



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL
CITOCROMO P450 2D6 EN POBLACIÓN MAYA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ISRAEL TORRES RAMÍREZ DE ARELLANO

ASESORES: DRA. SANDRA DÍAZ BARRIGA ARCEO

Q.F.B. JORGE LUÍS GUERRERO CAMACHO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se desarrolló en el Departamento de
Neurogenética y Biología Molecular del Instituto
Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel
Velasco Suárez”

México, D.F.

Proyecto apoyado por:

CONACYT

Protocolo No. **59366**

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

...a dos personas muy especiales e importantes que están siempre conmigo, mi padre *Genaro* (†) que es uno de los principales pilares en mi vida y a quien agradezco de corazón todo lo que hizo, hace y seguirá haciendo para sacarme adelante, y a mi hermano *Ricardo el "Helo"* (†) por haberme enseñado tantas cosas y por haber vivido a mi lado infinidad de momentos inolvidables...

...a mi madre *Guadalupe* por el infinito apoyo y paciencia brindados a lo largo de mi vida y por haberme dado junto con mi padre la oportunidad de estudiar una carrera profesional...

...a mis hermanos *Genaro* y *Fabiola* por todos los momentos felices que hemos vivido juntos y por estar siempre a mi lado brindando su apoyo incondicional, tanto en las buenas como en las malas...

...a mi cuñado *Alfredo*, que es como mi tercer hermano, por todos los consejos y buenos momentos que me ha dado...

...a mi cuñada *Lorena* y mis sobrinos *Giovanni*, *Citlalli*, *Aimeé* y *Aarón* por todos los momentos que hemos vivido y viviremos como familia...

...a todos los miembros de la *Familia Torres* y la *Familia Ramírez de Arellano* por todas las experiencias vividas junto a ellos y porque me siento honrado de formar parte de tan grandiosas familias...

...a la *Dra. Ma. Elisa Alonso* y la *Dra. Marisol López* por abrirme las puertas del departamento de genética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, por todas sus enseñanzas y consejos y por darme la oportunidad de laborar con ellas...

...a mi colega y amigo *Jorge Guerrero* por compartir sus conocimientos y consejos durante la realización de este trabajo el cuál no habría sido posible sin su ayuda, y por todos los buenos momentos vividos durante mi estancia en neurología...

...a *Chayo, Adriana, Leticia, Paola, Petra, Conchita, Aurelio y Gabino* por ser mis compañeros y amigos y haber hecho de mi estancia en el laboratorio una de las mejores experiencias en mi vida...

...a *Azucena, Brenda, Carolina, Minerva y Víctor* por haber vivido conmigo todas las risas y momentos de diversión durante estos dos últimos años...

...a mis maestras *María Esther Revuelta, Sandra Díaz y Rosalba Bonilla* por haber despertado en mí el gusto hacia las disciplinas tan hermosas como lo son la bioquímica y la genética, por todo el conocimiento y apoyo brindado durante mi carrera y por darse el tiempo de revisar este trabajo...

...a la *Dra. Gilda Flores* por la asesoría y consejos brindados para la conclusión de mi tesis...

...a mis inseparables amigos *Beto, Gerson, Milton, Edgar, Rubén, Luís, Israel, Adrián, Roxana, Monis, Betsa, Patricia, Anayansin* y a muchos más que no necesito nombrar, por todos esos días y noches llenos de un sin fin de experiencias que durante tantos años hemos compartido, por todo lo que hemos aprendido juntos, por su amistad y confianza, y porque saben que son parte importante de mi vida...

...a mis amigos y compañeros *Darío, Víctor Hugo, Cesar Mejía, Israel, Gilberto, Carlos, Rafael, Cesar Alvarado, Rene, Raúl, Sergio Reyes, Isaac, Sergio Gámez, Víctor Muñoz, Ademir, Alberto, Jairo, Mary, Liliana, Alejandra, Alma, Karla, Leticia, Tania, Erika, Mayra, Vicky, Olivia, Yadira, Maine, Isela, Emma, Gabriela* y a alguien muy importante, *Katy*, por todas las risas y locuras vividas, por las buenas y malas experiencias compartidas, por la gran amistad y confianza que existe entre nosotros y por haber vivido conmigo la inolvidable experiencia que representa la universidad...

...y a la *U.N.A.M.* por haberme dado la oportunidad de crecer y superarme personal y profesionalmente...

Gracias...

ÍNDICE

ÍNDICE

	Página
ABREVIATURAS	I
1. RESUMEN	1
2. GENERALIDADES	
2.1. Antecedentes	2
2.2. Metabolismo de xenobióticos	4
2.2.1. Enzimas Metabolizadoras de Fármacos (EMF)	5
2.2.2. Reacciones de fase I y fase II	7
2.2.3. Regulación de las EMF	9
2.2.4. Inducción Génica	9
2.2.5. Inhibición	10
2.2.6. Polimorfismos genéticos	12
2.3. Citocromo P450	13
2.3.1. Características generales	13
2.3.2. Nomenclatura de los citocromos P450	15
2.3.3. Localización y estructura	17
2.3.4. Función	18
2.3.5. Mecanismos de acción del citocromo P450	21
2.3.6. Importancia de los citocromos P450	24
2.4. CYP2D6	27
2.4.1. Antecedentes	27
2.4.2. Genética molecular	28
2.4.3. Polimorfismos de <i>CYP2D6</i>	29
2.4.4. Diferencias Interétnicas	30
2.4.5. Genotipificación	33
2.4.6. Fenotipificación	34
2.4.7. Inducción e Inhibición	35
2.4.8. Importancia clínica	36
2.5. De la Farmacogenética a la Farmacogenómica	39

2.5.1. Antecedentes	39
2.5.2. Farmacogenómica	39
2.5.3. Proyecto Genoma Humano	40
3. OBJETIVOS	
3.1. General	41
3.2. Particulares	41
4. HIPÓTESIS	42
5. MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1. Muestras Biológicas	43
5.1.1. Muestras de estudio	43
5.1.2. Muestras control	43
5.2. Toma de muestra	44
5.3. Lisis de glóbulos rojos y obtención de leucocitos	44
5.4. Extracción y lavado de DNA por método de sales y fenol-cloroformo	45
5.5. Cuantificación de DNA genómico	46
5.6. Análisis de integridad del DNA cromosómico por electroforesis en gel de agarosa	46
5.7. Amplificación por PCR convencional y genotipificación de <i>CYP2D6*3</i> , <i>CYP2D6*4</i> y <i>CYP2D6*10</i>	47
5.7.1. Restricción enzimática	48
5.8. Amplificación por PCR alelo-específico y genotipificación de <i>CYP2D6*5</i>	50
5.9. Análisis estadístico	52
6. RESULTADOS	
6.1. Análisis electroforético del DNA cromosómico	53
6.2. Análisis espectrofotométrico del DNA cromosómico	53
6.3. Genotipificación de los alelos <i>CYP2D6*3</i> , <i>CYP2D6*4</i> y <i>CYP2D6*10</i>	54
6.4. Genotipificación del alelo <i>CYP2D6*5</i>	54

6.5. Frecuencias genotípicas y alélicas de <i>CYP2D6*3</i> , <i>CYP2D6*4</i> , <i>CYP2D6*5</i> y <i>CYP2D6*10</i>	56
6.6. Análisis estadístico	57
7. DISCUSIÓN	59
8. CONCLUSIONES	62
APÉNDICE	
Secuencia completa del gen <i>CYP2D6</i>	63
GLOSARIO	69
BIBLIOGRAFÍA	74



1. RESUMEN



1. RESUMEN

La población amerindia maya es una de las más representativas de México, por lo que es importante estudiar en ella los diversos marcadores moleculares ya que la composición genética del mexicano posee un 50–60% de componente amerindio (*Collins, 2004*)

El cuerpo humano está expuesto a una gran cantidad de xenobióticos a lo largo de nuestra vida, por lo que ha desarrollado mecanismos enzimáticos para su adecuada eliminación, los cuáles presentan variaciones interétnicas e interindividuales (*Liska, 1998*).

