda de manera estable y que origina una mayor expresión y actividad de las proteínas, o deleciones de genes que provocan la falta de producción proteínica (17).

Miras Portugal, MT y Gualix, J, hacen una clasificación de los polimorfismos de CYP según su estructura y función (30):

1. Polimorfismos en la zona de interacción con el hemo y reacción de monooxigenasa: Las mutaciones ocurridas en esta región pueden ser silenciosas en relación al metabolismo total de la sustancia (endógena o exógena), pero muy importantes en lo relacionado con la producción de especies reactivas de oxígeno y toxicidad celular.
2. Cambios en la zona de reconocimiento y unión al sustrato: modificaciones aquí pueden llevar a la pérdida de capacidad para metabolizar ciertos compuestos. Si son compuestos endógenos, podríamos prever que se produciría una enfermedad metabólica clásica, mientras que si son xenobióticos, cabría esperar cambios en algunas propiedades farmacocinéticas.
3. Polimorfismos en la zona de anclaje en la membrana del retículo, e interacción con la enzima reductasa: pueden producirse por la sustitución de los aminoácidos hidrofóbicos por otros más hidrófilos en las zonas de anclaje e interacción. Esto se traduce en alteraciones en la cadena de transporte, y por lo tanto en alteración del metabolismo del sustrato de la reacción. Se sospecha que la mayoría de las especies reactivas de oxígeno en el citosol hepático proceden de esta reacción.
4. Polimorfismos en las zonas promotoras no codificantes: tendrían importancia a la hora de la inducción de la expresión por diferentes xenobióticos, pudiendo incluso carecer de la proteína.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

5. Polimorfismos debidos a formación de cadenas incompletas: por aparición de un codón de terminación prematuro. La proteína suele carecer de actividad enzimática.
6. Otros. En este apartado se pueden incluir modificaciones en zonas que mantienen la configuración espacial del CYP, o su interacción con el medio citosólico, ya sean solventes, iones, u otras proteínas solubles.

Actualmente se conocen 74 familias de genes CYP, de las cuales 43, son humanas. Los genes CYP se clasifican en 18 familias: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 11, 17, 19, 20, 21, 24, 26, 27, 39, 46 y 51 (31).

La doble dotación genética en los seres humanos (paterno y materno), permite tener dos genes CYP del mismo tipo, los dos genes pueden ser idénticos alelos o diferentes, si existen polimorfismos. La presencia de estas variantes alelicas en determinados individuos es responsable de la variabilidad en la respuesta farmacológica (32).

3. Importancia de los polimorfismos

La variabilidad en los efectos de los fármacos ha sido investigada desde los años 50 (33). Las primeras observaciones datan de la Segunda Guerra Mundial, en la cual se puso en evidencia que había una mayoría de soldados americanos de raza negra que tenían problemas de hemólisis cuando tomaban el antimalárico primaquina. Este hecho pudo explicarse más adelante debido a la deficiencia de Glucosa -6-fosfato deshidrogenasa (34). Cuando se introdujo la Isoniazida en el tratamiento de la tuberculosis, también se observó que había diferencias en la velocidad de acetilación de diferentes fármacos (35).

Los isoenzimas del CYP-450 juegan un papel fundamental en la magnitud y duración de los efectos de muchos fármacos ya sea por su papel en el catabolismo de éstos hacia metabolitos inactivos o en la bioactivación de profármacos a fármacos activos. Estas isoenzimas están también implicadas en la formación de metabolitos reactivos, que pueden ser alergenitos, tóxicos o mutagénicos (36).

Para cada isoenzima del CYP existen varios polimorfismos genéticos y aunque no todos son relevantes a nivel fenotípico existen algunos de ellos que son determinantes en el metabolismo de fármacos y contaminantes ambientales y de ahí la importancia de su estudio (37). En humanos, las familias impli-

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

cadadas en el metabolismo de xenobióticos son las CYP1, CYP2 y CYP3 (11, 38). Prácticamente el 50% de la totalidad de citocromos P450 en humanos pertenecen a alguna de estas tres familias, aunque todavía muchas funciones catalíticas no están determinadas (39). La presencia de un polimorfismo genético puede poseer alguna relevancia a nivel funcional, lo que incluiría cambios en el nivel de expresión del RNA mensajero o la proteína, la selectividad por el sustrato o su actividad enzimática (40).

En un estudio reciente, se revisó la ruta de eliminación de los 200 medicamentos más vendidos por prescripción en los EE.UU. y se encontró que cerca de 80% de los fármacos eran metabolizados por las familias 1, 2 y 3 del CYP-450 y que la mayor contribución la hacían las isoenzimas CYP3A4/5 (37%), CYP2C9 (17%), CYP2D6 (15%), CYP2C19 (10%), CYP1A2 (9%), CYP2C8 (6%) y CYP2B6 (4%). Las enzimas CYP1A2, CYP2C8 y CYP3A4, que carecen de polimorfismos funcionales, son responsables del metabolismo de la mitad de estos fármacos, mientras la otra mitad se metaboliza por la ruta de las isoenzimas CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6, cuyos genes son ricos en polimorfismos que causan cambios en la expresión, selectividad o actividad de la enzima, que se reflejan en variabilidad en la respuesta a fármacos (40).

En el metabolismo normal de un fármaco, suelen intervenir dos o más isoformas CYP y otros enzimas fármaco-metabolizantes, generándose muchos metabolitos primarios y secundarios. El metabolismo catalizado por CYP, suele ser regio y estereo-selectivo; esta última característica es importante si el medicamento administrado es un racemato y los enantiómeros poseen diferentes actividades farmacológicas (41) (ejemplos, metadona, talidomida, etc.).

A continuación describiremos los principales polimorfismos implicados en el metabolismo de fármacos, así como sus repercusiones fundamentales.

4. Principales isoformas del CYP450

Las enzimas polimórficas metabolizadoras de xenobióticos pueden dividirse en dos clases (42):

- *Clase I*: compuesta por CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1 y CYP3A4. Son enzimas bien conservadas, y que no muestran polimorfismos muy importantes, aunque son activas en el metabolismo de drogas y precarcinógenos.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- *Clase II*: compuesta por CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6. Son altamente polimórficas y activas en el metabolismo de drogas, no en el de precarcinógenos.

4.1. Familia CYP1

Miembros de la familia CYP 1 están implicados en la detoxificación o bioactivación de numerosos contaminantes ambientales y otras sustancias como flavonoides y aminas aromáticas. Los genes para la familia CYP1 en vertebrados comprende 4 subfamilias CYP1A, CYP1B, CYP1C, y CYP1D. Recientemente se ha identificado el gen CYP1D en peces, pero todavía esta información no es extrapolable a mamíferos (43).

Son sustratos frecuentes de esta familia, las moléculas altamente hidrofóbicas, así como las moléculas de estructura parcialmente planar, incluidos muchos hidrocarburos policíclicos aromáticos, y aminas heterocíclicas. Todas las enzimas CYP1 humanas son inducibles vía receptor de hidrocarburo aromático (AH) (36).

Los genes CYP1A1, CYP1A2 Y CYP1B1 son los más importantes en cuanto al metabolismo de fármacos en seres humanos. Los tres tienen una característica en común, son activados tanto por hidrocarburos aromáticos policíclicos como por el tabaco (44). Aproximadamente una décima parte de la población muestra una elevada inducción de CYP1A1 y puede tener un mayor riesgo de desarrollar determinados tipos de cáncer (45).

El CYP1A1 y CYP1A2 se encuentran en el cromosoma 15 conteniendo 9 exones cada uno. Constituye la mayor fracción del citocromo P450 extrahepático (46). El CYP1B1 se encuentra en el cromosoma 2 y solo contiene 4 exones. Tanto el CYP1A1 como el CYP1B1 no parecen actuar sobre los fármacos del mercado aunque, el CYP1A1 puede tener relación con reacciones alérgicas o tóxicas por generación de metabolitos extrahepáticos (43).

La inducción del **CYP1A1** exhibe polimorfismo genético y el fenotipo se presenta como autosómico dominante. Tiene al menos 15 SNPs validados. Uno de los polimorfismos más relevantes es el cambio de una isoleucina por una valina en el exón 7. Este cambio procede de la sustitución de una sola base A por G en dicho exón (2455A>G), y se denomina CYP1A1*2C. Posee actividad hidrolasa y se asocia a un mayor riesgo de padecer cáncer de boca al masticar

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

hojas de betete (30). La mutación CYP1A1*2^a corresponde al cambio de T por C en la posición 3.801 y favorece la aparición de cáncer de pulmón y colon en individuos homocigotos (47).

El **CYP1A2** supone aproximadamente un 13% del contenido en CYP del hígado, y está implicado en el metabolismo de un gran número de drogas así como de la activación de numerosos promutágenos y procarcinógenos de origen alimenticio o medioambiental (48). La variabilidad interindividual en la actividad del CYP1A2 es significativa. Encontramos dos alelos interesantes, CYP1A2*1F (-163C>A, rs762551) y CYP1A2*1K ([-739T>G;- 729C>T; -163C>A]). El CYP1A2*1F parece que influye en la capacidad de inducción del gen, y afecta «in vivo» a la magnitud del metabolismo de la cafeína, con lo que se puede relacionar por lo tanto, el fenotipo del CYP1A2 con este metabolismo (49).

El CYP1A2 podría estar implicado en el metabolismo de metadona, aunque su significado clínico in vivo todavía no ha sido demostrado (50, 51). El ciprofloxacino administrado durante 6 meses a pacientes en metadona, produce sintomatología de sobredosificación de la misma (somnolencia, depresión respiratoria) debido a la inhibición de los citocromos 1A2 y 3A4 (52).

El **CYP1B1** se encuentra en el cromosoma 2 y contiene 3 exones y dos intrones (53). Codifica una proteína de 543 aminoácidos que se expresa en diferentes tejidos extrahepáticos como el ocular (54). Se han identificado más de 26 polimorfismos en humanos, de los cuales, 19 muestran cambios en los aminoácidos (55). En este sentido es destacable el hecho de que mutaciones en este gen (alelos nulos) causan glaucoma congénito primario (PCG). Se cree, que la relación causal podría ser la participación de este citocromo en la biosíntesis y degradación del ácido retinoico (56).

La sobreexpresión de CYP1B1 en tejidos tumorales incrementa la conversión de estradiol en 4-OH-estradiol, lo que posiblemente tenga importancia en la carcinogénesis de los tumores de mama y de endometrio (57).

Los datos de las últimas publicaciones sugieren que los polimorfismos combinados de CYP1B1 con enzimas metabólicas de la fase II (Glutathione S-Transferase (GST) y N-acetil transferase), podrían influir en la susceptibilidad hacia los factores de riesgo a padecer cáncer (58). En los estudios de Van Em-
burgh y colaboradores, se ha observado la relación entre los polimorfismos CYP1B1 y GST en la etiología del cáncer de mama, sobre todo en mujeres menores de 60 años (59).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

4.2. Familia CYP2

La familia 2 comprende al menos 5 subfamilias: CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D, CYP2E (60).

En humanos la familia 2A tiene tres genes, CYP2A6, CYP2A7 y CYP2A13, aunque el 2A7 es un pseudogen, y el 2A13 se expresa principalmente en la mucosa olfatoria (42).

El **CYP 2A6** es altamente polimórfico (61), siendo las variantes más importantes CYP2A6*4, CYP2A6*9 y CYP2A6*1B (62). Metaboliza precarcinógenos relacionados con el tabaco, así como sustancias clínicamente importantes como nicotina, cumarina, metoxifluorano, halotano, ácido valpróico y disulfiram. En lo que se refiere a fármacos anticancerígenos, el CYP2A6 cataliza la activación de Tegafur a 5-F-Uracilo. Se ha visto que pacientes con metabolismo pobre de Tegafur, poseen un fenotipo heterocigoto para CYP2A6*4 y CYP2A6*11 (63). Sin embargo, debido a que otros citocromos como el CYP2C8 y el CYP1A2, participan en esta activación (64), sería necesario ampliar las investigaciones para aclarar el impacto del polimorfismo 2A6 en el metabolismo de agentes anticancerígenos.

El **CYP2A13** es responsable de la activación del agente carcinogénico del tabaco NNK (4-metilnitrosoamino)-1-(3-piridil)-1-butanona, y de otros agentes tóxicos del tracto respiratorio. Aunque se han descrito diversos polimorfismos que causan disminución en la actividad del enzima (65), también se sabe que el CYP2A13 se regula epigenéticamente, lo que podría explicar su expresión selectiva en los tejidos (66).

El **CYP2C9**, se expresa predominantemente en el hígado, representando aproximadamente el 20% del contenido hepático. Metaboliza alrededor del 15% de las drogas o fármacos habituales, algunas de las cuales son de importancia elevada en el uso clínico (Antagonistas de la angiotensina, antiinflamatorios No esteroideos, antidiabéticos orales, antiepilépticos, anticoagulantes orales, psicótrópos, profármacos anticancerígenos, etc.) (67, 68), así como sustancias endógenas como los ácidos araquidónico y linoléico (69).

Los polimorfismos genéticos del 2C9 incluyen más de 34 alelos (55). Los alelos CYP2C9*2,*3,*4,*5 y*30 refieren cambios en los aminoácidos, y han sido observados con actividad *in vitro* (70, 71), y/o *in vivo* (71, 72, 73). Esta amplia variabilidad individual hace que existan grandes variaciones tanto en la respuesta, como en los efectos adversos a los medicamentos. Los polimorfismos mas frecuentes en población caucásica (35%) son el CYP2C9*2 y *3 (58).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

En este sentido, son de especial interés las drogas sustratos de este citocromo con estrecho margen terapéutico, como la warfarina, tolbutamida, fenitoína, etc., en las cuales los cambios de actividad del enzima se pueden traducir en problemas en el ajuste de la dosis o en la toxicidad; por ejemplo, los pacientes con CYP2C9*2 ó *3 tienen una media disponible de la dosis diaria de warfarina menor, con lo que tienen un incremento del riesgo de hemorragia (74).

Además de los polimorfismos genéticos, las diferencias interindividuales en la actividad enzimática pueden explicarse por factores ambientales. Por ejemplo, son inducidos por CAR (constitutive androgen receptor), PXR (pregnane-X-receptor), y ligandos GR a través de diferentes elementos en la región promotora; y se inhiben por anticonceptivos orales (75).

Respecto al metabolismo de los opioides, los datos no muestran evidencia de la implicación de este citocromo, encontrándose en la bibliografía dos estudios, en los que se muestra la ausencia de los polimorfismos del 2C9 en los niveles plasmáticos de metadona (50, 76).

4.2.1. CYP2C19

Para este citocromo, se han descrito siete alelos (CYP2C19*2-*8) relacionados con un fenotipo de metabolismo disminuido (poor metabolizer-PM-). Dentro de estos siete, dos son los responsables de la mayoría de los fenotipos PM: CYP2C19*2, y CYP2C19*3 (77). Recientemente se ha descrito la variante alélica 2C19*17 relacionada con el fenotipo de metabolizador ultrarrápido (78).

Está involucrado en la N-demetilación estereoselectiva de la R-metadona in vitro (79), aunque no tiene trascendencia in vivo en lo que se refiere a los niveles plasmáticos (83, 80). No se conocen otros opioides sustratos de este citocromo.

En lo que se refiere al metabolismo de analgésicos antiinflamatorios No esteroídicos (NSAIDs), se ha demostrado in vitro que el 2C19 participa en una pequeña proporción en la 5-hidroxilación del diclofenaco, y en el metabolismo de ibuprofeno (81, 82). La aspirina parece ser un inductor de este enzima, incluso a dosis bajas (50 mg/día) (83).

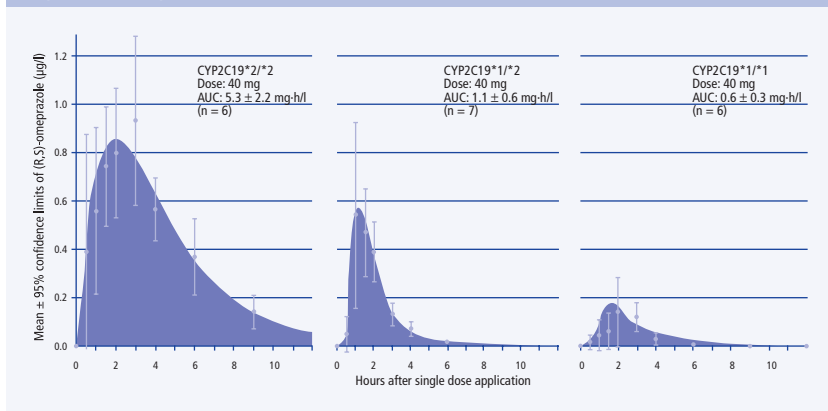
Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Otras drogas, sustratos de este enzima, y por lo tanto susceptibles de sufrir alteraciones asociadas a polimorfismos, se muestran a continuación (65):

Anticonvulsivantes	Barbitúricos, Valproatos, Fenitoínas
Inhibidores bomba protón	Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol
Psicótrópos	Diazepam, imipramina, sertralina, citalopram, clomipramina
Otros	Ritonavir, propranolol, tolbutamida

A continuación se muestran unas gráficas tomadas de Brockmøller J, et al. (39) en las que se muestran las diferencias farmacocinéticas en el metabolismo de omeprazol, debidas a polimorfismos genéticos del 2C19. Obsérvese, que los tres grupos reciben la misma dosis, y que a excepción del área bajo la curva (AUC), el resto de parámetros farmacocinéticos son comparables.

Figura 3. Imagen tomada de (39)



4.2.2. CYP2E1

Se expresa en el hígado, principalmente en la región centrolobulillar (65). Está relacionado con el metabolismo del acetaminofeno e implicado en la transformación del mismo en NAPQI (N-Acetil-p-benzoquinona imina), intermedio

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

metabólico responsable de la hepatotoxicidad de este fármaco. La vida media del acetaminofeno es mayor en homocigotos para el alelo «wild type» (c1/c1), comparado con los portadores de al menos un alelo polimórfico (c1/c2 o c2/c2), mientras que el grado de eliminación del fármaco en homocigotos c2/c2 es mas del doble que en los portadores de al menos un alelo wild type (c1/c1 o c1/c2) (84).

Algunas investigaciones sugieren que la variante CYP2E1*5B incrementa la susceptibilidad de padecer cáncer colorrectal (85). En general, las interacciones entre gen-factores ambientales de los polimorfismos 2E1 y tabaco y alcohol, se han asociado con el riesgo de neoplasia colorrectal.

4.2.3. CYP2B6

El gen funcional 2B6 y su pseudogen 2B7P, se encuentran en mitad del cromosoma 19, el cual también contiene los genes de las subfamilias 2A y 2F (42). Se expresa principalmente en el hígado donde constituye entre 3-5% del total (86, 87), aunque también ha sido detectado en menor cantidad, en tejidos extrahepáticos, incluyendo intestino, riñones, pulmón, piel y cerebro (94, 88, 89).

El CYP2B6 es altamente polimórfico, con 28 alelos y más de 100 SNPs definidos (90). La variante alélica mas común es CYP2B6*6 con una frecuencia del 14% en población de origen coreano, 28% en caucásicos, y mas del 40% en africanos y chinos, lo que se traduce en una disminución de la actividad enzimática (91).

Interviene en el metabolismo de metadona. La metadona se administra como mezcla racémica, siendo el enantiómero R (levo) el que posee la mayor parte de los efectos opioides (92). El metabolismo de S-metadona, y en menos proporción el de R-metadona están influidos por el 2B6. En portadores del polimorfismo CYP2B6*6/*6, los niveles plasmáticos de S- metadona son dos veces mas altos comparados con los portadores del wild type; sin embargo los niveles de R-metadona quedan sin cambios. Aunque la trascendencia clínica a nivel de evolución de tratamiento no está clara, se ha observado en un estudio, el impacto de los polimorfismos genéticos del 2B6 y la aparición o el riesgo de efectos secundarios serios en estos tratamientos, como es la prolongación del intervalo QT. Los autores muestran que el bloqueo en el canal de potasio hERG (human ether related gene) por la metadona, es estereoselectivo para S-metadona. Por ello, los portadores del CYP2B6*6/*6 tienen mayor riesgo de prolon-

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

gación del QT ([OR]: 4.5) (93). Para la buprenorfina, los resultados son todavía contradictorios. Algunos estudios dicen que la buprenorfina no es ni sustrato ni inhibidor de este citocromo (94), mientras que otros estudios lo postulan como un inhibidor débil (95).

4.2.4. CYP2D6

La subfamilia CYP2D presenta un único gen y cuatro pseudogenes (96). De todas las isoformas del citocromo P450 la que posee la mayor influencia genética en su expresión y actividad es sin duda el CYP2D6 (40), ya que apenas es afectado por factores ambientales.

Está involucrado en el metabolismo de aproximadamente el 20-25% de los fármacos de uso clínico, teniendo un significado relevante en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y psiquiátricas. Por el contrario el papel del 2D6 en el metabolismo de precarcinógenos es menor, y sus polimorfismos no parecen tener importancia en lo que se refiere a las diferencias interindividuales relacionadas con el riesgo de padecer cáncer (93).

Se han descubierto más de 100 variantes alélicas, y se han clasificado cuatro grupos fenotípicos distintos (98):

- PMs (poors metabolizers): con ausencia completa de actividad enzimática (5-10% en población caucásica).
- IMs (intermediate metabolizers), con actividad enzimática reducida (10-15% en población caucásica).
- EMs (extensive metabolizers), con actividad enzimática normal (60-70% de población caucásica).
- UMs (ultrarapid metabolizers), con un incremento de la actividad enzimática (1-10% de caucásicos; alrededor del 30% en Oceanía, y 40% en el norte de África).

Las variantes más frecuentes son CYP2D6*3*4*5*6 y duplicación del gen. Otras variantes son CYP2D6*2, *9 (frecuente en caucásicos), *10 (frecuente en asiáticos), y *17 (frecuente en africanos) (39). Las de mayor interés serían las que identifican metabolizadores lentos relacionados con una incidencia mayor de reacciones adversas a los medicamentos (RAM) (97).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

El impacto farmacológico de los polimorfismos CYP2D6 ha sido estudiado con gran número de fármacos y es difícil de entender por qué el genotipado de CYP2D6 no se usa todavía en la práctica médica teniendo en cuenta que la efectividad y la tolerabilidad de un gran número de medicamentos dependen de la actividad de este enzima. Aunque todavía hacen falta muchos estudios se podría calcular que el genotipado de CYP2D6 podría ser beneficioso entre un 30% y un 40% (98).

Los denominados «opiáceos débiles», son metabolizados por este enzima, y por lo tanto afectados por sus polimorfismos. La O-demetilación de codeína hacia su metabolito activo morfina está controlada por el 2D6 (99). En un estudio con voluntarios sanos se demostró que aquellos que exhibían el fenotipo PMs excretaban menos cantidad de morfina y sus glucurónidos en orina, después de dosis únicas o repetidas de codeína (100, 101). En el lado opuesto, aquellos pacientes metabolizadores ultrarápidos (UMs), producirían más metabolitos O- demetilados y por lo tanto serían susceptibles de padecer efectos adversos indeseables, que en algunos casos podrían llegar a ser muy graves. Kirchheiner et al., demostraron en un estudio que el genotipo UM está asociado con una elevación de la concentración plasmática de morfina y sus glucurónidos, de hasta el 50% si se compara con el genotipo EM (102).

Otros opiáceos afectados por este enzima en el paso a su metabolito O-demetilado son el tramadol, hidrocodona y oxicodona (103, 104, 105, 106).

También se encuentran variaciones interindividuales en las concentraciones plasmáticas en estado estacionario, de pacientes en programas de mantenimiento con metadona. Se han encontrado concentraciones plasmáticas de metadona mas elevadas en pacientes con el genotipo PM, comparado con el EM, y más del 50% de los pacientes UMs recibían dosis por encima de los 100 mg/día, mientras que solo un 28% de los PMs recibían estas dosis. Sin embargo no se han establecido correlaciones suficientes con los niveles plasmáticos debido al solapamiento entre grupos (107).

4.3. Familia CYP3

La importancia clínica de esta familia reside en que participa aproximadamente en la biotransformación de entre 45-60% de los fármacos (98). Posee una única subfamilia CYP3A (108) que a su vez comprende cuatro genes CYP3A4, CYP3A5,

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

CYP3A7 y CYP3A43. Solo los tres primeros codifican enzimas activas para el metabolismo (93), actuando prácticamente para los mismos sustratos (109).

La diferencia entre ellos está en el lugar de expresión, el CYP3A4 es el citocromo principal del hígado y los otros dos se encuentran principalmente en tejidos extrahepáticos y en hígado fetal respectivamente (110).

El CYP3A4 es el citocromo más abundante en el hígado, aproximadamente un 30% del total de P450. Interviene en el metabolismo de un amplio rango de xenobióticos, así como del 50% de los fármacos usados en la clínica (codeína, dextrometorfano, lidocaína, eritromicina, simvastatina, vincristina, progesterona, digitoxina, etc.) (111, 112); incluso desempeña un papel importante en el metabolismo de sustratos endógenos como el ácido retinoico, u hormonas esteroideas como la testosterona (113, 114).

Se han descrito variantes alélicas para el CYP3A4, aunque ninguna de ellas parece tener una importancia relevante en la actividad del enzima. El único alelo que parece influir en la expresión del 3A4 es CYP3A4*1B, común en africanos y aproximadamente en el 5% de caucásicos (115). Se ha relacionado la variante *1B/*1B con un riesgo significativo de padecer cáncer de próstata de elevada agresividad (116).

A pesar de la elevada variabilidad individual, no se han observado diferentes fenotipos asociados a los polimorfismos, con lo que la clasificación de metabolizador pobre o ultrarrápido no existe para este citocromo. Las consecuencias clínicas en el metabolismo tendrían que ver con la inhibición o inducción del mismo (117).

Es la única enzima del CYP450 que muestra diferencia de género ya que se expresa dos veces más en mujeres que en hombres, lo cual contribuye a una mayor depuración de sus sustratos en el género femenino (118).

Otra característica es que funciona en forma concertada con la glicoproteína P para reducir la concentración intracelular de xenobióticos (40).

A continuación, se muestra un cuadro resumen sobre la relación entre los polimorfismos genéticos de los citocromos, y su importancia en el metabolismo de drogas y carcinógenos (93).

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Tabla 1. Importancia de los polimorfismos para el metabolismo de drogas y carcinógenos [tomado de (42)]

Enzimas	Sustratos	Polimorfismo		
		Frecuencia	Efectos funcionales	Variantes polimorfitas más importantes
CYP1A1	Carcinógenos	Relativamente alta	No probados	
CYP1A2	Drogas, carcinógenos	Alta	Algunos	CYP1A2*1F, CYP1A2*1K
CYP1B1	Carcinógenos, estrógenos	Alelos nulos raros	Al menos siete halotipos con actividad similar	CYP1B1*7
CYP2A6	Nicotina, drogas, carcinógenos	Alta en orientales, menos en caucásicos	Importante para el metabolismo de la nicotina	CYP2A6*1B, CYP2A6*4, CYP2A6*9, CYP2A6*12
CYP2B6	Drogas	Alta	Reduce el metabolismo de drogas	CYP2B6*5, CYP2B6*6 CYP2B6*16
CYP2C8	Algunas drogas	Alta	Reduce el metabolismo de drogas	CYP2C8*3
CYP2C9	Drogas	Relativamente baja	Muy significativo	CYP2C9*2, CYP2C9*3
CYP2C19	Drogas	Alta	Muy significativo	CYP2C19*17
CYP2D6	Drogas	Alta	Muy significativo	CYP2D6*2xn CYP2D6*4, CYP2D6*5 CYP2D6*10, CYP2D6*17
CYP2E1	Carcinógenos, solventes, pocas drogas	Baja	No	
CYP3A4	Drogas, carcinógenos	Baja	No o muy poco	CYP3A4*1B
CYP3A5	Drogas, carcinógenos	Alta	Significativo	CYP3A5*3, CYP3A5*6 CYP3A5*7
CYP3A7	Drogas, carcinógenos	Baja	Algunos	

5. Bibliografía

- (1) Adverse drug Events: the magnitude of health risk is uncertain because of limited incidence data. Washington, DC: US General Accountting Office; 2000.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (2) Bates D, Gawande A.: Error in medicine: what have we learned? *Ann Intern Med.* 2000; 132:763-767.
- (3) Goodman and Gilman: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, undécima edición, 2006; 4:93-98.
- (4) Brockmoller J, Tzvetkov MV.: Pharmacogenetics: data concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008; 64: 133-57.
- (5) Lindpaintner K.: The impact of pharmacogenetics and pharmacogenomics on drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2002; 1:463-9.
- (6) The International HapMap Project. *Nature*, 426, 789-796, 2003
- (7) Palmer LJ, Cardon LR.: Shaking the tree: mapping complex disease genes with linkage disequilibrium. *Lancet*, 2005 ;366:1223-34.
- (8) Lares-Aseff I, Trujillo-Jiménez F.: La farmacogenética y su importancia en la clínica. *Gad Med Mex*, 2001:137(3):227-236.
- (9) US FDA: Guidance for Industry-E15. Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories. Marzo 2008.
- (10) Ortega-Mata M.: Farmacogenética, farmacogenómica y proteómica en la medicina personalizada. Real Academia de Farmacia de España. 2001. Disponible en www.ranf.com.
- (11) Relling MV, Giacomini KM.: Pharmacogenetics. En Brunton LL Lazo JS, Parker KL (eds). Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11.^a ed. McGraw-Hill; 2006. p.93-115.
- (12) Caldwell J.: Pharmacogenetics and individual variation in the range of amino acid adequacy. The biological aspects. *J Nutr*, 2004; 134:1600s-1604s.
- (13) Meyer UA: Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet*, 365, 1667-1671 (2000).
- (14) Wen MS, Lee M, Chen JJ et al.: Prospective study of warfarin dosage requirements based on CYP2C9 and VKORC1 genotypes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 84, 83-89 (2008).
- (15) Ford EB.: Polymorphism and taxonomy. En Huxley J, editor. *The new systematics*. Oxford: Clarendon Press; 1940. p. 549-573.
- (16) Cavalli Sforza LL, Bodmer WF.: *The genetics of human populations*. San Francisco: WH Freeman; 1971.
- (17) Vogel F, Motulsky A.: *Human Genetics. Problems and approaches*. New York: Springer Verlag; 1986.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (18) Meyer Urs A.: Genotype or phenotype. The definition of a pharmacogenetic polymorphism. *Pharmacogenetics*, 1991; 1:66-7.
- (19) Wilkinson GR.: Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N England J Med*, 2005; 352: 2211-21.
- (20) Philips KA, Veenstra DL, et al.: Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA*, 2001; 286:2270-9.
- (21) Special report: genotyping for cytochrome P450 polymorphisms to determine drug metabolizers status. Technol Eval Cenrt Asses Program Exec Summ, 2004; 19:1-2.
- (22) Abraham BK, Adithan C.: Genetic polymorphism of CYP2D6. *Indian J Pharmacol*, 2001; 33:147-69.
- (23) Bernard S, et al.: Interethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6 in the U.S. population: clinical implications. *Oncologist*, 2006; 11:126-35.
- (24) Eichelbaum M, et al.: Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu. Rev. Med.* 57, 119-137 (2006).
- (25) Harrison RC: Comparative genomics. *PLoS Biol.* 1, E58 (2003).
- (26) Stephens et al.: Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. *Science*, 2001, 293: 489-493.
- (27) Brookes AJ (1999): The essence of SNPs. *Gene*, 234,177-186.
- (28) Kruglyak L.: Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet*, 1999; 22: 139-144.
- (29) Venter JC, et al.: The sequence of the human genome. *Science*, 2001; 291: 1304-1351.
- (30) Miras Portugal, MT; Gualix, J.: *Polimorfismos de los citocromos P-450. Importancia fisiopatológica y farmacológica*. Monografía XIV de la Real Academia de Farmacia, 2004.3:91-122.
- (31) Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. www.imm.ki.se/cypalleles
- (32) Daly AK, Brocmoller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans WE, González FJ, et al.: Nomenclature for human CYP2D6 alleles. *Pharmacogenetics*, 1996; 6:193-201.
- (33) Evans, WE and HL McLeod (2003): Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med*, 348(6): 538-49.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (34) Alving, AS, PE Carson, CL Flanagan and CE Ickes (1956): Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*, 124(3220): 484-5.
- (35) Hughes, H, J Biehl, A Jones and L Schmidt (1954): Metabolism of isoniazid in man as related to the occurrence of peripheral neuritis. *Am Rev Tuberc*, 70: 266-73.
- (36) Brockmoller, J., Kirchheiner, J., Meisel C., and Roots, I. (2000): Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drugsdevelopment and in drugtreatmen. *Pharmacogenomics*, 1:125-151.
- (37) Artículo de revisión bibliográfica. Los polimorfismos genéticos del citocromo P-450 y su relevancia en el metabolismo de xenobióticos. Autor: L.C.F. Patricia Espíritu Gordillo-pg1.
- (38) Isaza MC, Isaza MG, Fuentes GJ, Marulanda MT.: *Fundamentos de farmacología en terapéutica*, 5.^a ed., Pereira: Postergraph, 2008.
- (39) Nelson DR.: Cytochrome P450 and the individualityof species. *Arch Biochem Biophys*, 1999; 1:1-10.
- (40) Zanger U, Turpeinen M, Klein K y Schwab M.: Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem*. 2008; 392(6):1093-1108).
- (41) Goodman and Gilman. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, undécima edición, 2006; 1:16.
- (42) Rodríguez Antona C, Ingelman-Sunberg M.: Cytochrome P450 pharmacogenetics and cáncer. *Oncogene* (2006),25:1679-1690.
- (43) Kawai YK, Ikenaka Y, Fujita S, Ishizuka M.: Mamm Genome. 2010 Jun; 21(5-6):320-9. Epub 2010 May 22.
- (44) Shimada T, Hayes CL, Yamazaki H, Amin S, Hecht SS, Guengerich FP, Sutter TR.: Activation of Chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P4501B1. *Cancer Res*, 1996; 15:273-280.
- (45) Sillbergeld EK. Toxicología. En Stellman JM, Mc Cann M (eds). *Ennciclopedia de la salud en el trabajo*. Organizacion Internacional del Trabajo 1998; 33:29-33,44.
- (46) Krishna, D.R. y Klotz, U. (1994): Extrahepatic metabolismo of drugs in humans. *Clin Pharmacokinet*, 26,144-6.
- (47) Vineis P. et al.: CYP1A1 T3801C polymorphism and lung cáncer: a pooled análisis of 2451 cases and 3358 controls. *Int. J. Cancer*. 104, 650-657.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (48) Wu ZL, Sohl CD, Shimada T, Guengerich FP.: Recombinant enzymes over expressed in bacteria show broad catalytic specificity of human cytochrome P450 2W1 and limited activity of human cytochrome P450 2S1. *Mol Pharmacol* (2006), 69:2007-2014.
- (49) Ingelman-Sundberg M, et al.: Influence of Cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects. *Pharmacol. Ther.* 2007, 116, 496-526.
- (50) Crettol S, Déglon JJ, Besson J et al.: ABCB1 and Cytochrome P450 genotypes and phenotypes: Influence on methadone plasma levels and response to treatment. *Clin. Pharmacol, Ther.*(2006).80,668-681.
- (51) Moody DE, Alburges ME, Parker RJ. et al.: The involvement of cytochrome P450 3A4 in the N-demethylation of L- α -acetylmethadol (LAAM), nor LAAM, and methadone. *Drug. Metab. Dispos.* 25, 1347-1353 (1997).
- (52) Herrlin K, Segerdahl M, Gustafsson LL, Kalso E: Methadone, ciprofloxacin, and adverse drug reactions. *Lancet* (2000), 356:2069-2070.
- (53) Mukesh, et al.: Identification of four novel cytochrome P4501B1 mutations (P.I94X, P.H279D, P.Q340H and P.K433K) in primary congenital glaucoma patients. *Molecular visión*, 2009.15:2926-2937.
- (54) Sustter TR et al.: Complete cDNA Sequence of a Human Dioxin-inducible mRNA Identifies a New Gene Subfamily of Cytochrome P450 That Maps to Chromosome 2. *J. Biol Chem*, 1994; 269:13092-9.
- (55) Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Nebert DW.: Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. <http://www.cypalleles.ki.se/>
- (56) Soley G.C, et al.: Primary congenital glaucoma: a novel single-nucleotide deletion and varying phenotypic expression for the 1,546-1,555dup mutation in the GLC3A (CYP1B1) gene in two families of different ethnic origin. *J. Glaucoma.* (2003)12, 27-30.
- (57) Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. (2005): Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in humans. *Cancer Lett*, 227:115-124.
- (58) Bozina N, et al.: Genetic Polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2009; 60:217-242.
- (59) Van Emburgh BO, et al.: Polymorphisms in drug metabolism genes, smoking, and P53 mutations in breast cancer. *Mol Carcinogen*, 2008; 47:88-99.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (60) Nebert DW, González FJ.: P450 genes: Structure, evolution, and regulation. *Annu Rev Biochem*, 1987;56: 945-93.
- (61) Oscarson M.: Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) gene: implications for interindividual differences in nicotine metabolism. *Drug Metabol. Dispos*, (2001) feb, 29(2):91-95.
- (62) Wang J, Pitarque M, Ingelman-Sundberg M. (2006): Biochem Biophys. *Res Commun*, 340:491-497.
- (63) Daigo R, et al.: A novel mutant allele of the CYP2A6 gene (CYP2A6*11) found in a cancer patient who showed poor metabolic phenotype towards tegafur. *Pharmacogenetics*, junio 2002, 12(4):299-306.
- (64) Komatsu et al.: Roles of cytochromes P450 1A2, 2A6, and 2C8 in 5-fluorouracil formation from tegafur, an anticancer prodrug, in human liver microsomes. (2000). *Drug Metab. Dispos*. 28:1457-1463.
- (65) Zhang et al.: Genetic polymorphisms of the human CYP2A13 gene: identification of single-nucleotide polymorphisms and functional characterization of the Arg275Cys variante. (2002). *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 302:416-423.
- (66) Ling G, Wei Y, Ding X.: Transcriptional regulation of human CYP2A13 expression in the respiratory tract by CCAAT/enhancer binding protein and epigenetic modulation. (2007). *Mol Pharmacol*. 71:807-816.
- (67) Miners JO, Birkett DJ.: Cytochrome P450 2C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*, 1998; 45:525-38.
- (68) Goldstein JA.: Clinical relevance of genetic polymorphism in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol*, 2001; 52:349-55.
- (69) Yao HT et al.: The inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on human CYP enzymes. *Life Sci*, 2006; 79:2432-40.
- (70) Yamazaki H, et al.: Comparative studies on the catalytic roles of cytochrome P450 2C9 and its Cys- and Leu- variants in the oxidation of warfarin, flurbiprofen, and diclofenac by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol*, 1998; 56:243-51.
- (71) Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA.: Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*, 2002; 12:251-63.
- (72) Haining RL, et al.: Allelic variants of human cytochrome P450 2C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization,