Dentro de la familia del citocromo P450 (CYP450), está el gen *CYP2D6*, ubicado en el locus 22q13.1 y que codifica para la enzima debrisoquina/esparteína 4–hidroxilasa (*Kimura, 1989*). Actualmente se han descrito más de 70 polimorfismos para este gen, entre los que están *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, y *CYP2D6*5*, que originan el fenotipo metabolizador pobre (PM) (*Colombres, 2008*), y *CYP2D6*10* que origina el fenotipo metabolizador intermedio (IM) (*Abraham, 2001*). Ambos fenotipos están asociados con una posible elevación plasmática de los fármacos, incrementando el riesgo de efectos adversos (*Ingelman, 2005*).

El objetivo del presente trabajo fue determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de *CYP2D6*3*, **4*, **5* y **10*, así como la frecuencia de posibles PMs, en 124 individuos de una población maya, y comparar las frecuencias obtenidas con lo reportado para otras poblaciones. La genotipificación de *CYP2D6*3*, **4* y **10* se realizó mediante PCR–RFLP, mientras que para *CYP2D6*5* se utilizó la técnica de PCR–alelo específico.

Se encontraron frecuencias de 4.0%, 11.3%, 2.4% y 9.7% para *CYP2D6*3*, **4*, **5* y **10*, respectivamente. La frecuencia de PMs fue de cero, pero se encontraron dos genotipos que pueden dar lugar a un fenotipo IM, $^{*3}/_{*10}$ y $^{*4}/_{*10}$, cuya frecuencia fue de 7%. Se encontró una diferencia significativa en la frecuencia de *CYP2D6*3* (4.0%) en los mayas estudiados con respecto a población mestizo mexicana (1.4%).

La población maya estudiada presentó un elevado número de heterocigotos compuestos $^{*3}/_{*10}$ y $^{*4}/_{*10}$. Las frecuencias de *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5* y *CYP2D6*10* son diferentes en la población de estudio con respecto a lo reportado en otras poblaciones mexicanas y a nivel mundial.

2. GENERALIDADES

2. GENERALIDADES

2.1. Antecedentes

La composición génica de la población mexicana es bastante heterogénea, estando constituida en poco más del 56% por genes de origen amerindio, un 40% de genes de población caucásica y el resto (4%) son genes de población negra (*Orozco, 2001; Vargas, 2002*). Debido a su gran aporte genético, es necesario realizar estudios sobre los diversos marcadores moleculares en población amerindia, para poder estimar la contribución génica de estos grupos étnicos en la población mestizo mexicana (*Tian, 2007*).

Actualmente en México, los pueblos indígenas se han reducido aproximadamente al 6% del total de la población. A pesar de dicha reducción, hay muchas regiones en donde aún se les encuentra, por ejemplo, Morelos, Puebla, Hidalgo, Guerrero, Oaxaca, Veracruz y Chiapas, entre otros (*Vargas, 2007*). Dichos grupos étnicos fueron reducidos por el ataque de los españoles y las enfermedades que éstos trajeron a México, además del ataque de otras étnias como los aztecas y totonacas (*Gómez, 2003*).

De acuerdo con el INEGI, en 2005 habitaban en México 6 millones de personas de étnias (6.6%), considerando de 5 años de edad en adelante, que hablan alguna lengua indígena, de un total de 90,266,425 habitantes del país. De estos 6 millones, 759,000 individuos (0.8% de la población total) hablan lengua maya (*INEGI, 2008*). Se cree que los mayas aportaron una gran parte del componente genético amerindio, con respecto al resto de las poblaciones amerindias de México (*Tian, 2007*).

Entre los pueblos indígenas se encuentra la población maya, cuya civilización floreció entre los años 1500 A.C. y 1400 D.C. El gran imperio maya ocupaba lo que ahora es la península sureste de México (Chiapas, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo), Guatemala, Belice, Honduras y El Salvador (*Figura 1*) cuando llegaron los invasores españoles en 1523 y en donde, actualmente, aún se encuentran poblaciones que hablan lengua maya (*Robin, 2001; Gómez, 2003*). Posterior a la conquista, la civilización maya se diversificó y mezcló con varias poblaciones (*Tian, 2007*), por lo cual la población maya actual seguramente ya tiene mestizaje.

Los mayas como grupo han mostrado a lo largo del tiempo una extraordinaria cohesión cultural a pesar de la ecología tan diversa y extensa de su territorio, de la gran cantidad de lenguajes y la presencia de grupos hostiles que en el pasado incluyeron a los aztecas del norte, grupos menos sofisticados hacia el sur y, más recientemente, los españoles (*Herrera, 2007*). La gran heterogeneidad geográfica de su territorio incluyendo desiertos, bosques tropicales y tierras nevadas pudieron fungir como barreras que limitaban la interacción con esta región, aunque también existían comunidades mayas que habitaban en las costas del Golfo de México, siendo más vulnerables al ataque de otros grupos, principalmente los totonacas y aztecas (*Vargas, 2006*). La integridad de los mayas como grupo es evidente hoy en día por la gran correlación entre la familia de lenguajes y su cultura, situación que será sometida a verificación (*Herrera, 2007*).

Se ha observado relación entre los amerindios mayas y poblaciones caucásicas, orientales, africanas y, en mayor relación, con población mesoamericana y sudamericana, que puede ser resultado de la mezcla de los mayas con poblaciones europeas (*López, 2004*).



Figura 1. Territorio que ocupaba la civilización maya antes de la llegada de los españoles.

(Tomada y modificada de *Gómez, 2003*)

2.2. Metabolismo de xenobióticos

A lo largo de la evolución, el cuerpo humano ha estado expuesto de forma continua e inevitable a sustancias químicas extrañas que están presentes en su entorno y que son susceptibles de acceder a su interior; para protegerse del libre acceso de estos compuestos, el cuerpo humano interpone una serie de barreras físicas, químicas y biológicas. Sin embargo, un número indeterminado de éstos compuestos es capaz de superar dichos mecanismos de defensa y penetrar en el organismo produciendo efectos de diversa índole (*Lewis, 2004*). Una capacidad singular que el ser humano ha adquirido en el transcurso de la evolución, es la de metabolizar estos compuestos extraños, sin relevancia para su metabolismo energético, y facilitar su eliminación del organismo (*Donato, 2003*).