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of the wild-type and I359L mutants forms. *Arch Biochem Biophys*, 1996; 333:447-58.
- (73) Yin T, et al.: Genetic variations of CYP2C9 in 724 Japanese individuals and their impact on the antihypertensive effects of losartan. *Hypertens. Res.* 2008; 31:1549-57.
 - (74) Redman AR, et al.: Variant CYP2C9 alleles and warfarin concentrations in patients receiving low-dose versus average-dose warfarin therapy. *Clin Appl Thromb Haemost* 2008; 14:29-37.
 - (75) Sandberg M et al.: The impact of CYP2C9 genetics and oral contraceptives on cytochrome P450 2C9 phenotype. *Drug Metab Dispos*, 2004; 32: 484-9.
 - (76) Crettol S, Déglon JJ, Besson J, et al.: Methadone enantiomer plasma levels, CYP2B6, 2C19 and 2C9 genotypes, and response to treatment. (2005). *Clin. Pharmacol. Ther.* 78, 593-604.
 - (77) Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart D: Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphisms. *Clin Pharmacokinetic.* (2002); 41,913-958.
 - (78) Sim SC, Risinger C, Dahl ML, et al.: A common novel CYP2C19 gene variante causes ultrarapid drug metabolismo relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin. Pharmacol. Ther.* (2006); 79, 103-116.
 - (79) Gerber JG, Rhodes RJ, Gal J: Stereoselective metabolismo of methadone N- demethylation by cytochrome P4502B6 and 2C19. *Chirality*, 2004; 16:36-44.
 - (80) Crettol S, Déglon JJ, Besson J, et al.: Methadone enantiomer plasma levels CYP2B6, 2C19 and 2C9 genotypes, and response to treatment. *Clin. Pharmacol. Ther.* (2005); 78:593-604.
 - (81) Bort R, et al.: Hepatic metabolism of diclofenaco: role of human CYP in the minor oxidative pathways. *Biochem. Pharmacol* (1999); 58:787-796.
 - (82) McGinnity DE, Parker AJ, Soars M, Riley RJ: Automated definition of the enzymology of drug oxidation by the major human drug metabolizing cytochrome P450s. *Drug Metab. Dispos.* (2000); 28:1327-1334.
 - (83) Chen XP, et al.: Isozyme-specific induction of low dose aspirin on cytochrome P450 in healthy subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.* (2003); 73: 264-271.
 - (84) Ueshima Y, Tsutsumi M, Takase S, et al.: Acetaminophen metabolismo in patients with different cytochrome P450E1 genotypes. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20 (Suppl. 1), 1996;25A-28A.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (85) Gao CM, et al.: CYP2E1 Rsa I polymorphism impacts on risk of colorectal cancer association with smoking and alcohol drinking. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13: 5725-30.
- (86) Gervot L, et al.: Human CYP2B6: expression, inducibility and catalytic activities. *Pharmacogenetics*, 1999 jun; 9(3):295-306.
- (87) Lang T, et al.: Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*, 2001 jul; 11(5):399-415.
- (88) Miksys S, et al.: Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain. *Neuropharmacology*, 2003 jul; 45(1):122-32.
- (89) Yengi LG, et al.: Quantitation of cytochrome P450 mRNA levels in human skin. *Anal Biochem*, 2003 may 1; 316(1):103-10.
- (90) Rollason V, et al.: Pharmacogenetics of analgesics: Howard the individualization of prescription. *Pharmacogenomics* (2008); 9(7), 905-933.
- (91) Zanger UM, et al.: Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. *Pharmacogenomics*, 2007 jul; 8(7):743-59.
- (92) Kharasch ED, Hoffer C, Whittington D, Sheffels P. Role of hepatic and intestinal cytochrome P450 3A and 2B6 in the metabolism, disposition, and miotic effects of methadone. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 sep; 76(3):250-69.
- (93) Eap CB, Crettol R, Rougier JS, et al.: Stereoselective block of hERG channel by (S)-methadone and QT interval prolongation in CYP2B6 slow metabolizers. *Clin Pharmacol Ther.* 2007 may; 81(5):719-28.
- (94) Zhang W, Ramamoorthy Y, Tyndale RF, Sellers EM: Interaction of buprenorphine and its metabolite norbuprenorphine with cytochromes p450 in Vitro. *Drug Metab Dispos.* 2003 jun; 31(6):768-72.
- (95) Umehara K, Shimokawa Y, Miyamoto G.: Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 by buprenorphine. *Biol Pharm Bull*, 2002 may; 25(5):682-5.
- (96) Nelson DR, KoymansL, Kamataki T , et al.: P450 superfamily: update on new secuencies, gene mapping, accesión numbers and nomenclatura. *Pharmacogenetics*, 1996; 6(1):1-42.
- (97) Chou WH, Yan FX, Robbins-Weilert DK, Ryder TB, Liu WW, Perbost C, et al.: Comparision of two CYP2D6 genotyping methods and assessment of genoyipe-phenotype relationships. *Clin Chem*, 2003; 49(4):542-551.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (98) Ingelman-Sundberg. M. Genetic Polimorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* 2005; 5:6-13.
- (99) Dayer P, Desmeules J, Leemann T, Striberni R.: Bioactivation of the narcotic drug codeine in human liver is mediated by the polymorphic monooxygenase catalyzing debrisoquine 4-hydroxylation (cytochrome P-450 db1/bufl). *Biochem Biophys Res Commun*, 1988 apr. 15; 152(1):411-6.
- (100) Yue QY, Hasselström J, Svensson JO, Säwe J.: Pharmacokinetics of codeine and its metabolites in Caucasian healthy volunteers: comparisons between extensive and poor hydroxylators of debrisoquine. *Br J Clin Pharmacol*, 1991 jun; 31(6):635-42.
- (101) Chen ZR, Somogyi AA, Reynolds G, Bochner F.: Disposition and metabolism of codeine after single and chronic doses in one poor and seven extensive metabolisers. *Br J Clin Pharmacol.* 1991 apr.; 31(4):381-90.
- (102) Kirchheiner, et al.: Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication. *Pharmacogenomics J.* 2007 aug; 7(4):257-65.
- (103) Paar WD, Poche S, Gerloff J, Dengler HJ.: Polymorphic CYP2D6 mediates O-demethylation of the opioid analgesic tramadol. *Eur J Clin Pharmacol.* 1997; 53(3-4):235-9.
- (104) Hutchinson MR, Menelaou A, Foster DJ, Collier JK, Somogyi AA. CYP2D6 and CYP3A4 involvement in the primary oxidative metabolism of hydrocodone by human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol.* 2004 Mar;57(3):287-97.
- (105) Lalovic B, Kharasch E, Hoffer C, Risler L, Liu-Chen LY, Shen DD.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral oxycodone in healthy human subjects: role of circulating active metabolites. *Clin Pharmacol Ther.* 2006 may; 79(5):461-79.
- (106) Kirkwood LC, Nation RL, Somogyi AA.: Characterization of the human cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of dihydrocodeine. *Br J Clin Pharmacol.* 1997 dec; 44(6):549-55.
- (107) Eap CB, Broly F, Mino A, Hämmig R, Déglon JJ, Uehlinger C, Meili D, et al.: Cytochrome P450 2D6 genotype and methadone steady-state concentrations. *J Clin Psychopharmacol.* 2001 apr; 21(2):229-34.

Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

- (108) Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, et al.: P450 superfamily: update on new secuencias, gene mapping, accesión numbers and nomenclatura. *Pharmacogenetics*, 1996;6(1):1-42.
- (109) Hukkanen J.: Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in human lun. *Acta Univ Oul* 2000; D 621.
- (110) Thummel KE, Wilkinson GR.: In Vitro and in vivodrugs interactions involving human CYP3A4. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38:389-430.
- (111) Zhou SF.: Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Curr Drug Metab*. 2008 may; 9(4):310-22.
- (112) Kapelyukh Y, Paine MJ, Maréchal JD ,et al.: Multiple substrate binding by cytochrome P450 3A4: estimation of the number of bound substrate molecules. *Drug Metab Dispos*. 2008 oct; 36(10):2136-44. Epub 2008 Jul 21.
- (113) Rendic S.: Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev*. 2002 feb-may; 34(1-2):83-448.
- (114) Wrighton SA, Schuetz EG, Thummel KE, et al.: The human CYP3A subfamily: practical considerations. *Drug Metab Rev*. 2000 aug-nov; 32(3-4):339-61.
- (115) Rodríguez-Antona C, Sayi JG, Gustafsson LL, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M.: Phenotype-genotype variability in the human CYP3A locus as assessed by the probe drug quinine and analyses of variant CYP3A4 alleles. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 dec 9; 338(1):299-305. Epub 2005 Sep 13.
- (116) Bangsi D, Zhou J, Sun Y et al.: Impact of a genetic variant in CYP3A4 on risk and clinical presentation of prostate cancer among white and African-American men. *Urol Oncol*. 2006 Jan-Feb; 24(1):21-7.
- (117) Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE.: Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002 nov 18; 54(10):1271-94.
- (118) Cotreau MM, von Moltke LL y Greenblatt DJ.: The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3^a substrates. *Clin Pharmacokinetics*, 2005; 44: 33-60.

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

Sonia Blanco Ramos

1. Introducción

La agencia europea del medicamento define a la farmacogenética como «el estudio de variaciones en la secuencia de ADN entre individuos relacionadas con la respuesta frente a un fármaco (1)». La posibilidad de asociar los polimorfismos genéticos con la capacidad de respuesta de un paciente a un medicamento concreto, ha revolucionado este campo. Uno de los tipos de polimorfismos más estudiados, son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), cuyo genotipado y aplicación inmediata sería la «medicina personalizada o a la carta», consistente en el diseño de terapias individualizadas en base al genotipo de cada individuo (2), y basándonos en la hipótesis de que las enfermedades son heterogéneas, desde sus causas hasta sus distintos grados de progresión tras la administración de un fármaco (3).

La posibilidad de sufrir reacciones adversas o no responder de forma adecuada al tratamiento, se resuelve en la mayoría de los casos con la sustitución por otro fármaco o bien por el abandono del tratamiento, lo que hace necesario disponer de test capaces de identificar a estos pacientes (4).

2. Genotipado de SNPs

Las técnicas más sencillas de detección de polimorfismos como el método Sanger (5), se basan en el análisis de la secuencia de los fragmentos de ADN, que tras su identificación, se pueden diferenciar mediante técnicas electroforéticas o cromatográficas. Estas técnicas resultan económicas, aunque generan una carga de trabajo mayor para el laboratorio, además de ser capaces de detectar un número pequeño de SNPs, por lo que no son demasiado aceptables para el genotipado (6).

Las técnicas de genotipado se clasifican en función de las tecnologías que permiten la amplificación, identificación y detección de SNPs (7).

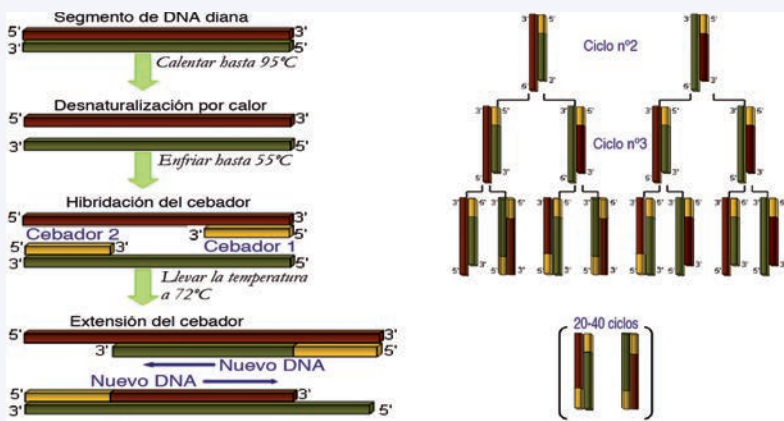
Entre los métodos de amplificación encontramos la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es la que se utiliza de forma más frecuente, aunque existen otros métodos de amplificación como la amplificación de ADN por círculo rodante o el método Invader® (8). Por su importancia pasaremos a describir a continuación de forma breve en qué consiste la PCR.

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

2.1. Reacción en cadena de la polimerasa

La PCR consiste en calentar y **desnaturalizar** el ADN a una temperatura de aproximadamente 95°C , para que pase a ser mono-catenario. Posteriormente se enfría (55°C) para permitir su **hibridación** con secuencias de cebadores adyacentes a la región de interés y entonces la reacción se calienta de nuevo hasta una temperatura intermedia ($70\text{--}75^{\circ}\text{C}$), temperatura de **extensión** a partir de los cebadores, en la que la DNA polimerasa añade bases libres en la dirección $3'$ a lo largo de cada hebra simple empezando por el cebador. Se forman de este modo fragmentos de DNA de extremos romos que sirven de plantilla para el siguiente ciclo. Después de una serie de ciclos, tenemos un producto que consiste casi exclusivamente en una secuencia concreta de DNA (9) (figura 1). Hoy día se trabaja con **PCR a tiempo real** que es una variante de la Reacción en cadena de la polimerasa tradicional; es utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar después de cada ciclo el producto de la amplificación. Para ello se adiciona una sustancia marcada con un fluoróforo, que en un termociclador que albergue sensores para medir fluorescencia, permite medir la generación de uno o más productos específicos (10).

Figura 1. Reacción en cadena de la polimerasa [modificado de (9)]



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

2.2. Técnicas de discriminación alélica

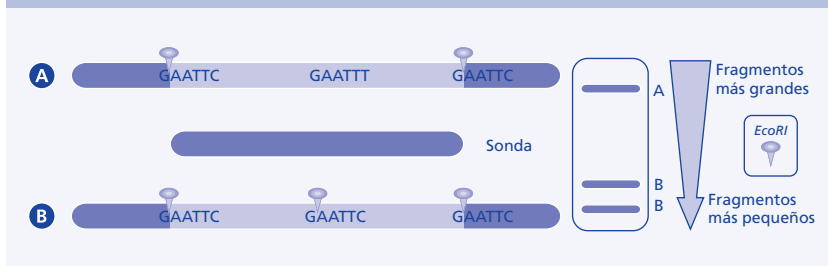
En lo que respecta a las técnicas de discriminación alélicas encaminadas a identificar SNPs específicos, un gran número de ellas emplean el uso de fragmentos de ADN de secuencia conocida, también conocidos como **sondas**, diseñados específicamente para que se una o hibride con el ADN de la muestra, también llamada diana (8). Dentro de estas técnicas encontramos:

2.2.1. Digestión con enzimas de restricción (RFLPs-Análisis de polimorfismos de fragmentos de restricción)

Esta técnica consiste en la utilización de enzimas endonucleasas de restricción que fragmentan el ADN diana previamente amplificado en lugares localizados y específicos para cada enzima denominados sitios de restricción; sirva a modo de ejemplo la enzima de restricción EcoRI producida por la bacteria intestinal *Escherichia coli*, que reconoce la secuencia de DNA GAATTC y cada vez que la encuentra la parte entre la G y la A (figura 2).

Las ubicaciones de estos sitios de restricción se identifican mediante la hibridación de los fragmentos con sondas clonadas (9). Algunos de los cambios en la secuencia afectan a dianas de estas enzimas, originando diferencias individuales en los tamaños de los fragmentos de DNA producidos (11).

Figura 2. Digestión con enzimas de restricción. En A, la enzima EcoRI reconoce dos sitios de corte, con lo que da lugar a un único fragmento, mientras que en B reconoce tres sitios de corte, dando lugar a dos fragmentos más pequeños. El tamaño de los fragmentos se visualiza por electroforesis [modificado de (9)]

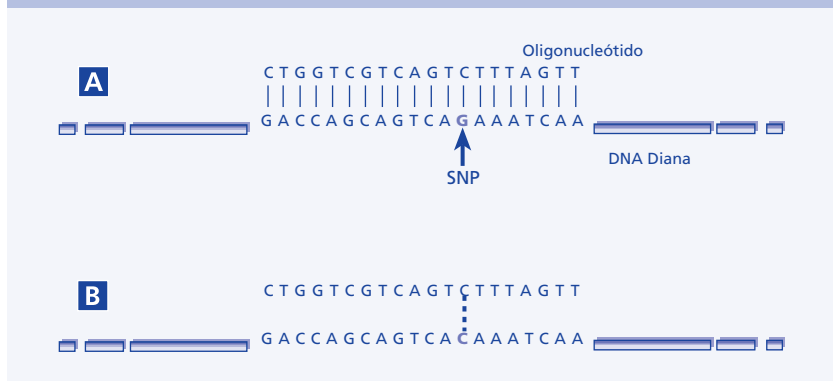


Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

2.2.2. Hibridación específica de alelo

Es el mecanismo más simple aplicado al genotipado de SNPs ya que no participan enzimas. Existirá hibridación solo si existe una estructura totalmente apareada por bases entre sonda y muestra. Si existe un solo error de apareamiento (una sola posición dentro del oligonucleótido que no forme un par de bases) no tienen lugar la hibridación. Cuando las sondas alélicas son inmovilizadas en una superficie sólida, las muestras marcadas de ADN son capturadas y la hibridación es visualizada por medio del marcaje de las sondas. Conocida la localización de las secuencias de las sondas en el soporte sólido, es posible conocer el genotipo de la muestra diana (12) (figura 3).

Figura 3. Hibridación específica de alelo. En A se observa un híbrido estable, totalmente apareado por sus bases, mientras que en B, el error de apareamiento entre C y C lo convierte en inestable [modificado de (12)].



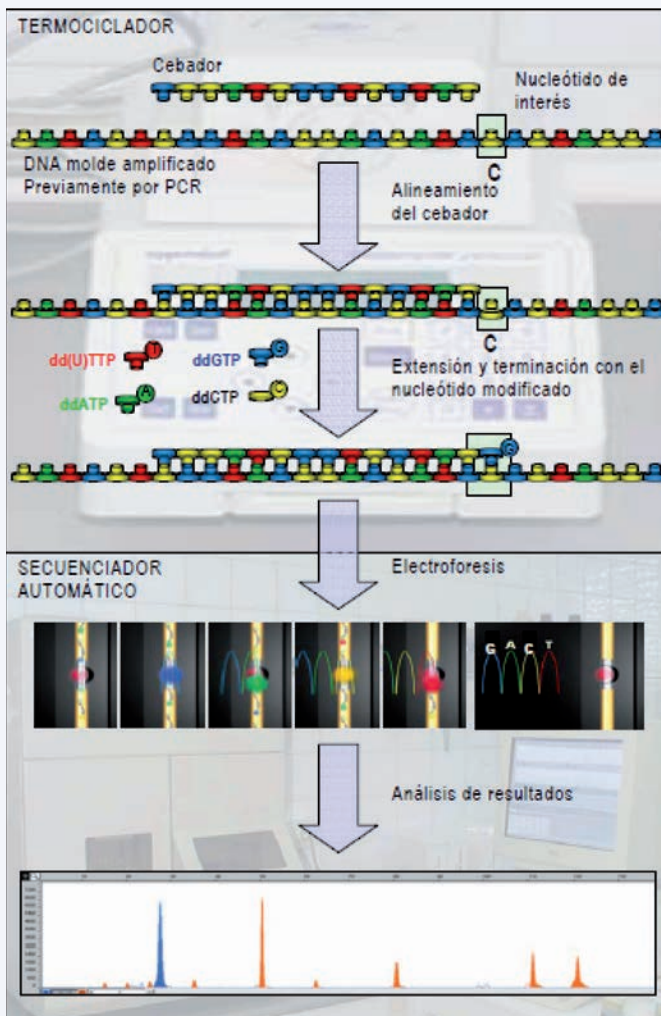
2.2.3. Single Base Extensión (SBE). Minisequenciación o «primer extensión»

Esta técnica está basada en la utilización de oligonucleótidos específicos que añadidos a un producto de PCR previamente amplificado, permiten identificar el tipo de nucleótido que ocupa una determinada posición. Estos oligonucleótidos tienen como particularidad que su última base en el extremo 3' terminal es la complementaria a la anterior que es susceptible de estar mutada. Los

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

didesoxinucleótidos que se utilizan están marcados con fluoróforos diferentes que impiden la adición de mas nucleótidos, de modo que la ADN polimerasa añadirá únicamente el nucleótido correspondiente a la posición objeto de estudio (13, 8) (figura 4).

Figura 4. Técnica SBE (single base extension) [tomado de (13)].

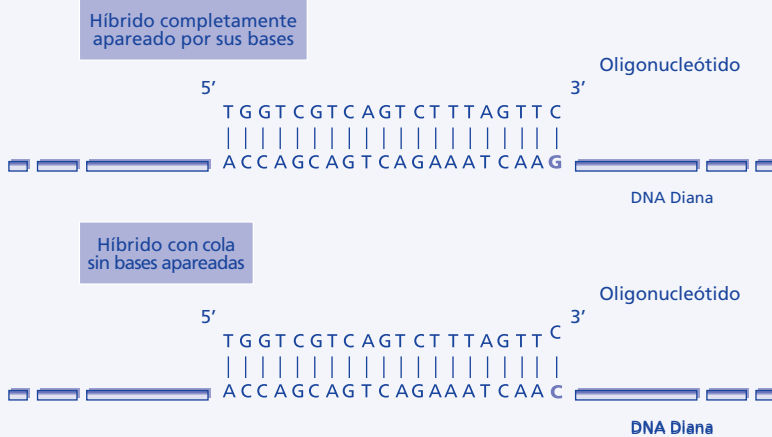


Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

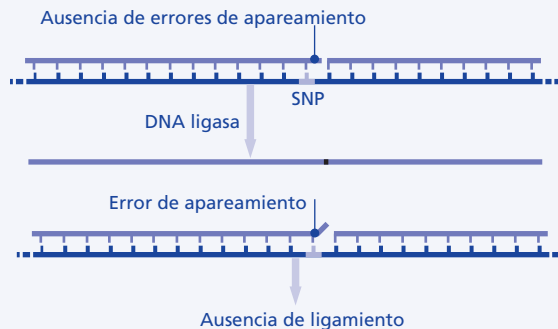
Otros métodos de tipificación utilizan un oligonucleótido (sonda) cuyo error de apareamiento con el SNP se produce en su extremo 5' o 3'. En condiciones adecuadas, un oligonucleótido de este tipo se hibridará al DNA molde con error de apareamiento por medio de una cola corta sin bases apareadas (figura 5); esta característica se utiliza de dos formas que se describen a continuación, como son el análisis de ligamiento de nucleótidos específicos de alelo (OLA) y el sistema de mutación refractario a la amplificación (ARMS) (12).

Figura 5. A) Híbrido con apareamiento en su extremo terminal y en la inferior con error en el mismo extremo y formación de cola correspondiente. B) Análisis de ligamiento de nucleótidos específicos de alelo (OLA) [modificado de (12)]

A) Hibridación con un oligonucleótido con un error de apareamiento terminal



B)



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

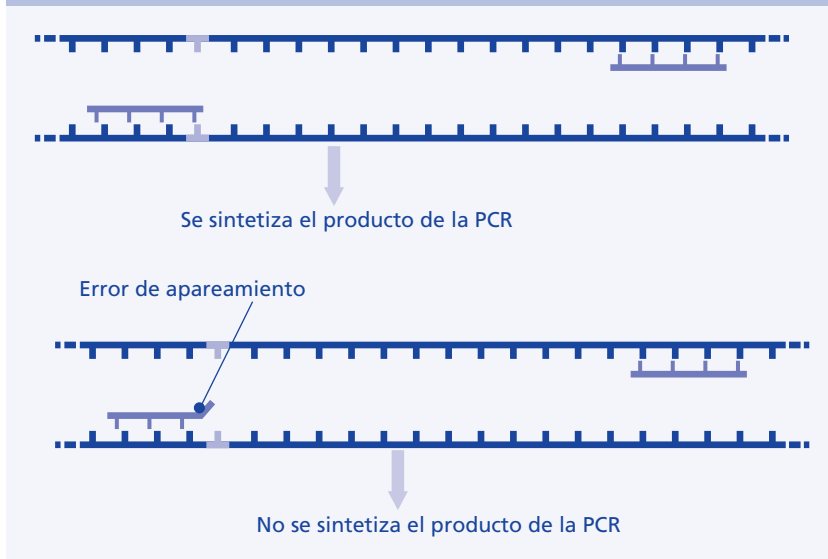
2.2.4. Análisis de Ligamiento de olinucleotidos específicos de alelo (OLA)

Utiliza dos oligonucleótidos (sondas) que se hibridan, adyacentes entre sí, con el extremo 3' de uno de estos oligonucleótidos ubicado exactamente en el SNP. Este oligonucleótido formará una estructura completamente apareada por bases si hay una versión del SNP en el DNA molde y cuando esto ocurre el oligonucleótido se puede ligar a su compañero por medio de la DNA ligasa. Tras la reacción se tipifica el producto de ligamiento por electroforesis capilar (12) (figura 5).

2.2.5. Sistema de mutación refractario a la amplificación (ARMS)

Está basada en el mismo principio que el OLA, pero utiliza como oligonucleótido de prueba uno de un par de cebadores de la PCR. Si el cebador de prueba se hibrida al polimorfismo (SNP), puede ser extendido por la DNA polimerasa y puede tener lugar la amplificación, pero si no hay hibridación porque está presente la versión alternativa del SNP no se genera ningún producto de la PCR (12) (figura 6).

Figura 6. Sistema de mutación refractario a la amplificación (ARMS) [modificado de (12)]

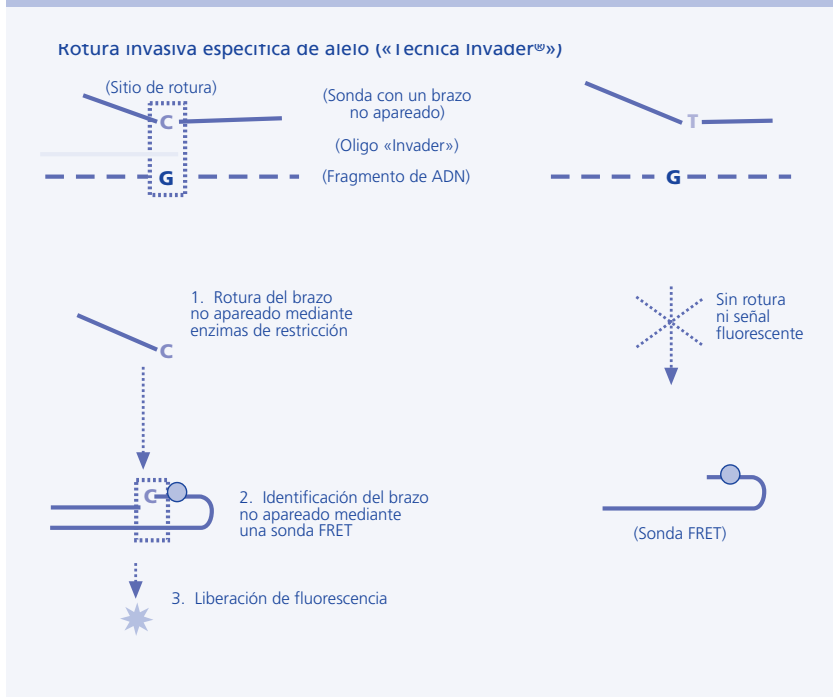


Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

2.2.6. Rotura invasiva específica de alelo (INVADER®)

Esta técnica presenta la ventaja de no utilizar amplificación por PCR. Emplea simultáneamente dos tipos de sondas, una a la que denominaremos invasora o «invader» y una segunda complementaria a la anterior tan solo en el sitio donde se localiza el polimorfismo. La segunda sonda forma una estructura en forma de brazo que se encuentra desapareada, y es reconocida por una enzima específica de restricción que rompe la sonda en el sitio donde se localiza el polimorfismo; liberado este brazo se produce una segunda reacción en la que participa una sonda FRET (Transferencia de energía entre fluorocromos) (8) (figura 7).

Figura 7. Método invader de genotipado de SNPs sin necesidad de amplificación por PCR [tomado de (8)]



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

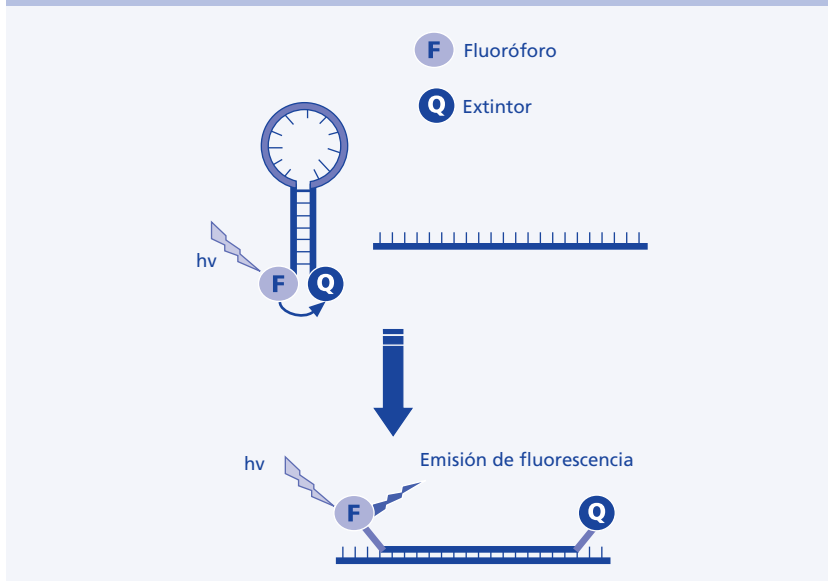
2.2.7. Hibridación mediante oligonucleótidos específicos de alelos (ASO)

Cuando la hibridación tiene lugar en solución podemos utilizar este tipo de oligonucleótidos como sondas, destacando tres tecnologías (TaqmanTM, Molecular Beacons y ScorpionTM); todas ellas detectan por fluorescencia y se basan en el empleo de dos marcadores que emiten fluorescencia cuando dejan de estar en proximidad (FRET-Transferencia de energía entre fluorocromos) (8, 12) (figura 8).

Cada método de genotipado como hemos visto consiste en una serie de reacciones químicas a las que sigue un paso de detección por el cual se identifican los SNPs. Entre los mecanismos de detección más utilizados se encuentran (8):

- Luminiscencia.
- Fluorescencia.
- Transferencia de energía entre fluorocromos (FRET).

Figura 8. Sonda molecular Beacon. Tomado de sociedad española de bioquímica y biología molecular. (<http://sebbm.bq.ub.es/BioROM/contenido/Glosario/M.html>)



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

- Fluorescencia por polarización.
- Electricidad.
- Espectrometría de masas.
- Electroforesis capilar.

De las reacciones químicas que tienen lugar sobre soporte sólido podemos destacar los Microarrays y Biochips de ADN que por su interés actual en el campo de la Farmacogenética procederemos a estudiar con más detalle.

3. Microarrays y biochips de ADN

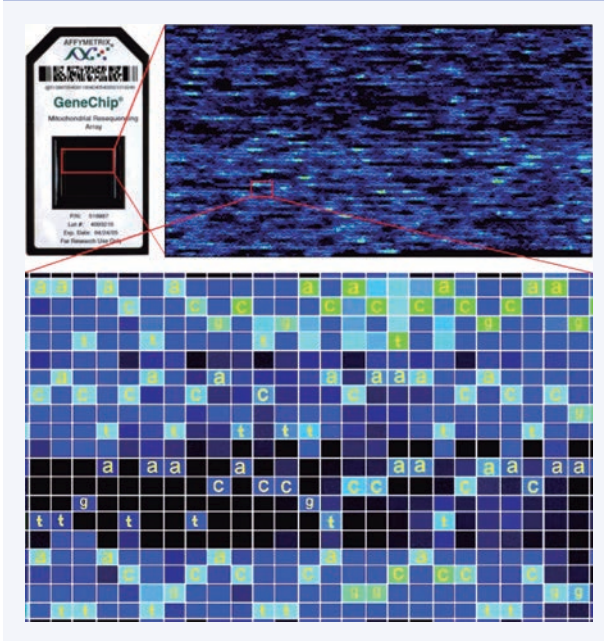
3.1. Antecedentes históricos

En líneas generales, el biochip se fundamenta en la inmovilización de material biológico sobre una superficie sólida para realizar un ensayo de afinidad entre el material inmovilizado (sonda) y el material de muestra (diana). En la década de los 60 ya se inmovilizaron muestras genéticas sobre soportes sólidos y Edwin Southern una década después, utilizó filtros de nitrocelulosa como soporte sólido, eliminando el problema de hibridación con otras moléculas de ADN inmovilizadas que existía anteriormente; la detección de los puntos de hibridación se hacía por medio de un marcador radioactivo en un revelado por autorradiografía (técnica Southern-Blot) (14). Posteriormente, la construcción de estructuras matriciales con materiales porosos, como membranas de nitrocelulosa o Nylon, sobre cuyos puntos se deposita el material biológico a inmovilizar, hace que aparezca el término densidad o nivel de integración, para darnos una idea del tamaño de los poros y su proximidad entre ellos. La aparición de soportes como el vidrio o el silicio inicia el desarrollo de las micromatrices. A finales de los años 80, cuatro científicos de la compañía Affimax, Stephen Fodor, Michel Pirrung, Leighon Read y Lubert Stryer, que trabajaban en la síntesis de péptidos sobre superficies sólidas, desarrollaron una revolucionaria tecnología para la determinación y cuantificación de ADN en una muestra, la cual desembocó posteriormente en la primera plataforma de microarrays de ADN, denominada entonces GeneChip de Affimetrix (15) (figura 9).

La principal ventaja de esta técnica frente a los métodos tradicionales reside en la alta densidad de integración (microarrays) de material biológico que

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

Figura 9. Gene Chip de Affimetrix. Tomado de http://www.mun.ca/biology/scarr/Human_mtDNA_re-sequencing_microarray.html



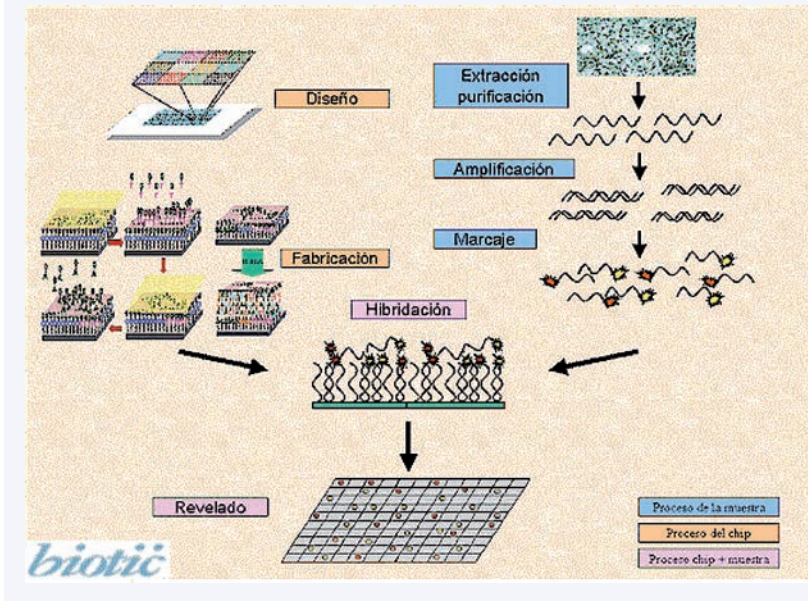
se consigue inmovilizar o lo que es lo mismo, la posibilidad de practicar numerosos experimentos de hibridación en paralelo (12).

3.2. Definición y diseño de fabricación

Consiste en un gran número de moléculas de ADN (sondas) ordenadas sobre un sustrato sólido de modo que formen una matriz bidimensional. Los ácidos nucleicos de la muestra a analizar (diana), se someten a marcaje por distintos métodos (enzimáticos, fluorescentes...) y se incuban sobre el panel de sondas, permitiendo la hibridación de secuencias homólogas. La detección de la hibridación previa amplificación de la señal, se realiza por distintos métodos (escáneres, fluorimetrías...) y se procesan los datos por medio del Software correspondiente (16, 17) (figura 10).

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

Figura 10. Proceso completo de fabricación y técnica de un microarray [tomado de <http://bioinformatica.upf.edu/2002/projects/4.4.2/index.html>]



A continuación vamos a describir un poco más en profundidad cada una de las fases anteriores, necesarias a la hora de diseñar un microarray o un biochip.

3.2.1. Tipos de sondas

Entendemos como sondas a todo aquel material biológico empleado en ensayos de hibridación para detectar secuencias similares en el material de muestra o diana. Cuando se trata de microarrays de ADN, estas sondas pueden ser de tres tipos.

3.2.1.1. Sonda de oligonucleótidos

Con una longitud entre 11 y 50 nucleótidos, suelen ser lineales aunque también se utilizan en forma de horquilla porque se consigue detectar una señal con mayor intensidad.

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

3.2.1.2. Sonda de ácidos nucleicos peptídicos (PNAs)

Estos PNAs son moléculas artificiales con características híbridas de ácidos nucleicos y peptídicos; esta particularidad permite que el híbrido formado entre sonda PNA-ADN diana presente mayor estabilidad térmica. Estas sondas son particularmente adecuadas para detectar polimorfismos (SNPs) porque los híbridos formados son menos estables (18).