Estos compuestos, denominados xenobióticos, se encuentran presentes en los alimentos y en el ambiente, con lo que inevitablemente entramos en contacto con ellos. Pueden acceder al organismo mediante ingestión, inhalación, por vía parenteral o a través de la piel, entre los que se incluyen fármacos, cosméticos, aditivos de alimentos, pesticidas, productos de uso doméstico, derivados de la combustión de carburantes, residuos procedentes de la industria química, etc (*Donato, 2003*). Dichos compuestos suelen ser de naturaleza lipofílica, por lo que pueden atravesar fácilmente las membranas biológicas, acceder al interior de las células y acumularse en los entornos lipídicos de la misma, dificultando su eliminación, lo que puede desencadenar fenómenos de toxicidad (*Lewis, 2004*).

Los xenobióticos no son utilizados como nutrimentos, por lo que no se incorporan a las rutas bioquímicas del metabolismo intermediario y no son degradados a través de éstas vías metabólicas (*Donato, 2003*). En consecuencia, el cuerpo humano ha desarrollado sistemas alternativos para acelerar la eliminación de estos compuestos. Se trata de un grupo de enzimas que no forman parte del metabolismo energético o intermediario del organismo, se les denomina enzimas metabolizadoras de fármacos (del inglés *Drug Metabolizing Enzymes*) y su función es la de convertir los xenobióticos lipofílicos en moléculas más hidrosolubles, facilitando así su eliminación, mediante un proceso llamado *biotransformación* (*Lewis, 2004*).

2.2.1. Enzimas Metabolizadoras de Fármacos (EMF)

Desde el punto de vista evolutivo, las enzimas metabolizadoras de fármacos (EMF) son muy antiguas, algunas de ellas existían desde antes de que ocurriera la divergencia entre las eubacterias y los eucariontes, sugiriendo que estas enzimas eran responsables de funciones vitales tales como del balance electrolítico y la división celular, mucho antes de la divergencia entre plantas y animales (*Cervantes, 1997*).

Durante varias décadas las EMF fueron descritas como sistemas hepáticos de destoxificación, responsables de la degradación de fármacos y otros contaminantes ambientales para facilitar su excreción (*Cervantes, 1997*). Sin embargo, no son exclusivas del hígado, sino que están ampliamente distribuidas en el organismo. El hígado contribuye de forma mayoritaria a la eliminación de los xenobióticos lipófilos, le siguen en importancia el intestino, pulmones, piel y riñón (*Donato, 2003*).

En general, las EMF protegen o defienden el cuerpo contra agentes potencialmente dañinos del ambiente, además de metabolizar gran variedad de sustancias endógenas, como esteroides, ácidos biliares, ácidos grasos, prostaglandinas y aminas biogénicas, entre otras (*López, 2004*).

El papel de estas enzimas es clave para la supervivencia celular, de no existir tales vías metabólicas una vez en el interior del organismo los xenobióticos tenderían a acumularse alterando el equilibrio celular y provocando alteraciones funcionales e incluso muerte celular (*López, 2004*).

El conjunto de procesos enzimáticos a los que son sometidos los xenobióticos una vez dentro del organismo son conocidos como reacciones de biotransformación o metabolización de xenobióticos (*Cervantes, 1997*). Estas reacciones consisten en modificar de manera más o menos compleja la estructura química de los xenobióticos con la finalidad de aumentar su hidrosolubilidad, facilitando su eliminación (*Figura 2*) (*Donato, 2003*).

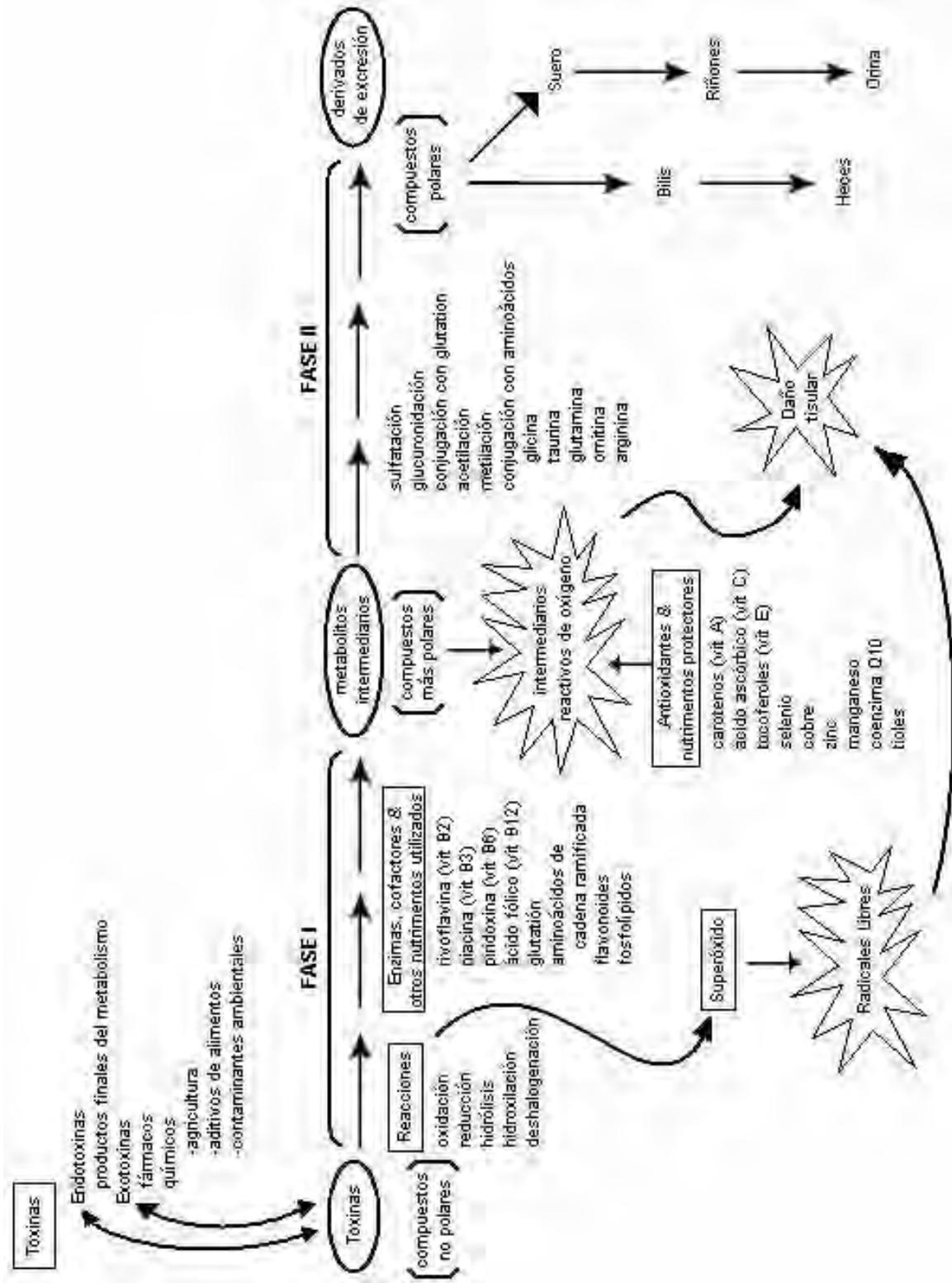


Figura 2. Biotransformación de xenobióticos. (Tomada y modificada de Liska, 1998)

2.2.2. Reacciones de fase I y fase II

En 1947 Williams R.T. propuso que los procesos de biotransformación se agrupan en dos fases o etapas: reacciones de fase I y reacciones de fase II, que dependen de distintos procesos bioquímicos (Liska, 1998).