3.2.1.3. Sonda de ADN complementario (ADNc)

Son fragmentos o genes completos procedentes generalmente de distintas librerías génicas; su tamaño oscila desde cientos de bases hasta varias kilobases. (tabla 1).

Tabla 1. Diferencias entre microarrays y biochips (modificado de genoma España) [tomado de (16)]		
	Microarray de ADN	Biochip de ADN
Tipo de impresión	Por deposición	Por síntesis
Material genético inmovilizado	Fragmentos de cDNA	Oligonucleótidos
Densidad de integración	10.000-15.000/microarray	200.000-300.000/chip
Coste	Bajo	Alto
Ventaja	Caracteriza genes nuevos	Puede no necesitar PCR
Inconveniente	Necesita PCR	Genes de interés y regiones no codificantes deben ser identificadas previamente

3.2.2. Soportes

Estos soportes pueden ser de distinta naturaleza, desde membranas porosas de nylon o nitrocelulosa (uniones no covalentes con el material a inmovilizar) (19) y macropartículas, a chips lisos no porosos (uniones covalentes) de vidrio, plástico, oro, o incluso un conjunto de electrodos cubiertos por una fina capa de agarosa (Nanogen®) (17).

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

3.2.3. Marcaje de sondas y muestras

Este marcaje es necesario para posteriormente detectar la hibridación entre la sonda de ADN y el material diana, es decir, el marcador fluorescente o no, señala la ubicación de la secuencia de oligonucleótidos complementarios en el chip (9). Entre los más empleados se encuentran los métodos de marcaje indirectos químicos y enzimáticos que utilizan fluoróforos como indicador (20) aunque también puede emplearse como método de marcaje directo los métodos radioactivos. Los métodos químicos utilizan a la biotina como indicador, esta se une a la sonda y a la muestra se le añade avidina o estreptavidina conjugada con fluorocromos (Fluorescencia). Cuando el marcaje es enzimático, a la sonda se le une digoxigenina como indicador y a la muestra se le añade un anticuerpo anti-Digoxigenina conjugado con enzima como marcador (Quimio-luminiscencia) (17).

Existen además de estas otra serie de técnicas que NO necesitan de MARCAJE para detectar la hibridación tales como la Resonancia de Plasmones en superficie (detección óptica) o la espectrometría de masas MALDI-TOF y que son determinantes para conseguir una mayor sensibilidad, reducir la cantidad de muestra y sobre todo omitir la amplificación previa (17).

3.2.4. Inmovilización de sondas y fabricación de microarrays y biochips

Respecto a la técnica de inmovilización de la sonda, se deberá tener muy en cuenta el soporte elegido y la técnica de fabricación del microarray de ADN, de modo que la química empleada sea estable durante todo el experimento, la sonda permanezca funcional después de inmovilizarla y no se entorpezca el emparejamiento de bases (17).

Uno de los métodos más empleados por su sencillez, eficacia y bajo coste son las monocapas autoensambladas (self-assembled monolayers o SAMs) que se forman a partir de la organización espontánea de las sondas previa su activación con grupos tiol principalmente; estos grupos tioles se fijan al soporte por un mecanismo de adsorción química y el resto de la molécula establece uniones electrostáticas (puente de hidrógeno, Van der Waals...) con sus moléculas vecinas (21).

En cuanto a la fabricación de microarrays y biochips, las principales tecnologías empleadas para disponer sondas de forma ordenada son (16):

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

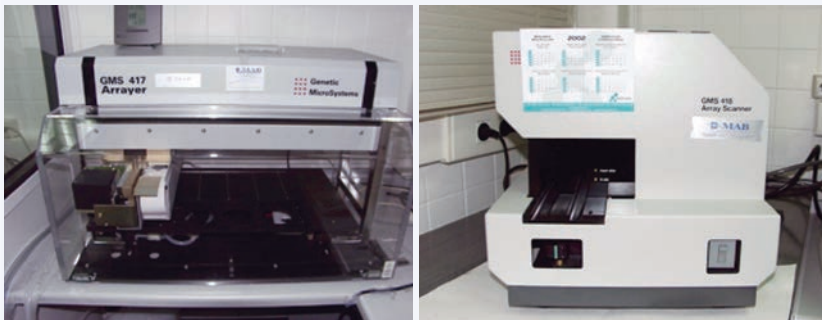
1. Ink-Jetting o Impresión por chorro de tinta: la impresión de sondas se realiza sin contacto.
2. Pin deposition: la impresión de sondas es por contacto.
3. Fotolitografía: la síntesis de sondas es *in situ* mediante métodos químicos.
4. Electrodeposición: la inmovilización de sondas de ADN se realiza sobre nanopartículas de biorreconocimiento en electrodos.
5. Unión con direccionamiento electrónico.

3.2.5. Escaneado y software

Existe en el mercado un amplio abanico de empresas que comercializan escáneres capaces de detectar la hibridación producida en microarrays y biochips; estos pueden ser de alta tecnología y con un elevado coste económico o también existen de menor coste y mas enfocados al mundo académico y pequeños centros de investigación (17). Entre todos ellos podemos destacar por ejemplo el Affymetrix 428 scanner, desarrollado por la empresa Affymetrix, (<http://www.affymetrix.com>) o el GMS 418 array scanner de MWG Biotech (<http://mwgdna.com>) (figura 11).

En lo que se refiere al procesamiento de los datos, el empleo de herramientas bioinformáticas es uno de los principales problemas en la utilización de microarrays y biochips. La mayoría de ellos emplean técnicas de minería de datos «Data Mining» que permiten la elaboración de modelos de análisis como por ejemplo aquellos que agrupan genes o experimentos en función de dife-

Figura 11. Modelos de Arrayer (izquierda) y Scanner (derecha) [tomado de Instituto de Salud Carlos III. (<http://infobiochip.isciii.es>)]



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

rentes patrones «Clustering». Los avances en la capacidad de gestión y almacenamiento de las bases de datos son esenciales para mejorar la calidad de la información obtenida (17).

4. Otras tecnologías

Existen otras tecnologías aparte de microarrays y biochips, como son las siguientes:

1. Métodos que emplean **partículas**, (también sobre soporte sólido) y con un concepto muy similar al del chip de ADN, solo que en este caso los oligonucleótidos están anclados a pequeñas microesferas de 3-5 micras de diámetro (8). Como ejemplos comerciales tenemos Luminex 100™ (luminex) y Beadarray™ (Illumina).
2. **Pirosecuenciación: Pyrosequencing™**. En este caso, la síntesis de cadenas se produce en ausencia de didesoxinucleotidos, empleando una cascada de reacciones enzimáticas para detectar la incorporación de nucleótidos, es decir, cada desoxinucleotido se añade individualmente junto con una enzima nucleotidasa que le degrada si no se incorpora a la cadena de síntesis. La detección se produce por un destello de quimioluminiscencia inducido por el pirofosfato liberado del desoxinucleotido que se agrega (22) (figura 12).

Figura 12. Pirosecuenciación [modificado de (12)]



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

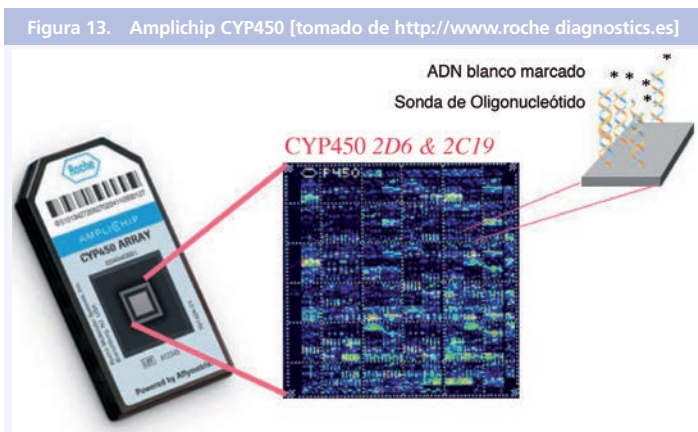
3. **Miniaturización:** dispositivos microfluídicos o Lab-on-a-chip (LOAC) Técnica que permite la identificación de SNPs por medio de empleo de redes de microcanales donde tienen lugar las reacciones. El método de detección empleado es la electroforesis (17). Ejemplo: LABCHIP®(23).

5. Aplicaciones genotipado de polimorfismos

Como ejemplo de uno de estos test farmacogenómicos de los que hablábamos en la introducción de este capítulo y con tecnología Biochip, tenemos el Amplychip CYPp450 de Roche, que permite la identificación de polimorfismos relacionados con el metabolismo de fármacos, en concreto presenta alta sensibilidad en el análisis de 29 polimorfismos y mutaciones del gen CYP2D6 y 2 polimorfismos del gen CYP2C19, permitiendo así un estudio más preciso del genotipo y pronóstico del fenotipo de los pacientes (metabolizador lento, intermedio, eficiente o ultrarrápido). El test genotipa con exactitud a más del 99% de individuos a nivel mundial (24) (figuras 13 y 14).

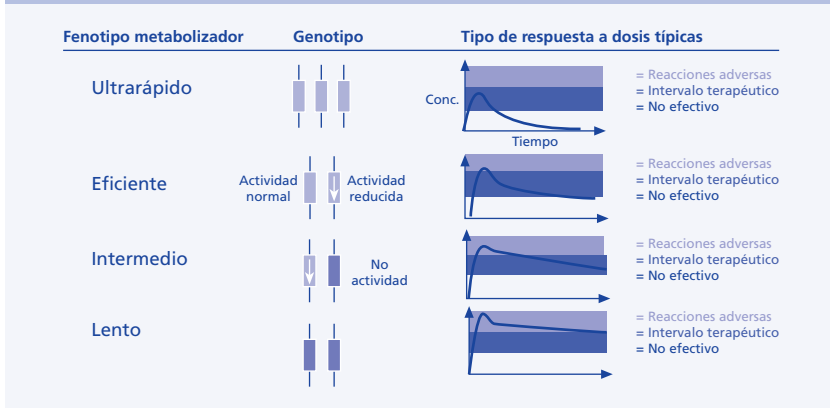
Otros test toxicogenómicos para detección de polimorfismos del cyp 450 serían (8):

- Codelink P450 bioarrays: Polimorfismos CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5, y CYP 1B1 (110SNPs).



Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

Figura 14. Determinación del tipo de fenotipo metabolizador del paciente [tomado de <http://www.roche-diagnostics.es>]



- Drug MetTM genotyping test: Polimorfismos CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A5.
- Tag- ItTM Mutation detection Kits: Polimorfismos CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19.

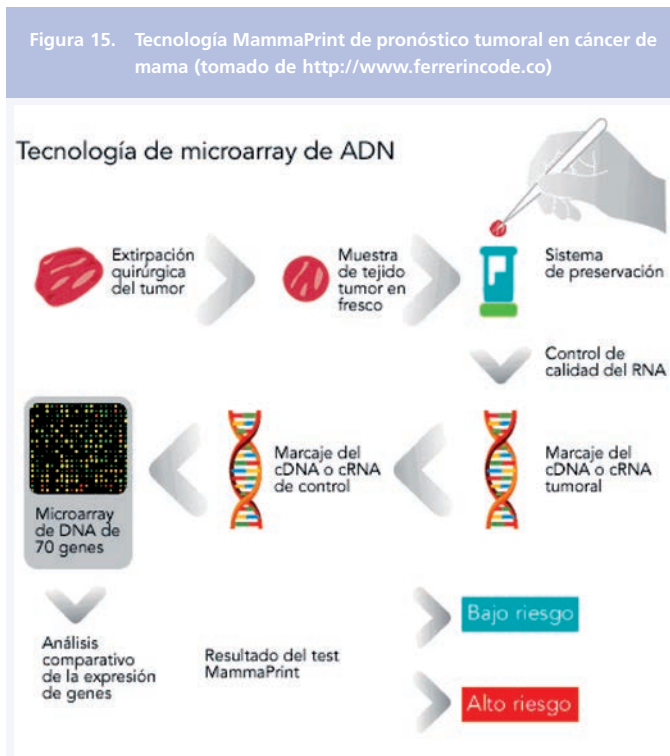
Existe también un chip (PHARMACHIP®) desarrollado por una empresa española, Progenika, capaz de realizar el análisis de los polimorfismos mas importantes implicados en la respuesta a fármacos (mas de 30 genes y 90 SNPs); proporciona información sobre genes incluidos en las siguientes categorías: enzimas metabolizadores de fase I (citocromo p450), enzimas de fase II involucradas en reacciones de conjugación, receptores de neurotransmisores , transportadores del fármaco y otras dianas farmacológicas. (<http://www.progenika.com>).

Otras aplicaciones del genotipado de SNPs además de la farmacogenética serían el **diagnostico predictivo** y el **desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos**. Como ejemplo en el diagnostico predictivo tenemos el test MammaPrint® que analiza el DNA contenido en el tejido tumoral y determina la agresividad de ese tumor. El estudio mide la expresión de 70 genes específicos al desarrollo del cáncer de mama. Esto se hace en seis ocasiones para determinar con precisión la agresividad del tumor. El resultado de una prueba de Mam-

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

maPrint es muy clara: o bien hay un BAJO RIESGO de metástasis (Buen Pronóstico) o un ALTO RIESGO de metástasis (Mal Pronóstico). (<http://www.mammaprint.com>) (figura 15).

Por último, destacar por su importancia la reciente publicación en Mayo de este mismo año, de un trabajo realizado por un grupo holandés, que relaciona los resultados de test farmacogenéticos con recomendaciones terapéuticas específicas. Después de una amplia revisión bibliográfica, han sido capaces de establecer guías de recomendación de dosis (basadas en información farmacogenética) para 55 fármacos, asociados con genes que codifican CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, Thiopurina-S-metiltransferasa (TPMT), dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), vitamina-k-epóxido-reductasa (VKORC1), uridin-difosfato-glucuronosiltransferasa 1A1 (UGT1A1), HLA-B44, HLA-B*5701, CYP3A5, Y Factor V Leiden (FVL) (25).



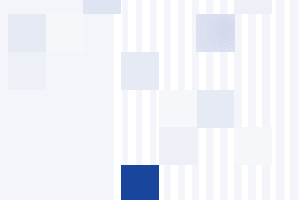
Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

6. Bibliografía

- (1) EMEA/CHMP/ICH/437986/2006. Agencia europea del medicamento (http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002880.pdf).
- (2) Thompson, M. W. (2008): *Genética en Medicina*. Ed. Masson, 18: 481.
- (3) Ginsburg, G. S.; McCarthy, J. J. (2001). «Personalized medicine: revolutionizing drug discovery and patient care». *TRENDS in Biotechnology*, vol. 19, núm. 12, diciembre, p. 491-496.
- (4) Schmitz, G. et al. (2001): «Pharmacogenomics: implications for laboratory medicine». *Clinical Chimica Acta*, 308, p. 43-53.
- (5) Nelson, D. L. (2005): *Lehninger Principios de bioquímica*, ed. Omega, 8: 297.
- (6) Freimuth, R. R.; et al. (2004): «High-throughput genotyping methods for pharmacogenomics studies». *Curr. Pharmacogenomics*, 2, 21-33.
- (7) Tsuchihashi, Z.; Dracopoli, N.C. (2002): «Progress in high throughput SNP genotyping». *Pharmacogenomics J*, 2(2): 103-10.
- (8) López, M, Mallorquin, P, Vega. M. (2005): «Genotipado en la salud humana. Informe de Vigilancia Tecnológica». *GENOMA ESPAÑA/CIBT-FGUAM*, 37-46.
- (9) Jorde, L. B. (2011): *Genética Medica*. Ed. ElServier, 3: 40-50.
- (10) Watson, J.D.; Baker, T.A.; Bell, S.P.; Gann, A.; Levine, M. et Losick, R. (2004). *Molecular Biology of the Gene*
- (11) Nelson, D. L. (2005) *Lehninger Principios de bioquímica*. Ed. Omega, 9: 322.
- (12) Brown, T. A., Terence A. (2008): *Genomas*. Ed. Panamericana, 3: 74-77.
- (13) Santiago Dorrego, C.: Aspectos biopatológicos en pacientes en tratamiento con metadona [tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2005.
- (14) Brown, T. A., Terence A. (2008): *Genomas*. Ed. Panamericana, 2: 42.
- (15) Hermoso Fernández, A. (2005): *La Industria del biochip*. Técnica Industrial 257: 53.
- (16) López, M., Mallorquin, P, Vega. M. (2006): «Aplicaciones de los microarrays y biochips en la salud humana. Informe de Vigilancia Tecnológica». *GENOMA ESPAÑA/CIBT-FGUAM*, 10-15.
- (17) López, M., Mallorquin, P, Vega. M. (2002): «Microarrays y Biochips de ADN. Informe de Vigilancia Tecnológica». *GENOMA ESPAÑA/CIBT-FGUAM*, 9-27.

Técnicas de identificación de polimorfismos genéticos

- (18) Campas, M.; Katakis, I. (2004): «DNA biochip arraying, detection and amplification strategies». *Trends in analytical Chemistry*, vol. 23(1): 49-62:
- (19) Hoheisel, J.D.; Diehl, F.; Sheideler, M.; Hauser, N.; Aign, V.; Matysiak, S.; Beier, M. (2001): «Improving DNA chip Technology», *Chemical Aspects*.
- (20) Osborn J. (2000): A review of radioactive and non-radioactive-bases techniques used in life science application. Part I: blotting techniques. *Innovations Forum Life science news* 6, Amershan Pharmacia Biotech. 1-4.
- (21) González Rumayor, V. et al. (2005). Informe de Vigilancia Tecnológica. Aplicaciones de Biosensores en la industria agroalimentaria. Fundación para el conocimiento madri+d; CEIM).
- (22) Brown, T. A. Terence A. (2008): *Genomas*. Ed. Panamericana, 4: 115.
- (23) Krishnan, M.; Namasivayam, V.; Lin, R.; Pal, R.; Burns, M.A. (2001): «Microfabricated reaction & separation systems». *Curr. Op. Biotech.*, 12, 92-98.
- (24) Roche Group, Amplichip CYP450 Test (http://www.roche-diagnostics.com/products_services/amplichyp_cyp450.html)
- (25) Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, Rongen GA, van Schaik RH, Schalekamp T, Touw DJ, van der Weide J, Wilffert B, Deneer VH, Guchelaar HJ.: «Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines». *Clin Pharmacol Ther*, 2011 May;89(5):662-73. Epub 2011 Mar 16.



Casos prácticos para la docencia universitaria

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Eva Arribas Arbiol

Tanto en psiquiatría, como en geriatría o psicogeriatría, el uso en clínica de fármacos que utilizan el citocromo 2D6 para su metabolismo es generalizado. En este sentido, aproximadamente el 60% de esas drogas entraría en la clasificación de antidepresivo o antipsicótico (1). En lo que se refiere al uso de antidepresivos, la relevancia clínica del 2D6 no está clara, sobre todo para antidepresivos del grupo Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS), que son los más utilizados en la actualidad (2). Sin embargo, la implicación del 2D6 en el tratamiento con antipsicóticos, parece ser más relevante, debido a que la mayoría de los efectos secundarios de los antipsicóticos atípicos, son dosis-dependientes, lo que sugiere que la determinación de los polimorfismos genéticos implicados en su metabolismo, puede suponer un beneficio en el tratamiento.