Las reacciones de fase I, también llamadas reacciones de funcionalización, consisten en reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis, cuyo resultado es la modificación química de los xenobióticos con la aparición de nuevos grupos funcionales de carácter polar (-OH, -NH₂, -SH, o -COOH) (Figura 3), que van a aumentar su hidrosolubilidad y que regularmente culminan en la pérdida de la actividad farmacológica. La mayoría de los fármacos se metabolizan por esta vía (Liska, 1998).

En las reacciones de fase II, o de conjugación, los metabolitos generados por las reacciones de fase I, se unen covalentemente con moléculas endógenas de carácter polar para formar productos de conjugación que son rápidamente excretados debido al considerable aumento de la hidrosolubilidad. Entre estas reacciones están la glucuronidación, sulfatación, acetilación, metilación, conjugación con glutatión y conjugación con aminoácidos (Figura 3) (Liska, 1998).



Figura 3. Reacciones de fase I y fase II involucradas en el metabolismo de fármacos y xenobióticos.

(Tomada y modificada de *Citocromo P450*)

En estas reacciones de biotransformación, cofactores específicos reaccionan con grupos funcionales presentes en los xenobióticos, o que son inducidos o expuestos durante las reacciones de fase I (*Liska, 1998*). Sin embargo, no todos los xenobióticos necesariamente sufren un proceso de fase I seguido de uno de fase II. El principal objetivo de la biotransformación es modificar la hidrofobicidad de un compuesto de manera que facilite su eliminación y, en ocasiones, tal objetivo se alcanza únicamente con reacciones de fase I o fase II (*Donato, 2003*).

La primera opción de la célula es que un fármaco sólo sufra reacciones de conjugación, porque son seguidas de una fácil eliminación. Sólo cuando el compuesto carece de grupos funcionales necesarios a través de los cuáles pueda conjugarse, sufrirá también reacciones de funcionalización (*Liska, 1998*). El porcentaje de fármacos metabolizados por las enzimas de fase I y fase II se muestra en la *Figura 4*.

Dentro de la célula gran parte de la actividad de biotransformación reside en el retículo endoplásmico liso (REL), citosol y en menor cantidad en mitocondrias, cubierta nuclear, membrana plasmática y lisosomas (*Liska, 1998*).

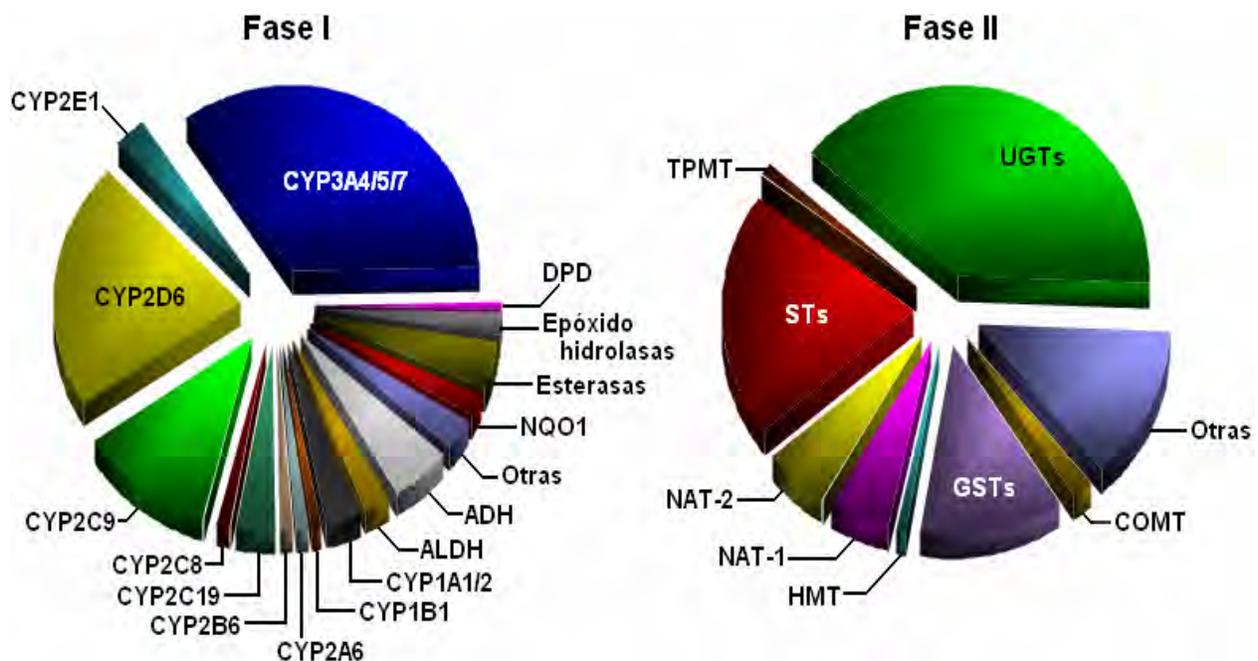


Figura 4. Enzimas metabolizadoras de fase I y fase II. El porcentaje de fármacos metabolizados por cada enzima es estimado por el tamaño de cada sección correspondiente del gráfico. (Tomada y modificada de *Evans, 1999*)

2.2.3. Regulación de las EMF

Desde que el sistema de detoxificación interviene en el manejo de compuestos exógenos, el cuerpo ha desarrollado varios mecanismos para regular esta actividad (Vargas, 2007). Las vías de detoxificación específicas pueden ser inducidas o inhibidas dependiendo de la presencia de los diferentes compuestos y xenobióticos (Liska, 1998).

Los diversos factores que afectan la expresión y la actividad de las EMF se dividen en tres grupos:

1. Factores genéticos: polimorfismos, factores multigénicos, errores congénitos.
2. Factores endógenos: edad, género, regulación hormonal, enfermedades.
3. Factores ambientales: contaminación, consumo de tabaco y alcohol, dieta, exposición a agentes químicos, uso de fármacos.

La actividad de las EMF va a estar determinada por la interrelación de todos estos factores y, en consecuencia, sus niveles van a variar entre individuos. Debido a esto es que se observa gran variabilidad en la respuesta farmacológica y en la susceptibilidad a los efectos de diversos agentes tóxicos (Liska, 1998).