La Risperidona es uno de los antipsicóticos atípicos más utilizado en nuestro entorno, y en general, los tratamientos duran amplios periodos de tiempo, y son coadministrados con diferentes tipos de fármacos. De ahí, la importancia de disponer de todos los conocimientos o herramientas necesarias para su manejo.

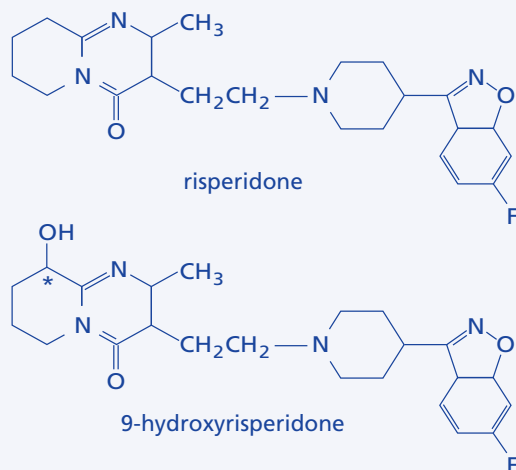
La Risperidona, es un derivado del benzisoxazol, empleado en el tratamiento de la esquizofrenia. Ha sido también aprobado por la FDA su uso para el tratamiento en los trastornos bipolares, y en autismo en niños y adolescentes. Se utiliza también, en trastornos como la demencia, depresión, trastornos obsesivo-convulsivos, estrés postraumático, trastornos de personalidad, déficit de atención e hiperactividad, y en niños con síndrome de Tourette (2, 3, 4). Tiene una acción potente sobre el receptor serotoninérgico 5-HT₂, y posee un moderado antagonismo sobre los receptores dopaminérgicos D₂ (5). Es efectivo tanto en el tratamiento de los síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia, y tiene un potencial para causar efectos extrapiramidales menor que los antipsicóticos típicos (6).

En adultos, la risperidona tiene una absorción rápida y completa tras la administración oral. Se metaboliza principalmente en el hígado excretándose en una proporción menor del 1% en forma inalterada por las heces. La vía metabólica principal es la 9-hidroxilación, y en menor proporción N-desalquilación y 7-hidroxilación (7).

Diferentes estudios in vitro e in vivo muestran que los CYPs 2D6, 3A4 y 3A5, son capaces de metabolizar la risperidona a 9-OH-risperidona, siendo el

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Figura 1. Estructura química de Risperidona y 9-OH-Risperidona [tomada de (8)]



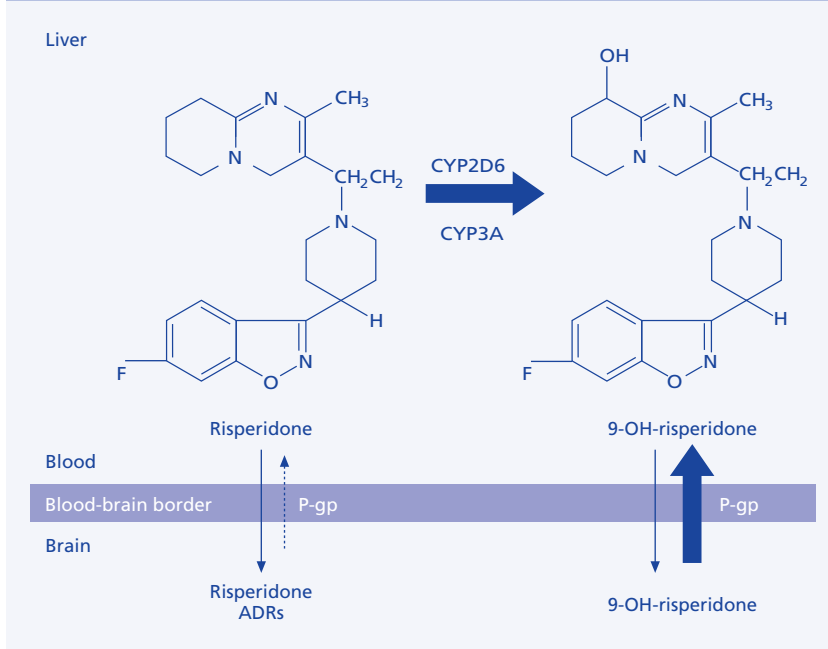
2D6, el que tiene mayor implicación en este proceso (9, 10). Esta hidroxilación en la posición 9, es la principal vía metabólica (aproximadamente el 31% de la dosis excretada en orina). El principal metabolito, la 9-OH risperidona tiene prácticamente la misma potencia que su progenitor, lo que no ocurre con otros metabolitos carentes de actividad farmacológica (11) (figura 2).

El gen CYP2D6 está localizado en el cromosoma 22q13.1, y sus polimorfismos *3, *4, *5 y *6 son responsables de aproximadamente el 98% de los alelos inactivos. Hay cuatro fenotipos de CYP2D6 producidos por combinaciones de varios alelos con diferentes grados de actividad enzimática: PM (poor metabolizer), IM (intermediate metabolizer), EM (extensive metabolizer), y UM (ultra-rapid metabolizer) (12).

En metabolizadores pobres (PM), la vida media de la risperidona es aproximadamente de 19 horas, mientras que en pacientes que exhiben el fenotipo de metabolizadores normales o extensivos (EM), la vida media es de unas 3 horas; sin embargo, debido a que el metabolito es activo, la vida media de ambos alcanza aproximadamente las 20 horas tanto en fenotipos PM, como en EM (13). Existe, por lo tanto, una correlación entre el genotipo del CYP2D6, y la relación entre las concentraciones plasmáticas de risperidona y su principal

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Figura 2. Metabolismo de Risperidona [tomada de (2)]



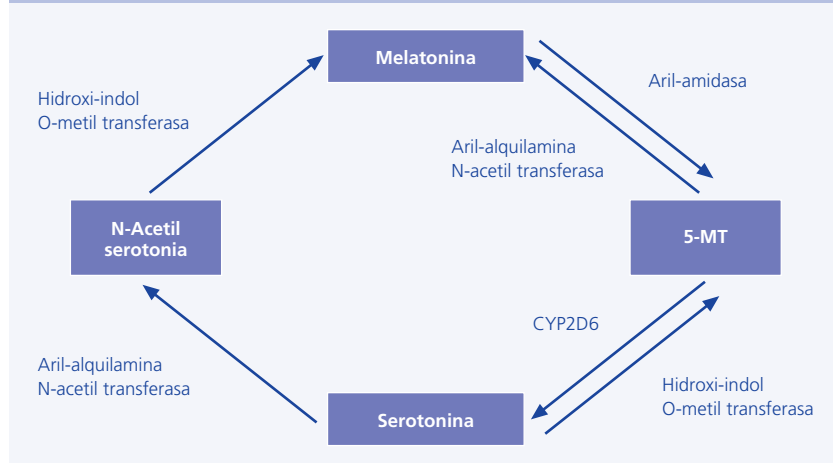
metabolito, que ha sido puesta de manifiesto en pacientes en tratamiento crónico con este medicamento (14).

El alelo CYP2D6*4 es el más común (alrededor del 20%), y se traduce en el fenotipo PM en raza caucásica (15). Los individuos heterocigotos para CYP2D6*4 muestran metabolismos más lentos que los individuos EMs, y se clasifican habitualmente como metabolizadores intermedios (IMs), aunque la traducción desde este genotipo al fenotipo es muy compleja (16). El fenotipo metabolizador ultrarrápido (UM), ocurre cuando existen varias copias funcionales del gen, produciendo un aumento de la actividad enzimática. Este fenotipo UM se ha descubierto en pacientes con depresión, y en no respondedores a dosis normales de antidepresivos tricíclicos (17, 18).

La importancia del 2D6, parece no centrarse solo en aspectos metabólicos de compuestos exógenos, sino que, según investigaciones del grupo de Yu et al., el CYP2D6 está implicado en la conversión de 5-OH metoxitriptamina (5-MT) en serotonina, según la figura 3 (19):

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Figura 3



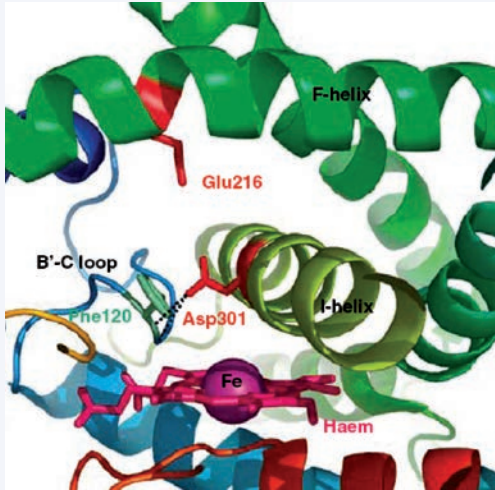
En esta línea, diferentes estudios han encontrado un incremento en la frecuencia de fenotipos PMs en pacientes psiquiátricos. En uno de ellos, la proporción de personas con déficit en el 2D6 fue el doble (14%) que en la población normal (20). Sin embargo, hasta el momento, no parece existir relación entre el polimorfismo CYP2D6*4/*4 y la predisposición hacia padecer desórdenes de ansiedad o depresión en comparación con el fenotipo normal o EMs (21) (figura 4).

Centrándonos en lo que se refiere a metabolismo de agentes antipsicóticos, se sabe que la coadministración de Risperidona y Fluoxetina o Paroxetina (inhibidores del 2D6), se traduce en un incremento en las concentraciones plasmáticas de Risperidona de unas 4.6 veces, y una menor concentración de su principal metabolito 9-OH Risperidona si se compara con pacientes sin coadministración (25, 26). Estudios en voluntarios sanos muestran que la farmacocinética de la Risperidona, y su principal metabolito, está alterada en fenotipos PMs, detectándose un aclaramiento total de este medicamento de unas 7 veces menos (27). Pacientes esquizofrénicos tratados con risperidona en monoterapia, mostraron en el estado estacionario, concentraciones plasmáticas significativamente mayores con el fenotipo PM, que con otros fenotipos (17).

En resumen, diferentes estudios han intentado evaluar el coste-beneficio del genotipado del CYP2D6, previo al tratamiento con Risperidona (2, 28). Sin

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Figura 4. Representación esquemática de la estructura cristalina del CYP2D6 (22, 23, 24)



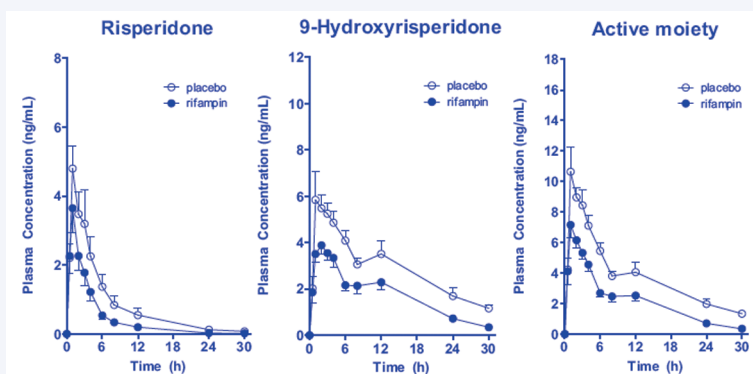
embargo, no podemos concluir con los datos disponibles hasta el momento, que esta relación sea positiva, ni tampoco que no lo sea. Aunque es sabido que los efectos secundarios de los antipsicóticos atípicos tienen que ver con su nivel dentro del organismo, y sabemos que los polimorfismos del 2D6 pueden afectar a estas concentraciones, es difícil establecer en todos los casos una relación clara, ya que intervienen otros factores como los ambientales.

Aunque con menor importancia que el 2D6, la isoforma 3A, también está implicada en la 9-hidroxilación de Risperidona (29). Aunque su importancia no termina de estar del todo clara, hay diferentes estudios que sí afirman su participación en la disposición de este fármaco (10, 30, 31), así como también ha sido documentada la participación de la glicoproteína P, de la que hablaremos más adelante, en la misma (32).

En un estudio coreano (33), en el que se administraba rifampicina (inductor del CYP3A), conjuntamente con Risperidona, se demostró que la rifampicina disminuía significativamente las concentraciones de risperidona y 9-OH-Risperidona, reduciendo el valor del área bajo la curva alrededor del 51% para la Risperidona, y del 47% para la 9-OH-Risperidona, así como también los valores de C_{max} (figura 5).

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Figura 5. Concentraciones de Risperidona y 9-OH-Risperidona, tras la administración de 1 mg de Risperidona administrado tras el tratamiento durante 7 días con placebo, o con 600 mg/día de Rifampicina. Imagen tomada de (32)



Como puede observarse en las gráficas, las reducciones ocurren tanto para la risperidona como para su metabolito. Hay que destacar, que la Rifampicina es inductor enzimático del 3A, pero no lo es del 2D6, lo que avala la implicación del CYP3A en la disponibilidad de Risperidona. La reducción de 9-OH-Risperidona por parte de la Rifampicina implica la existencia de otras vías metabólicas diferentes a la 9-hidroxilación, como puede ser la N-Desalquilación oxidativa y/o la dehidroxilación alicíclica (34, 35) implicadas en el metabolismo de 9-OH-Risperidona.

Como puede vislumbrarse de lo citado anteriormente, es necesario profundizar en los aspectos metabólicos y/o farmacogenéticos que nos ayuden a manejar este tipo de tratamientos, en general dilatados en el tiempo, y también en general, acompañados de otras múltiples medicaciones. Sin ir más lejos, el tratamiento con antipsicóticos del tipo Risperidona es ampliamente utilizado en pacientes con patología dual, dolencia que según un estudio piloto llevado a cabo en la red de drogodependencias de la Comunidad de Madrid, tiene una frecuencia del 34% (36).

Una de las ventajas que encontramos en la Risperidona se encuentra en la existencia de una formulación galénica inyectable, con una duración prolongada, que nos asegura la estabilidad de la medicación durante 14 días. A pesar, de las molestias que genera la administración inyectable, ofrece, en el campo

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

de la psiquiatría algunas ventajas relacionadas sobre todo con el cumplimiento terapéutico.

El metabolito activo de la Risperidona, 9-OH Risperidona, se ha comercializado como un medicamento independiente: la Paliperidona.

A nivel farmacodinámico tiene actividad primordialmente antagonista de los receptores serotoninérgicos $5HT_{2A}$, y en menor grado antagonista dopaminérgico D_2 (37). También es antagonista de los receptores adrenérgicos α_1 y α_2 , así como de los receptores H_1 de histamina, lo que explicaría efectos secundarios ampliamente conocidos, como la sedación, o la hipotensión ortostática. No tiene afinidad por los receptores muscarínicos, por lo que no se esperan efectos secundarios del tipo alteraciones cognitivas, estreñimiento, etc.

Tampoco tiene actividad significativa sobre los receptores adrenérgicos β_1 , y β_2 (35).

El grupo de Karlsson y colaboradores estimaron que la dosis efectiva para obtener una ocupación del receptor D_2 de más del 60%, eran 6 mg/día. En esta línea, los estudios de neuroimagen llevados a cabo sugieren que paliperidona a dosis diarias de 6-9 mg induce un grado de ocupación en el receptor D_2 de entre el 70-80%, lo que se traduce en efectos terapéuticos antipsicóticos cuando la ocupación del receptor en los ganglios basales es mayor de 65% (38). Sin embargo, la incidencia de efectos extrapiramidales aumenta cuando la ocupación a ese nivel supera el 80-85% (36). Queda de manifiesto la importancia del seguimiento de las dosis administradas, que se verán influenciadas por multitud de variables.

La 9-OH- Risperidona, o Paliperidona, es una mezcla racémica, en la cual ambos enantiómeros tienen el mismo perfil farmacocinético (39). Para alcanzar el cerebro, el medicamento necesita ser absorbido, metabolizado, y atravesar la barrera hemato-encefálica (BHE). En este punto, parece ser que la Paliperidona tiene más dificultad que la Risperidona. Como se ha mencionado en párrafos anteriores, diferentes estudios se dirigen hacia la importancia de la glicoproteína P en la disposición de diferentes drogas o medicamentos sustratos de la misma (40). Diferentes autores han observado, que la glicoproteína P limita el paso de diferentes drogas al cerebro (risperidona, paliperidona, metadona, olanzapina) (41, 42, 43, 44), lo que afecta a la llegada de los mismos a sus dianas farmacológicas pudiendo así disminuir sus efectos. En este sentido, algunos estudios señalan que tanto la risperidona como la paliperidona son inhibidores *in vitro* de la glicoproteína P, y que por lo tanto, esta inhibición a nivel de la BHE, provocaría que la risperidona alterase la llegada de paliperidona al cerebro, cuando

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

esta se forma desde el metabolismo de la risperidona, y no cuando se administra como medicamento independiente (45). Otra vía de investigación reciente se basa en el hecho de que las variantes del gen ABCB1 que codifican para la glicoproteína P influyen en el curso y evolución de aquellos pacientes tratados con antidepresivos sustratos de transportador de esta glicoproteína, así como en la asociación entre el genotipo ABCB1 y la actividad de la misma (46, 47). Sin embargo, todavía es necesario profundizar en este camino.

A nivel receptorial, la afinidad por los receptores D2 para Paliperidona, es ligeramente superior que para Risperidona, siendo esta última más potente a nivel de bloqueo α_1 . Esta diferencia farmacodinámica explicaría la diferencia entre ambas sustancias de producir hipotensión ortostática (48). En lo que se refiere a su afinidad por los receptores α_2 , un estudio in vitro comparando antipsicóticos atípicos sugiere que la risperidona produce un bloqueo de estos receptores, superior a la Paliperidona unas 5 veces (44).

La afinidad de la paliperidona por los receptores 5-HT_{2c} es menor que la de Risperidona. El bloqueo de este receptor se ha asociado al incremento en el apetito observado en pacientes que toman antipsicóticos, aunque es posible que haya otros receptores implicados (49). Sin embargo, poseen la misma afinidad por los receptores histaminérgicos H1.

Respecto a la relación de la Paliperidona con los polimorfismos genéticos del CYP2D6, hay que decir que este medicamento tiene una biotransformación hepática mínima, hasta un máximo de un 6,5% de la dosis total. La vía CYP2D6 solo sería una de las posibles vías metabólicas, por lo que los fenotipos PM, no serían clínicamente relevantes (44).

Uno de los aspectos novedosos que ofrece la Paliperidona es su diseño galénico. Ha sido aprobada bajo la formulación denominada «OROS» (osmotically controlled release oral delivery system), que ya ha sido utilizada con numerosos medicamentos como Verapamilo, Metilfenidato, Nifedipino, etc. (50).

Esta tecnología ha avanzado mucho en los últimos años, desde los primeros sistemas osmóticos elementales, hasta las novedosas tabletas LCT (longitudinally compressed tablet) de formulación multicapas.