2.2.4. Inducción Génica

El material genético de todas las células del organismo es idéntico, lo que las hace diferentes entre sí es el patrón de genes que se expresan en cada célula (Strachan, 1999). Se denominan *genes constitutivos* a los que codifican enzimas involucradas en el metabolismo básico de todas las células. Los productos génicos que incrementan su concentración bajo ciertas circunstancias son referidos como inducibles, y al incremento en la expresión de sus genes se le denomina *inducción* (Lehninger, 1993). Este es el caso de los genes que codifican las EMF. Cuando el cuerpo es expuesto a una alta carga de fármaco o xenobiótico, aumenta la expresión de estos genes y, en consecuencia, la concentración enzimática. Dicha inducción

puede ser monofuncional (afecta solo una enzima o fase de detoxificación) o multifuncional (afecta múltiples procesos) (Figura 5) (Liska, 1998).

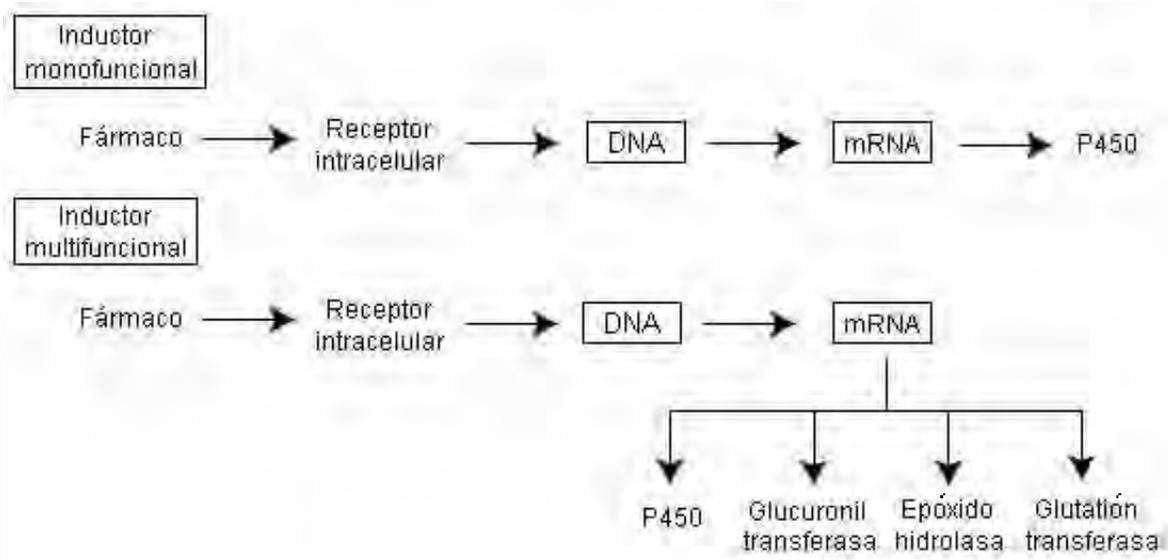


Figura 5. Inducción de las diversas vías de metabolización de fármacos, en base al tipo de inductor presente en el organismo. (Tomada y modificada de Liska, 1998)

La inducción de enzimas de fase I sin una co-inducción de enzimas de fase II, puede provocar un elevado nivel de intermediarios reactivos que pueden causar daño al DNA, RNA y proteínas (Mancinelli, 2000). Debido a su papel en la activación de procarcinógenos y mutagénicos el citocromo P450 es de gran interés clínico (Hesham, 2005).

Entre los inductores multifuncionales están los flavonoides presentes en diversas frutas y verduras. El aceite de ajo, la soya y la col de Bruselas han mostrado inducción en algunas enzimas de fase II mientras decrece la actividad en fase I (Liska, 1998). Comúnmente, la glutatión S-transferasa y glucuronil transferasa son inducidas por inductores multifuncionales. En general, este incremento en la fase II ayuda a la detoxificación del organismo y mantiene un balance adecuado entre las fases I y II (Gaikovitch, 2003).

2.2.5. Inhibición

La inhibición de la actividad de las enzimas involucradas en los procesos de biotransformación ocasiona un aumento en la concentración de los xenobióticos, prolongación

de sus efectos y mayor incidencia de efectos tóxicos. Dicha inhibición puede ocurrir de diversas maneras y provocar la disminución del nivel enzimático dentro del organismo, o bien, disminuir la actividad de la enzima (Figura 6) (Gaikovitch, 2003).

Inhibición de la biotransformación



Figura 6. Mecanismos de inhibición de la biotransformación.
(Tomada y modificada de *Citocromo P450*)

La inhibición enzimática puede ser competitiva, no competitiva o irreversible. La inhibición competitiva es resultado de la competencia de dos sustratos por la unión al mismo sitio de la enzima, disminuyendo el metabolismo de uno de éstos, con base en las concentraciones relativas de cada sustrato y la afinidad de la enzima por éstos (Donato, 2003). La inhibición no competitiva se da por la unión del inhibidor a un sitio diferente del sitio al cual se une el sustrato, o por su unión al complejo enzima sustrato. Mientras que la inhibición irreversible se produce cuando un intermediario reactivo se une covalentemente al grupo prostético u otro segmento de la enzima. Los sustratos que median la inhibición irreversible también se les conoce como inhibidores suicidas (Lin, 1998). En la *Tabla 1* se muestran algunos inductores e inhibidores.

Tabla 1. Ejemplos de algunos fármacos inductores e inhibidores de enzimas metabolizadoras.

Enzima	Inductores	Inhibidores
CYP1A2	Hidrocarburos aromáticos Nicotina Omeprazol Primidona Rifampicina	Eritromicina Cimetidina Ciprofloxacina Ritonavir
CYP2B6	Fenobarbital	Anastrozol
CYP2C9	Tolbutamida Rifampicina	Disulfiram Metronidazol Sulfametoxazol Sulfonamidas
CYP2C19	Barbitúricos Rifampicina	Felbamato Tolbutamida
CYP2D6	No inducible	Amitriptilina Fluoxetina Haloperidol Ranitidina Quinidina
CYP2E1	Etanol Isoniazida	Dietiltiocarbamato Disulfiram
CYP3A4	Carbamacepina Dexametasona Fenitoína Fenobarbital	Eritromicina Jugo de toronja Ketoconazol Ranitidina

(Tomada de Park, 1996; Liska, 1998; D'Hebron, 1999)

2.2.6. Polimorfismos genéticos

Los polimorfismos son variantes en la secuencia de DNA que pueden ir desde el cambio de un solo nucleótido, hasta una secuencia grande de nucleótidos que puede ser visible a nivel cromosómico. Dichos polimorfismos se expresan en una población en al menos dos fenotipos distintos, donde el más raro de ellos se presenta con una frecuencia mayor al 1% (*MeSH Polymorphism, 2000*).

Las diferencias genéticas en la habilidad de un individuo para metabolizar xenobióticos están relacionadas con la presencia de polimorfismos presentes en el gen que codifica la enzima encargada de dicha actividad. Existe un número variable de polimorfismos genéticos

para cada una de las EMF de fase I y fase II. Estos polimorfismos pueden provocar variaciones en la tasa de biotransformación de los xenobióticos, generando así diferentes fenotipos. Se pueden presentar fenotipos metabolizadores con actividad enzimática nula, reducida o aumentada.

2.3. Citocromo P450

2.3.1. Características generales

Los primeros conocimientos sobre el citocromo P450 se remontan a estudios realizados por diversos grupos en los años 50 a partir de tejido hepático de mamíferos (*Omura, 1964*). En 1964 se identificó la naturaleza hemoprotéica de un pigmento que es el componente de una cadena transportadora de electrones presente en los hepatocitos de conejos y ratones, capaz de unirse al monóxido de carbono después de ser reducido por NADPH. Esta proteína recibió el nombre de citocromo P450 y su función catalítica pronto despertó un considerable interés entre la comunidad científica (*Omura, 1964*). En un principio los resultados obtenidos en diferentes laboratorios no coincidían y se creó cierta confusión con respecto a las funciones y características del citocromo P450. Esto fue aclarado cuando se comprobó que existían varios tipos de moléculas de citocromos P450, incluso en individuos de una misma especie (*King, 1973*).

El nombre de citocromo P450 proviene de la característica de esta hemoproteína, en como el monóxido de carbono puede unirse al ión ferroso (Fe^{2+} , forma reducida de la hemoproteína) para formar un complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-CO}$, produciendo un cambio en el máximo de absorbancia del grupo hemo (banda de Soret) a 450nm (*Figura 7*). Este máximo de absorbancia del P450 es utilizado para su cuantificación espectrofotométrica. Esta propiedad fue la que dio nombre a las enzimas P450 (*P* es de pigmento) (*Omura, 1964*). El grupo tiol de la cisteína ligado al átomo de hierro es el responsable de la banda de Soret. En el resto de las hemoproteínas, en las que la histidina actúa como ligando, el máximo de absorción aparece a 420nm. El CO se une con gran afinidad e impide la unión y la activación del oxígeno molecular (O_2), lo que inhibe de forma reversible la actividad del P450. Existen otros ligandos capaces de

inducir cambios de absorbancia en la banda de Soret, lo que permite el análisis por espectrofotometría de la unión de otros compuestos (King, 1973).

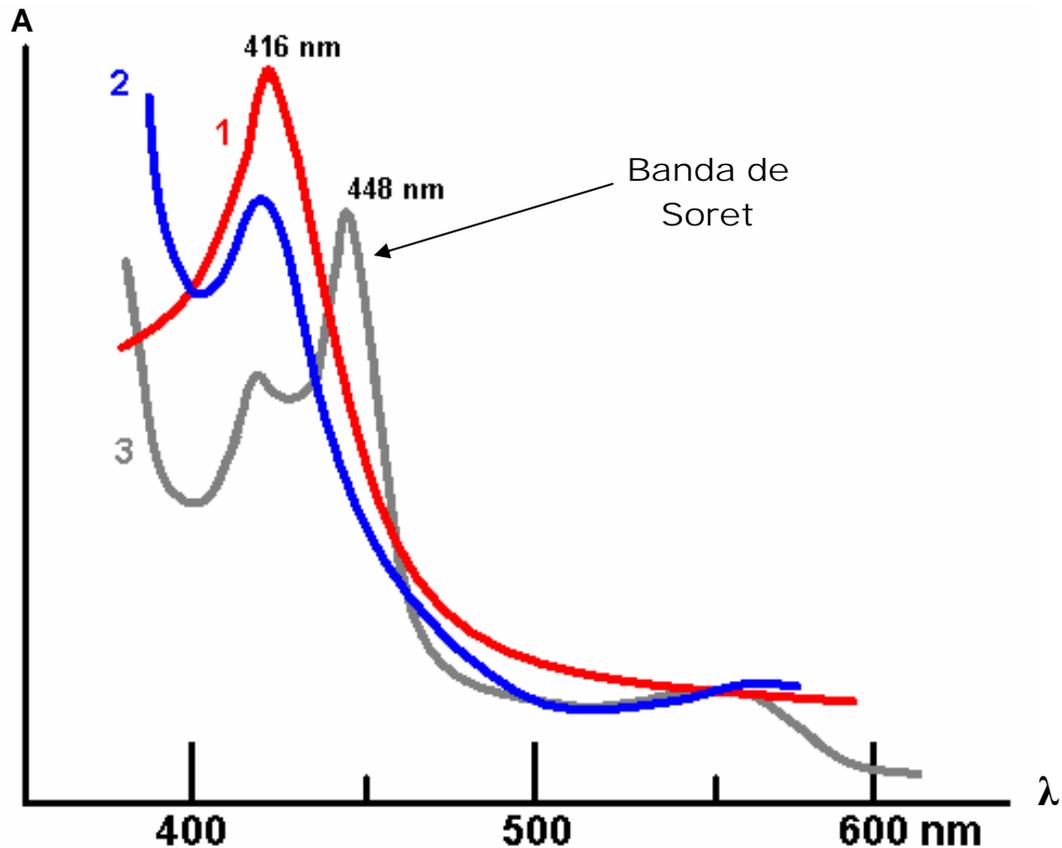


Figura 7. Espectro de absorción del 1) citocromo P450 de mitocondria Fe(III); 2) de Fe(II) y 3) complejo citocromo P450-Fe(II)-CO. (Tomada y modificada de *Citocromo P450*)

La familia del citocromo P450, que pertenece a la superfamilia de monooxigenasas, representa el grupo de isoenzimas más importante del metabolismo de fase I y metabolizan la mayor parte de pesticidas, solventes y fármacos, así como sustancias endógenas como colesterol, ácidos biliares, vitaminas liposolubles, esteroides y ácidos grasos. Pero también son las principales responsables de la activación de procarcinógenos y promutágenos (Liska, 1998). Esto es particularmente importante para fármacos lipofílicos, como los que actúan a nivel de sistema nervioso, que deben ser de naturaleza lipofílica para poder penetrar la barrera hematoencefálica. Como la excreción renal es mínima para estos compuestos, el citocromo P450 provee los principales medios para su adecuada eliminación (Mancinelli, 2000).

Las isoenzimas del citocromo P450 están localizadas en el retículo endoplásmico liso y se expresan principalmente en el hígado. Sin embargo, estas isoenzimas también están presentes en otros órganos como intestino, piel, pulmón, riñón y cerebro (*Abraham, 2001*). La familia CYP450 está compuesta por subfamilias de enzimas, que están definidas en base a la similitud de su secuencia de aminoácidos. La secuencia de una proteína del citocromo P450 de una subfamilia en particular, tendrá hasta un 40% de similitud con una proteína P450 de otra subfamilia. Las isoenzimas dentro de una misma subfamilia siempre comparten más del 55% de similitud en su secuencia (*Ingelman, 2005*).