Este sistema de liberación controlada de Paliperidona, desarrollado por ALZA Corporation, proporciona una cantidad constante de fármaco, durante un período de 24 horas, reduciendo así, las fluctuaciones plasmáticas que caracterizan las formulaciones orales de liberación inmediata, de los antipsicóticos (51). El sistema contiene una membrana semipermeable diseñada para

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

liberar la droga-medicamento, a través de un orificio. En el tracto gastrointestinal, el gradiente de presión osmótica induce el paso del agua al sistema a través de la membrana, lo que proporciona la salida constante del medicamento. En el siguiente dibujo, tomado de (52), se hace una representación esquemática del sistema de triple capa, en el que se aprecia claramente el mecanismo de liberación de la sustancia.

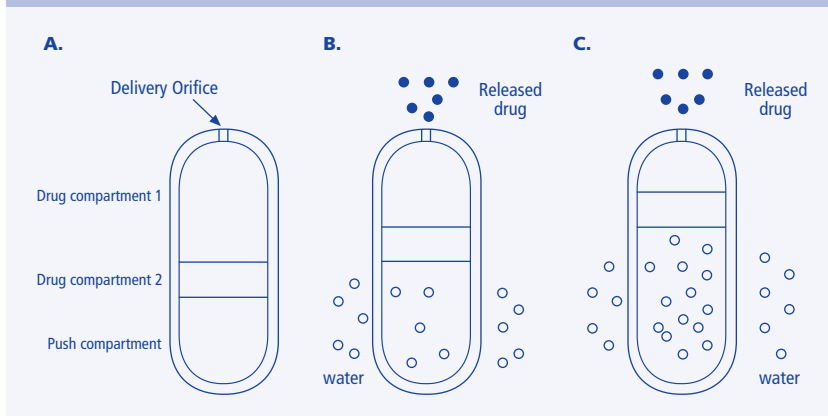
Este sistema se ha asociado con concentraciones del medicamento más estables, lo que se traduciría en efectos más uniformes y por lo tanto en mejoras en la seguridad. Generalmente es una forma de administración bien tolerada por el paciente, en la que además la liberación de la sustancia es independiente de la ingestión concomitante de comida (53, 52) (figura 6).

Recientemente se ha comercializado el **Palmitato de Paliperidona**, en formulación inyectable mensual, que aporta todos los beneficios de este medicamento garantizando la adherencia al tratamiento de los pacientes.

Palmitato de Paliperidona es el éster palmitato de la paliperidona (54).

- El nombre químico de Palmitato de Paliperidona es (9-RS)-3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-benzisoxazol-3-il)-1-piperidinil]etil]-2-metil-4-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-4H-piridol-[1,2-a]pirimidin-9-il hexadecanoato101.
- La fórmula molecular de Palmitato de Paliperidona es C₃₉H₅₇FN₄O₄.
- Palmitato de Paliperidona tiene un peso molecular de 664,89 daltons¹³ y su estructura química se muestra en la figura 5.213.

Figura 6. Imagen tomada de (52)



Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Presenta solubilidad acuosa mínima, por lo que para su formulación se ha reducido el tamaño de las partículas mediante la tecnología Nanocrystal®, creando nanopartículas, aumentando de este modo el área superficial. Este proceso permite obtener una suspensión acuosa de Palmitato de Paliperidona adecuada para la administración IM.

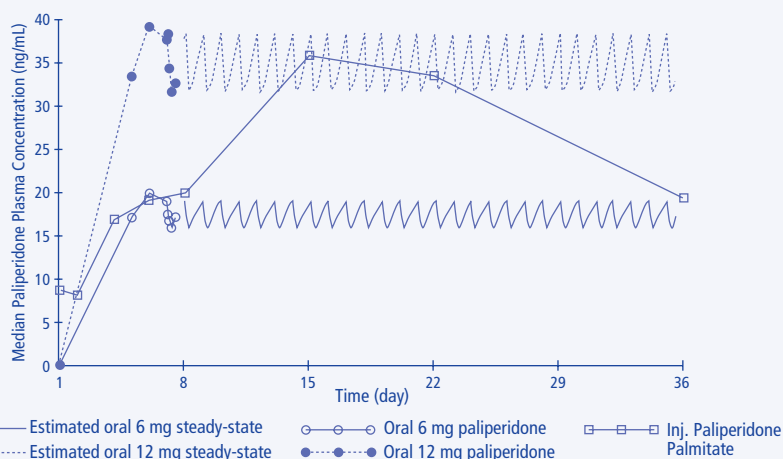
La formulación de menor tamaño de partículas produce como resultado una mayor área superficial que, a su vez, ofrece mayor solubilidad, y por lo tanto, una mejor velocidad de absorción (54, 55).

La formulación intramuscular de Paliperidona, se ha diseñado para producir una liberación de medicamento de forma mensual, alcanzando rápidamente las concentraciones del estado estacionario sin necesidad de otros suplementos orales y facilitando de este modo el manejo del paciente desde el punto de vista clínico.

En términos generales, se observa que los niveles plasmáticos globales de iniciación con Palmitato de paliperidona se encuentran dentro del intervalo de exposición observado entre 6 y 12 mg de paliperidona oral de liberación prolongada.

En la figura 7 podemos ver el perfil farmacocinético del Palmitato de Paliperidona durante un período de hasta 5 semanas después de su administración a dosis recomendadas en ficha técnica (56, 57).

Figura 7



Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

El Palmitato de Paliperidona, es un profármaco de la Paliperidona. Debido a su hidrosolubilidad extremadamente baja, se disuelve lentamente después de la inyección intramuscular antes de ser hidrolizado a Paliperidona y ser absorbido a la circulación sistémica. Después de una dosis única por vía intramuscular, las concentraciones plasmáticas de Paliperidona se elevan gradualmente hasta alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas a una mediana de Tmax de 13 días.

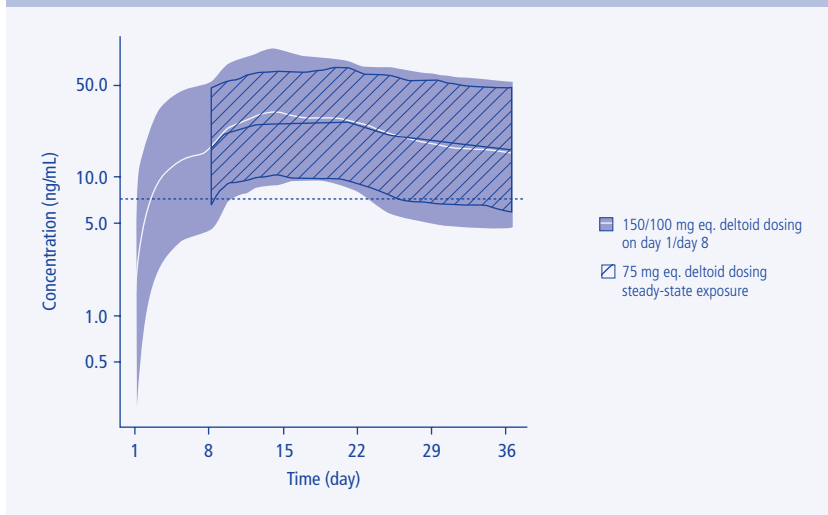
El perfil de liberación y el régimen de dosificación de Palmitato de Paliperidona se traducen en concentraciones terapéuticas mantenidas durante un período prolongado como puede ser un mes.

Como puede observarse en la figura 8, la mediana de la vida media aparente de Paliperidona tras la administración de Palmitato de Paliperidona a lo largo del rango de dosis de 25 mg a 150 mg oscila entre 25 y 49 días (54, 58).

La biodisponibilidad absoluta es del 100%, con una unión a proteínas plasmáticas de Paliperidona racémica del 74%.

Respecto a la biotransformación y eliminación, puede afirmarse que una semana después de la administración de una sola dosis oral de 1 mg de paliperidona de liberación inmediata marcada con C14, el 59% de la dosis es eliminada por la orina de forma inalterada, lo que indica que paliperidona no experimenta un intenso metabolismo por el hígado.

Figura 8



Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

Se han identificado cuatro vías metabólicas *in vivo*, ninguna de las cuales representa más del 6,5% de la dosis: desalquilación, hidroxilación, deshidrogenación y escisión de benzisoxazol.

Aunque en estudios *in vitro* se señala que las enzimas CYP2D6 y CYP3A4 pueden intervenir en el metabolismo de paliperidona, no hay datos *in vivo*, concluyentes, que demuestren que estas isoenzimas desempeñen un papel significativo en la trascendencia clínica del metabolismo de paliperidona.

Como ya hemos comentado en párrafos anteriores, estudios *in vitro* han demostrado que paliperidona es un sustrato de la P-gp y un inhibidor débil de la P-gp a altas concentraciones, aunque no existen datos de estudios *in vivo* y se desconoce la importancia clínica.

En conclusión, la necesidad de disponer de fármacos mejor tolerados y seguros, han conducido a la generación de medicamentos o formas farmacéuticas que ofrezcan la posibilidad de una administración con amplia estabilidad en los niveles plasmáticos del mismo, lo que para un tipo de pacientes, como los pacientes psiquiátricos en los que la adherencia terapéutica es un problema característico de la enfermedad, supone una ventaja. Por añadidura, el disponer de fármacos que prácticamente no interfieran con el metabolismo hepático, por medio del citocromo P450, suponen una alternativa para el abordaje terapéutico de aquellos pacientes polimedicados. De esta forma, se reducen las posibilidades de presentar interacciones farmacológicas indeseables, fundamentalmente en aquellos pacientes en los que se hace imprescindible garantizar concentraciones terapéuticas estables (por ejemplo, en pacientes tratados por consumo de sustancias, pacientes oncológicos o pacientes seropositivos).

Bibliografía

- (1) Mulder, H, Heerdink, ER, Van Iersel, EE, et al.: «Prevalence of patients using drugs metabolized by cytochrome P450 2D6 in different populations: a cross-sectional study». *Ann Pharmacother.*, 2007 Mar; 41(3):408-13.
- (2) Rodríguez Antona, C., et al.: «CYP 2D6 genotyping for psychiatric patients treated with risperidone: considerations for cost-effectiveness studies». *Pharmacogenomics* (2009); 10(4):685-699.
- (3) Katz I, de Deyn PP, Mintzer J, et al. The efficacy and safety of risperidone in the treatment of psychosis of Alzheimer's disease and mixed de-

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

- mentia: a meta-analysis of 4 placebo-controlled clinical trials. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2007 May; 22(5):475-84.
- (4) Shekelle P, Maglione M, Bagley S, et al.: *Efficacy and Comparative Effectiveness of Off-Label Use of Atypical Antipsychotics*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2007.
 - (5) Leysen JE, Gommeren W, Eens A, et al.: «Biochemical profile of risperidone, a new antipsychotic». *J Pharmacol Exp Ther*, 1988 Nov; 247(2):661-70.
 - (6) Chouinard G, Arnott W.: «Clinical review of risperidone». *Can J Psychiatry*, 1993 Sep; 38 Suppl 3:S89-95.
 - (7) Mannens G, Huang ML, Meuldermans W, et al.: «Absorption, metabolism, and excretion of risperidone in humans». *Drug Metab Dispos*, 1993 Nov-Dec; 21(6):1134-41.
 - (8) Norio Yasui-Furukori, et al.: «Different Enantioselective -9- Hydroxylation of Risperidone by the two human CYP2D6 and CYP3A4 enzymes». *Drug Metabolism and Disposition*, 2001, 29:1263-1268.
 - (9) Prior TI, Chue PS, Tibbo P, et al.: «Drug metabolism and atypical antipsychotics». *Eur Neuropsychopharmacol*, 1999 Jun; 9(4):301-9.
 - (10) Fang J, Bourin M, Baker GB.: «Metabolism of risperidone to 9-hydroxyrisperidone by human cytochromes P450 2D6 and 3A4». *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1999 Feb; 359(2):147-51.
 - (11) Heykants J, Huang ML, Mannens G, et al.: «The pharmacokinetics of risperidone in humans: a summary». *J Clin Psychiatry*, 1994 May; 55 Suppl. 1:13-7.
 - (12) Jian-Ping Zhang et al.: «Pharmacogenetics and Antipsychotics: Therapeutic Efficacy and Side Effects Prediction». *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2011 January; 7(1): 9-37.
 - (13) Cabovska B, Cox S.L, Vinks A.A.: «Determination of risperidone and enantiomers of 9-hydroxyrisperidone in plasma by LC-MS/MS». *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007 June; 1852 (1-2): 497-504.
 - (14) Scordo MG, Spina E, Facciola G, Avenoso A, et al.: «Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma levels of risperidone and 9-hydroxyrisperidone». *Psychopharmacology (Berl)*. 1999 Dec; 147(3):300-5.
 - (15) Bradford LD: «CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants». *Pharmacogenomics*, 2002 Mar; 3(2): 229-43.

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

- (16) Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, et al.: «The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype». *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Feb; 83(2):234-42
- (17) Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F et al.: «Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine». *Lancet*, 1993 Jan 2; 341(8836):63.
- (18) Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L et al.: «Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993 Dec 15; 90(24):11825-9.
- (19) Stranger BE, Nica AC, Forrest MS, et al.: «Population genomics of human gene expression». *Nat Genet*, 2007 Oct; 39(10):1217-24. Epub 2007 Sep 16.
- (20) De Leon J, Barnhill J, Rogers T et al.: «Pilot study of the cytochrome P450-2D6 genotype in a psychiatric state hospital». *Am J Psychiatry*, 1998 Sep; 155(9):1278-80.
- (21) Monique J Bijl, Hendrika J Luijten et al.: «Association between the CYP2D6*4 polymorphism and depresión or anxiety in the elderly». *Pharmacogenomics* (2009), 10(4), 541-547.
- (22) De Lano WL (2002): «The PyMol Molecular Graphics System». <http://www.pymol.org>
- (23) Rowland P, Blaney FE, Smyth MG et al.: «Crystal sttructure of human cytochrome P450 2D6». *J. Biol Chem*, 281:7614-7622.
- (24) Marechal J-D et al.: «Insights into drug metabolism by cytochromes P450 from modelling studies of CYP2D6-drug interactions».
- (25) Balant-Gorgia AE, Gex-Fabry M, Genet C, Balant LP.: «Therapeutic drug monitoring of risperidone using a new, rapid HPLC method: reappraisal of interindividual variability factors». *Ther Drug Monit*, 1999 Feb; 21(1):105-15.
- (26) Llerena A, Berecz R, Dorado P, et al.: «Determination of Risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma by liquid chromatography: application to the evaluation of CYP2D6 drug interactions». *J Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci*, 783, 213-219 (2003).
- (27) Huang ML, van Peer A, woestenborghs R, et al.: «Pharmacokinetics of novel antipsychot agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects». *Clin Pharmacol. Ther* (1993); 54, 257-268.

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

- (28) Hildegunn Hoberg Vetti, et al.: «Is Pharmacogenetic CYP2D6 testing useful?». *Tidsskr Nor Legeforen*, 22, 2010;130.
- (29) Fang J, Bourin M, Baker GB: «Metabolism of risperidone to 9-hydroxyrisperidone by human cytochromes P450 2D6 and 3A4». *Naunyn Schmiedeberts Arch Pharmacol*, 1999; 359:147-151.
- (30) Jover F, Cuadrado JM, Andreu L, Merino J.: «Reversible coma caused by risperidone-ritonavir interaction». *Clin Neuropharmacol*, 2002; 25:251-253.
- (31) Kelly DV, Beique LC, Bowmer MI.: «Extrapyramidal symptoms with ritonavir /indinavir plus risperidone». *Ann Pharmacother*, 2002; 36: 827-830.
- (32) Boulton DW, DeVane CL, Liston HL, Markowitz JS.: «In vitro P-glycoprotein affinity for atypical and conventional antipsychotics». *Life Sci*, 2002; 71:163-169.
- (33) Young-Ah Kim, PhD, Pil-Whan Park, MD, PhD, et al. Effect of Rifampin, an Inducer of CYP3A and P-glycoprotein, on the Pharmacokinetics of Risperidone. *J. Clin. Pharmacol.* 2008; 48; 66.
- (34) Megens AA, Awouters FH, Schotte A, et al. Survey on the pharmacodynamics of the new antipsychotic risperidone. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994;114:9-23.
- (35) DeVane CL, Markowitz J.: «Drugs as substrates of metabolic enzymes antipsychotics». En Levy R, ed. *Metabolic Drug Interactions*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2000:245-258.
- (36) Szerman Bolotner,N; Arias Horcajadas, F; Vega Astudillo,P et al.: «Estudio piloto sobre la prevalencia de patología dual en pacientes en tratamiento en la Comunidad de Madrid». *ADICCIONES*, 2011, vol. 23 núm. 3, pp. 249-255.
- (37) Karlsson P, Dencker E, NybergS, et al.: «Pharmacokinetics and dopamine D2 and serotonin 5-HT2A receptor occupancy of paliperidone in healthy subjects: Two open-label, single-dose studies». *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 79:74.
- (38) Kapur S, Zipursky R, Jones C, Remington G, Houle S.: «Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: A double-blind PET study of first-episode schizophrenia». *Am J Psychiatry*. 2000; 157:514–520.
- (39) Vermeir M, Naessens I, Remmerie B, et al.: «Absorption, metabolism, and excretion of paliperidone, a new monoaminergic antagonist, in humans». *Drug Metab Dispos*, 2008; 36:769–779.

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

- (40) Benet LZ, Izumi T, Zhang Y, Silverman JA, Wachter VJ (1999). «Intestinal MDR transport proteins and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery». *J Control Release*, 62: 25–31.
- (41) Aquilante CL, Letrent SP, Pollack GM, Brouwer KL (2000): «Increased brain P-glycoprotein in morphine tolerant rats». *Life Sci*, 66: PL47-PL51.
- (42) Wang JS, Ruan Y, Taylor RM, Donovan JL, Markowitz JS, DeVane CL (2004): «The brain entry of risperidone and 9-hydroxy- risperidone is greatly limited by P-glycoprotein». *Int J Neuro- psychopharmacol*, 7: 415-419.
- (43) Wang JS, Ruan Y, Taylor RM, Donovan JL, Markowitz JS, DeVane CL (2004): «Brain penetration of methadone (R)- and (S)- enantiomers is greatly increased by P-glycoprotein deficiency in the blood–brain barrier of Abcb1a gene knockout mice». *Psychopharmacology* (Berlin), 173: 132-138.
- (44) Wang JS, Taylor R, Ruan Y, Donovan JL, Markowitz JS, Lindsay De Vane C (2004): «Olanzapine penetration into brain is greater in transgenic Abcb1a P-glycoprotein-deficient mice than FVB1 (wild-type) animals». *Neuropsychopharmacology*, 29: 551–557.
- (45) Hao-Jie Zhu1, Jun-Sheng Wang2, John S Markowitz, et al.: «Risperidone and Paliperidone Inhibit P-Glycoprotein Activity In Vitro». *Neuropsychopharmacology* (2007) 32, 757–764
- (46) Uhr M, Tontsch A, Namendorf C, et al.: «Polymorphisms in the drug transporter gene ABCB1 predict antidepressant treatment response in depression». *Neuron*, 2008, 24;57 (2):203-9
- (47) Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, et al.: «ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research». *Pharmacogenomics J*, 2007; 7(3):154-79
- (48) Jose de Leon, M.D. Gary Wynn, M.D. Neil B. Sandson, M.D.: «The Pharmacokinetics of Paliperidone Versus Risperidone». *Med-Psych Drug-Drug Interactions Update*.
- (49) Hartfield AW, Moore NA, Clifton PG: «Serotonergic and histaminergic mechanisms involved in intra-lipid drinking?» *Pharmacol Biochem Behav*, 2003; 76:251-258.
- (50) Conley R, Gupta S, Sathyan G.: «Clinical spectrum of the osmotic-controlled release oral delivery system (OROS), an advanced oral delivery form». *Curr Med Res Opin*, 2006; 22:1879-1892.