2.3.2. Nomenclatura de los citocromos P450

Inicialmente, las enzimas del citocromo P450 se nombraban en función de la reacción que catalizaban, lo que provocó que un mismo citocromo P450 recibiera nombres diferentes por cada uno de los investigadores que lo habían caracterizado (*Abraham, 2001*). Debido a la gran diversidad de los citocromos que se conocía a finales de los 80's, fue necesario desarrollar un sistema de nomenclatura internacional que obedece a criterios filogenéticos y se basa en la similitud de la secuencia de aminoácidos de las enzimas. Este sistema fue establecido en 1987 y es el que se utiliza actualmente. En base a este criterio, los citocromos P450 se han categorizado en familias y subfamilias (*Van der Weide, 1999*).

Las familias se identifican con las siglas CYP por la abreviación *cytochrome P450*, seguido de un número arábigo que identifica a la familia, una letra mayúscula que identifica a la subfamilia, un segundo número arábigo que corresponde a los genes individuales que codifican para una isoenzima específica (*Abraham, 2001*). Para nombrar los diferentes alelos se utilizan números arábigos o una combinación de éstos con una letra mayúscula; el gen y el alelo van separados por un asterisco (*Figura 8*) (*Van der Weide, 1999; Abraham, 2001*).

Dentro de las familias se pueden encontrar más de una subfamilia, y se denominan correlativamente empezando por la letra A, teniendo como requisito para pertenecer a una misma subfamilia que exista un mínimo de 55% de homología en su secuencia. Las enzimas individuales o isoenzimas se designan en números arábigos comenzando con el 1, teniendo en cuenta que dos enzimas P450 se consideran diferentes siempre y cuando sus respectivas secuencias difieran en más de 3% (*Van der Weide, 1999*).

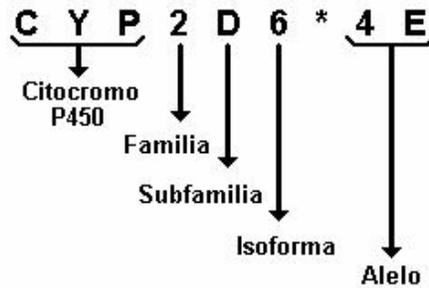


Figura 8. Nomenclatura de los citocromos P450.
(Tomada de *Van der Weide, 1999*)

La información obtenida tras el análisis de homología de los genes que codifican los citocromos P450 en diferentes especies ha permitido la generación y evolución de las relaciones que puedan existir entre ellos (*Van der Weide, 1999*). En 1987 se realizó la primera clasificación de la familia P450, en donde se describieron 30 genes agrupados en 10 familias. Actualmente, el número de citocromos asciende a más de 700, incluidos en numerosas especies (bacterias, hongos, plantas, insectos, nemátodos, peces, aves, mamíferos) (*Nelson, 1999*). En el hombre se han secuenciado 57 genes activos y 58 pseudogenes pertenecientes a 18 familias y 49 subfamilias (*Figura 9*). Los pseudogenes son genes defectuosos que no originan proteínas funcionales y que se consideran como una reminiscencia de duplicaciones de genes en los que una de las copias ha degenerado y perdido su función (*Nelson, 1999; McKinnon, 2000*).

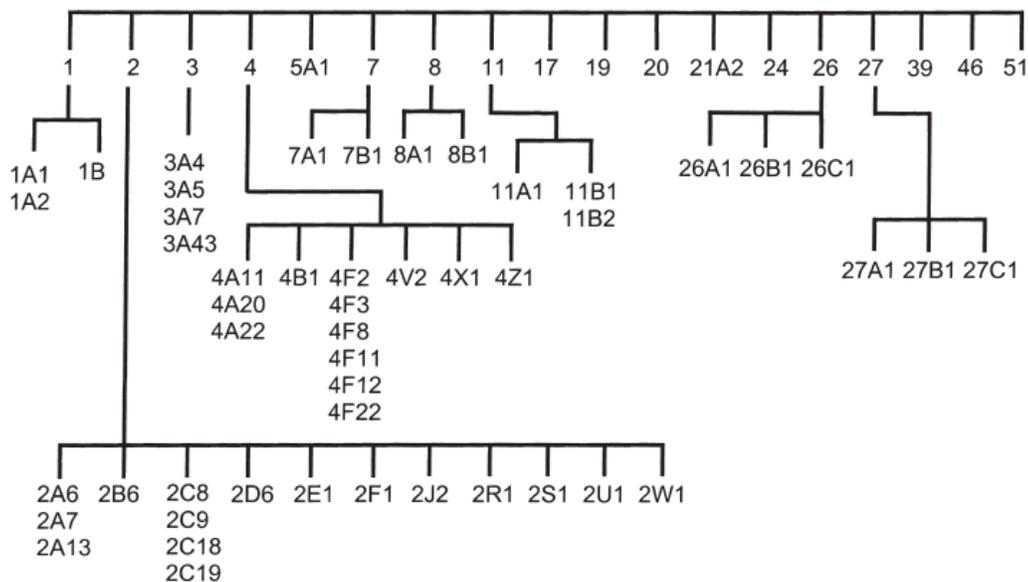


Figura 9. Familias, subfamilias e isoenzimas P450 identificadas en la especie humana.
(Tomada de *Citocromo P450*)

2.3.3. Localización y estructura

En los mamíferos los citocromos P450 generalmente se encuentran en el retículo endoplásmico liso y no en la mitocondria (Omura, 1964; King, 1973). Los P450 son hemoproteínas catalíticas, cuyo sitio activo no presenta variaciones significativas, con uniones del hierro al grupo hemo en el plano ecuatorial, a un grupo tiol de un residuo de cisteína (cerca del extremo carboxi-terminal) en la posición uno de coordinación y a una molécula de agua en la segunda posición del eje axial, en un entorno hexacoordinado (Figura 10) (Omura, 1999; Berman, 2000; Werck, 2001).

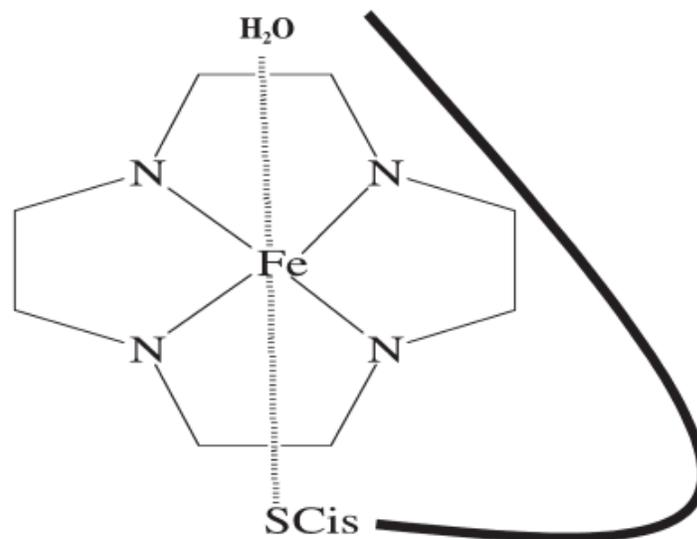


Figura 10. Estructura molecular del grupo hemo del citocromo P450.
(Tomada de *Citocromo P450*)