Fármacos antipsicóticos tipo risperidona-paliperidona y su relación con los citocromos

- (51) Karlsson P, Dencker E, Nyberg S, et al.: «Pharmacokinetic and dopamine D2 and serotonin 5-HT_{2A} receptor occupancy of paliperidone in healthy subjects». *Eur Neuropsychopharmacol*, 2005; 15 (Suppl 3):S385.
- (52) Conley R, Gupta SK, Sathyan G.: «Clinical Spectrum of the osmotic-controlled release oral delivery system (OROS), an advanced oral delivery form». *Curr Med Res Opin*, 2006; 22 (10): 1879-92.
- (53) Bass DM, Prevo M, Waxman DS.: «Gastrointestinal safety of an extended-release, nondeformable, oral dosage form OROS: a retrospective study». *Drug Saf*, 2002; 25 (14):1021-33.
- (54) Ficha técnica de palmitato de paliperidona.
- (55) Elan Drug Technologies (2009). Available at: http://www.elandrugtechnologies.com/invisibleray/media/images/_client_specific/TechnologyFocus2.pdf
- (56) Texas Department of state health services. Formulary monograph Paliperidone Palmitate extended release injectable suspension.
- (57) Canadian Monograph. Paliperidone palmitate. Product monograph. paliperidone palmitate Prolonged-Release Injectable Suspension, Samtani M et al. Dosing and Switching Strategies for Paliperidone Palmitate Based on Population Pharmacokinetic Modelling and Clinical Trial Data. *CNS Drugs*, 2011; 25 (10): 1-17.

CASO 1

■ Motivo de ingreso:

Varón de 34 años, que es derivado a nuestro Centro tras su paso por diversos dispositivos de media y larga estancia, por dificultades de adaptación.

■ Antecedentes familiares:

Es el segundo de cuatro hermanos. Sus padres viven sanos, dedicándose a la agricultura. No se describen enfermedades psiquiátricas en la familia.

■ Antecedentes personales:

— Médico quirúrgicos:

- Hepatitis C detectada hace años, con elevación mantenida de transaminasas, con Ac VHC +, con RNA +, carga vírica elevada y genotipo 1b., que requirió tratamiento con Interferón y Rivabirina, con resultado exitoso.
- No refiere alergias medicamentosas.
- Angiomas hepáticos, sin repercusión clínica.

— Psicobiográficos:

Inició trastornos conductuales en la preadolescencia, en el medio familiar y escolar. Tenía dificultad en el cumplimiento de normas y el absentismo era habitual. Se empezó a relacionar con grupos marginales, comenzando a consumir alcohol y tóxicos (cannabis fumado habitualmente y de forma ocasional LSD y cocaína) y a realizar actos delictivos menores.

No llegó a finalizar estudios primarios, ni tampoco tuvo una actividad laboral estable. Con frecuencia se involucraba en peleas y es-

Casos clínicos

capadas de casa, llegando a cumplir condena en prisión durante tres años, por robo con intimidación.

La familia se ha visto desbordada en su manejo, sin capacidad de contención. El paciente está incapacitado y desde hace seis años vive institucionalizado en centros residenciales de patología mental.

■ Enfermedad actual y exploración psicopatológica:

Destaca la impulsividad e intolerancia a la frustración, que deriva en reacciones explosivas, con agresividad hacia terceros o hacia sí mismo. En este contexto, ha tenido repetidas ingestas voluntarias de cuerpos extraños (pilas) así como otras conductas movilizadoras del entorno.

Su nivel de introspección es escaso y reivindica el consumo de cannabis y alcohol, que no considera perjudicial, lo que ensombrece el pronóstico.

Su ánimo, en general, es estable, con periodos de fluctuación reactivos a estresores.

Presenta ideas delirantes escasamente estructuradas, de contenido megalomaniaco, dice ser alguien muy importante y se atribuye la construcción del Centro, donde también dice formar parte del staff. Estas ideas son minimizadas en otras ocasiones e incluso llega a hacer crítica de ellas, impresionando de delirio compensatorio. No tiene alteraciones sensorio-perceptivas.

A su ingreso está consciente, orientado en las tres esferas. Su discurso es coherente, sin contenidos psicóticos, empobrecido. Su ánimo es eufórico.

■ Diagnóstico:

Está diagnosticado de CI límite, esquizofrenia paranoide, trastorno límite de la personalidad y dependencia mixta de tóxicos.

■ Exploraciones complementarias:

Hemogramas coincidentes con tratamiento de interferón, con valores bajos en las tres series, hipertransaminasemia, hiperuricemia y proteínas totales por debajo de la normalidad. Todos los parámetros se normalizaron tras la suspensión del tratamiento.

■ Pautas terapéuticas y evolución:

El tratamiento de inicio consistió en Topiramato en dosis crecientes hasta 400 mg al día. Se mantuvo Risperidona por vía oral, aumentando la dosis previa de 3 mg al día progresivamente hasta 12 mg al día.

Se observó mejoría en el control de la impulsividad. También disminuyeron significativamente las ideas delirantes grandiosas. Sin embargo, comenzó a presentar episodios de sedación, somnolencia diurna, junto con movimientos extrapiramidales, sobre todo temblor, en miembros superiores.

Se reajustó la dosis de risperidona a la baja, sin desaparición completa de los efectos colaterales, lo que generaba malestar al paciente.

Se decide entonces, un cambio farmacológico, introduciendo paliperidona hasta dosis de 6 mg al día y suspendiendo risperidona. Se mantuvo topiramato sin cambios.

La evolución fue positiva, desaparecieron los efectos extrapiramidales y la mejoría sintomática obtenida, se mantuvo.

■ COMENTARIOS:

La respuesta clínica a los cambios farmacológicos en este paciente, hace pensar que pudiera tratarse de un metabolizador lento para la enzima 2D6. Esta enzima hepática del citocromo P450, interviene en el metabolismo de la risperidona. En un metabolizador lento, los niveles de risperidona se mantendrán más elevados y durante más tiempo, propiciando la aparición de efectos secundarios.

Casos clínicos

CASO 2

■ Motivo de consulta:

Varón de 40 años, que ingresa en nuestro Centro procedente de un albergue municipal, tras varios meses viviendo en la calle.

■ Antecedentes familiares:

Desconoce datos de su familia de origen puesto que fue dado en adopción al nacer.

Fruto de una relación esporádica, tiene un hijo, con quien apenas mantiene contacto.

■ Antecedentes personales:

— Médico quirúrgicos:

- Varios episodios de politraumatismo con fracturas óseas, con alteraciones en la marcha como secuela.
- Heridas incisas e incisocontusas múltiples, cicatrizadas.
- Estas lesiones son el resultado de reyertas callejeras en las que frecuentemente se ve involucrado el paciente.

— Psicobiográficos:

- Ha vivido en internados y en familias de acogida, con muchos cambios que le han impedido una vinculación afectiva estable.
- Apenas ha acudido a la escuela, siendo semianalfabeto. Ha desempeñado trabajos no cualificados de forma esporádica.
- A los 13 años inicia el contacto con alcohol y tóxicos. Ha consumido cannabis, cocaína, anfetaminas y finalmente desarrolla dependencia a heroína intravenosa. Ha estado en Centros de Desintoxicación, con periodos de abstinencia mantenida no superiores a 6 meses. Ha protagonizado fugas de los diversos centros en que ha estado, así como

Casos clínicos

robos y diversos actos delictivos menores. En el último año ha estado deambulando por diversas ciudades, sin domicilio fijo, tomando psicofármacos de forma autoadministrada e incluido en el Programa de Metadona, donde sí acudía puntualmente.

■ Enfermedad actual y exploración psicopatológica:

A su ingreso, estaba consciente, orientado, con discurso divagatorio, circunstancial, cierta bradipsiquia y latencia en las respuestas, evidenciando ligera sedación. Se percibía fétor etílico. Denotaba escasa conciencia de enfermedad, minimizando sus alteraciones conductuales. No mostraba agresividad ni alteraciones del pensamiento.

Sin embargo, en su historial clínico, se recogían síntomas de hostilidad, agresividad verbal, reacciones explosivas y psicoticismo no bien estructurado, en forma de ideas delirantes de vigilancia y perjuicio, que presumiblemente eran concomitantes con el consumo de sustancias.

■ Exploraciones complementarias:

- Serología a lúes y VIH negativa. VHB positivo con normalidad en hemograma y bioquímica, incluyendo enzimas hepáticas.
- TAC cerebral sin hallazgos de interés.

■ Diagnóstico:

- Dependencia de opiáceos.
- Trastorno antisocial de la personalidad.
- Trastorno psicótico inducido por múltiples tóxicos (en remisión actual).

■ Pautas terapéuticas y evolución:

La dosis de entrada de metadona, de 60 mg/día, se mantuvo, al igual que el tratamiento con carbamazepina 1,2 g/d. Se inició un programa cognitivo conductual rehabilitador, con el objetivo de su reinserción social y laboral.

Casos clínicos

Al cabo de un año, el paciente se había mantenido estable, sin sintomatología psicótica ni agresividad y con buena adaptación al centro.

Se consideró un reajuste farmacológico y se redujo la dosis de carbamazepina, hasta suspender.

Al bajar la dosis y sobre todo tras la suspensión de la carbamazepina, el paciente empezó a tener cambios de conducta, alternando exaltación e inhibición. Se le veía apático, distraído, con fallos de memoria, por momentos su lenguaje era disártrico. Sus pupilas eran mióticas y tuvo episodios de somnolencia. El paciente negaba ingesta ilegal de opiáceos u otras sustancias.

Sospechando intoxicación por metadona, se redujo la dosis de ésta hasta 30 mg/d, con lo que los síntomas cedieron.

■ COMENTARIOS:

La metadona, agonista opiáceo potente, es metabolizada a través del citocromo P450, en concreto por la isoenzima 3A4.

La carbamazepina es inductora de la 3A4, por lo que cabe pensar que la combinación de ambos fármacos en el caso que nos ocupa, mantenía una estabilidad clínica, debido a la alta dosis de metadona que se estaba suministrando. Cuando se suprimió carbamazepina, cesó la inducción enzimática y al mantener la misma dosis de metadona, el efecto fue de intoxicación opiácea. Esto se confirma comprobando que al bajar dosis de metadona, los síntomas clínicos desaparecen.

CASO 3**■ Motivo de consulta:**

Mujer de 56 años, que previamente vivía sola y es trasladada a nuestro Centro tras su incapacitación.

■ Antecedentes familiares:

Padres fallecidos. Su madre estaba diagnosticada de esquizofrenia.

Ella es la menor de tres hermanas. La hermana mayor también padece enfermedad mental, no bien filiada; vive en un centro residencial en otra provincia.

Mantiene contacto esporádico con su otra hermana y sobrinos, que no refieren patología mental.

■ Antecedentes personales:**— Médico quirúrgicos:**

Sin interés

— Psicobiográficos:

- Embarazo, parto y desarrollo psicomotor, sin alteraciones. Inició estudios de Magisterio sin llegar a concluirlos.
- Los primeros síntomas de patología mental sobrevinieron a la edad de 20 años, mientras estaba de viaje universitario. Comenzó a notar vivencias de control, sonorización y difusión del pensamiento. Oía voces que la llamaban, insultaban o le daban órdenes. Pensaba que no era hija de sus padres, los cuales eran impostores. Mantuvo síntomas delirantes crónicos con mayor o menor repercusión emocional, por temporadas. Con frecuencia tenía alteraciones conductuales, llegando a amenazas, agresividad, inadecuación social y sexual.

Casos clínicos

- Ingresó en unidades de hospitalización breve, en varias ocasiones. También estuvo en Hospital de Día y en dispositivos de Media estancia, con pobres resultados.

■ Enfermedad actual y exploración psicopatológica:

A su ingreso, estaba consciente y orientada en las tres esferas. Era evidente el abandono personal, con aspecto desaliñado y falta de higiene. Su discurso contenía elementos delirantes, con tendencia al descarrilamiento e incoherencia por momentos. Sin conciencia de enfermedad, había abandonado el tratamiento desde hacía varios meses y dejó de acudir a citas médicas. La alimentación y el sueño también eran irregulares.

■ Exploraciones complementarias:

Análisis sanguíneos y pruebas de imagen (TAC cerebral) sin hallazgos relevantes.

■ Diagnóstico:

Esquizofrenia paranoide.

■ Pautas terapéuticas y evolución:

Se inició tratamiento con antipsicóticos de depósito: 50 mg de risperidona inyectable administrada cada 14 días. Al no ceder sus síntomas delirantes y alucinatorios, se fue aumentando la dosis hasta prescribir 150 mg en cada administración. Al cabo de varios meses, la paciente continuaba con mucha productividad delirante (ideas de perjuicio, persecución, filiación, etc.), dando impresión de no estar medicada. Sin embargo, la adherencia no era cuestionable, dado que estaba institucionalizada y sus dosis eran controladas por enfermería.

Se consideró un cambio de fármaco, pensando en factores de idiosincrasia metabólica. Se fue disminuyendo gradualmente la dosis de risperidona IM e introduciendo paliperidona por vía oral. Con paliperidona no fue necesario el ajuste de dosis. Se inició con 9 mg diarios, con buena tole-

Casos clínicos

rancia. La mejoría se apreció en la primera semana, desapareciendo casi por completo la sintomatología activa de primer orden, manteniendo sintomatología residual encapsulada, de carácter delirante, sin repercusión emocional. No presentó efectos secundarios relevantes.

■ COMENTARIOS:

En relación a la risperidona y su metabolismo por el citocromo P450, probablemente esta paciente se trate de un metabolizador rápido o ultrarrápido, que necesita más dosis del fármaco para obtener un mismo efecto. En lugar de seguir aumentando dosis, llegado un punto, se decide cambiar a un antipsicótico cuya interacción con el citocromo no es tan relevante, como es la paliperidona. La medida es exitosa pues con una dosis media, logran controlarse los síntomas.

Discusión de los casos clínicos

Eva Arribas Arbiol

La exposición de estos casos clínicos pone de manifiesto la práctica clínica diaria. El manejo farmacológico del paciente requiere la atención individual del mismo, prestando no solo atención a las posibles patologías orgánicas fundamentales que pueden afectar a la farmacocinética del medicamento (alteraciones hepáticas, renales, inflamaciones, etc.), sino también, y dentro de estas, a las reacciones metabólicas mediadas por el citocromo P450.

Como se ha descrito a lo largo de toda la monografía, el citocromo P450 media las reacciones enzimáticas de fase I, que dotan al xenobiótico de mayor polaridad para facilitar su eliminación, o lo convierten en fármaco activo, o incluso en un metabolito tóxico.

En esta fase, cobran especial importancia la posible existencia en el individuo de determinados polimorfismos que afectan al metabolismo del fármaco, evidenciándose en la clínica respuestas terapéuticas no esperables.

Por ejemplo, del **caso número 1** podríamos discutir varios aspectos. Lo primero que podríamos valorar en la respuesta farmacológica de este paciente es su afectación hepática. Como se ha comentado en el apartado de exploraciones complementarias, el paciente 1 presenta una elevación de transaminasas, aunque no se detallan, así como una disminución de las proteínas plasmáticas. En este sentido, aquellos fármacos con fuerte unión a proteínas plasmáticas como la risperidona podrían desarrollar mayor efecto a nivel central.

La descripción de sintomatología como sedación y aumento de los efectos extrapiramidales nos hacen pensar en una posible sobredosificación del medicamento antipsicótico. Aunque la sedación también pudiera deberse al uso concomitante de topiramato, los efectos extrapiramidales nos inclinan hacia la risperidona.

Los estudios que relacionan los polimorfismos del citocromo 2D6 con la clínica del paciente son controvertidos. Si bien, como se detalla en la parte teórica del capítulo, lo esperable es un aumento de los niveles de risperidona en pacientes con alelos nulos para el citocromo 2D6, esto no es suficiente para asegurar que la repercusión clínica en el paciente nos obligue en todas las ocasiones a realizar un ajuste de las dosis, sin embargo en este caso, con los pocos datos disponibles esa posibilidad podría ser razonable.

En el **caso número 2**, la importancia del citocromo P450 es clarísima. Cuando estamos administrando a un paciente un medicamento inductor enzimático

Discusión de los casos clínicos

clásico, como es el caso de la carbamacepina, lo esperable, es que una vez retirado este medicamento, o disminuida la dosis, la desaparición o atenuación del efecto inductor produzca una elevación en los niveles plasmáticos de los medicamentos coadministrados, y que se metabolicen por los mismos citocromos. De especial interés es esta situación en pacientes drogodependientes en programas de sustitutivos opiáceos. Estos pacientes están en general polimedcados, y en muchas ocasiones hacen consumos de otras sustancias de acciones depresoras del SNC, no prescritas. El auge de las terapias antirretrovirales, así como la elevada prevalencia de pacientes VIH positivos en los programas de mantenimiento con metadona supuso un aprendizaje en el manejo conjunto de ambas terapias. Pacientes estabilizados en sus programas de metadona manifestaban de repente sintomatología objetiva de abstinencia, causada por el efecto inductor, potentísimo de algunos antirretrovirales. En estos pacientes se podían encontrar dosis de metadona de más de 400 mg, obligando a dividir en dos, o incluso en tres veces, la toma diaria para intentar mantener unos niveles de opiáceos aceptables. Obviamente la atención que requerían estos pacientes al cambiar a otro medicamento antirretroviral no inductor, era extrema, debido al alto riesgo de sobredosificación opiácea.

El **caso 3** nos ofrece un caso complejo. Por un lado podemos pensar, a juzgar por la ausencia de efecto clínico, que el paciente presenta un metabolismo rápido o ultrarrápido del medicamento (en este caso risperidona). Sin duda es una hipótesis válida. Sin embargo, debemos tener en cuenta las características del medicamento. En este sentido, la risperidona se metaboliza a 9-OH risperidona, que tiene actividad farmacológica y vida media más larga que el metabolito precursor. Por lo tanto, otra opción posible sería pensar en un alelo nulo para el citocromo 2D6, lo que estaría privando al paciente del metabolito 9-OH risperidona, disminuyendo por lo tanto los efectos de la terapia.

Queda de manifiesto, a pesar de la brevedad de los casos prácticos expuestos, el amplio campo que nos ofrece el estudio de los citocromos, que, junto con otras disciplinas, dirige las terapias hacia la medicina personalizada.



José Abascal 40 · Madrid
informacion@fundaciontejerina.es
www.cpm-tejerina.com