En general los citocromos P450 de eucariotas están formados por 400–500 aminoácidos de los cuales cerca del 55% son de naturaleza no polar, tienen un peso molecular que oscila entre 50 y 60 kilo daltones (kDa). La similitud en la secuencia de aminoácidos entre los diferentes citocromos P450 es relativamente baja, en algunos casos menos del 20% (Berman, 2000). 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; el menor grado de conservación corresponde a las secuencias intermedias. El 30% de identidad de la secuencia en la zona intermedia puede considerarse como significativa, mientras que el 50% de homología en la región C-terminal puede considerarse como baja (Berman, 2000). A pesar de ello, los estudios de cristalización de P450 han permitido

comprobar que existe una elevada conservación en su topografía y estructura tridimensional (Omura, 1999). En general, la molécula está constituida por una combinación de catorce α -hélices y cinco hojas- β plegadas antiparalelas que rodean el grupo hemo (centro catalítico) situado en un ambiente hidrofóbico, conformado por el átomo de hierro hexacoordinado con los cuatro anillos de la protoporfirina, el grupo tiol de cisteína de la cadena polipeptídica y seis moléculas de agua (Berman, 2000; Werck, 2001).

Las regiones más variables del citocromo son las que constituyen los lugares de anclaje a la membrana o de unión y reconocimiento de sustratos (Graham, 1999). La alta conservación de la región del grupo hemo, refleja un mecanismo común de transferencia de electrones y de protones, y una activación de oxígeno. La enzima permanece anclada a la membrana a través de una hélice hidrofóbica cercana al extremo N-terminal, por lo que la mayor parte de la enzima se sitúa en la cara citosólica de la membrana (Williams, 2000). Esta hélice transmembranal está seguida por una serie de aminoácidos básicos cuyos residuos interaccionan con las cargas negativas de los lípidos de membrana (Chapple, 1998).

2.3.4. Función

El sistema P450 presenta una enorme versatilidad funcional que se refleja tanto en la gran variedad de procesos que puede catalizar, como en el elevado número de xenobióticos y compuestos de naturaleza endógena que es capaz de metabolizar, entre los que se incluyen moléculas de amplio peso molecular tanto aromáticas como globulares (Bertilsson, 1992). Esta amplia especificidad de sustratos es debida a la existencia de múltiples formas de la enzima, cada una de las cuales se ha adaptado para el metabolismo de grupos de compuestos relacionados estructuralmente (Matsunaga, 1999). Aunque la principal función del citocromo P450 es participar en reacciones de detoxificación transformando un compuesto farmacológicamente activo en inactivo para ser excretado por orina, también participa en procesos de activación metabólica (Figura 11), de manera que compuestos inertes y poco reactivos son convertidos en otros de gran reactividad química que son tóxicos para el organismo (Bertilsson, 1992; Orellana, 2004).

El citocromo P450 cataliza una amplia variedad de reacciones, incluyendo epoxidaciones, desaminaciones, desulfuraciones, N-, S- y O-desalquilaciones, N- y

S-oxidaciones, deshalogenaciones, deshidroxidaciones e hidroxilaciones y, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en el tejido, reacciones de reducción (*Chapple, 1998; Orellana, 2004*). Todas estas reacciones son esteroespecíficas y tienen lugar a temperatura fisiológica (*Orellana, 2004*).

La mayoría de las reacciones catalizadas requieren de un paso inicial, que involucra la inserción de un grupo hidroxilo en el sustrato para formar un intermediario hidroxilado el cuál puede, de acuerdo a la naturaleza del sustrato y la estabilidad del intermediario, sufrir posteriores reacciones de desalquilación, desaminación, etc (*Orellana, 2003*). La reacción general catalizada por el citocromo P450 es:



El citocromo depende totalmente de los cofactores NADPH y O₂ para la catálisis de la monooxigenación en la que uno de los átomos de oxígeno es incorporado en la molécula del sustrato, mientras que el otro es reducido en agua (*Orellana, 2003*). Esta familia requiere de electrones para poder reducir el oxígeno molecular, salvo en algunas ocasiones donde la enzima utiliza peróxidos en lugar de oxígeno (*Bertilsson, 1992*).

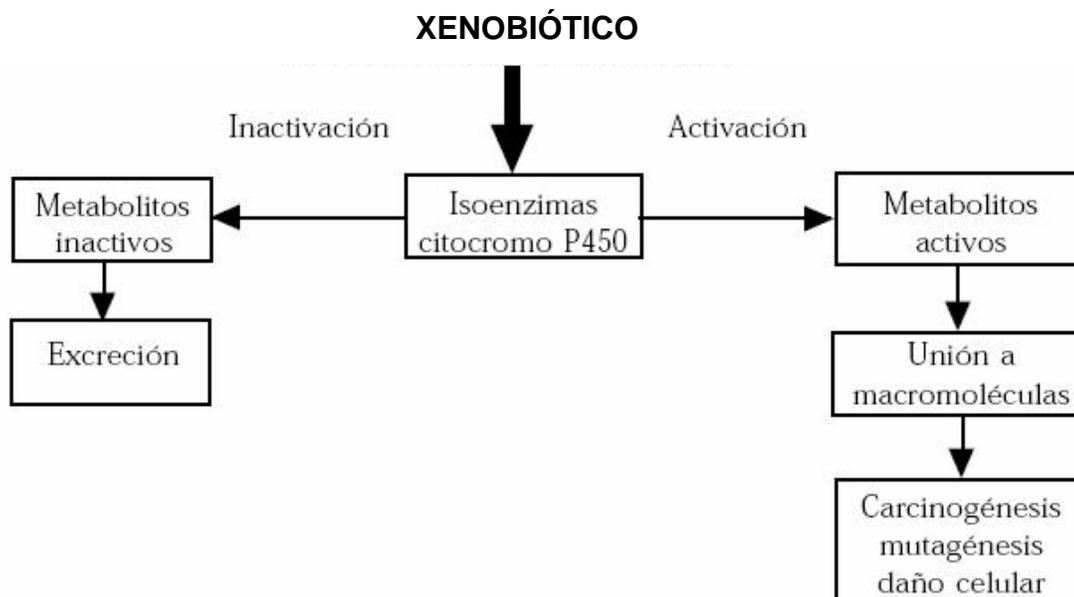


Figura 11. Reacciones de activación e inactivación mediadas por enzimas del citocromo P450. (Tomada de *Orellana, 2004*)

La familia P450 puede clasificarse en cuatro clases en función de cómo acceden los electrones desde el NADPH hasta el centro catalítico de la enzima (*Werck, 2001*):

- Hemoproteínas clase I: utilizan una reductasa que contiene FAD y una ferrosulfoproteína (ferredoxina).
- Hemoproteínas clase II: usan una cadena de transferencia de electrones más corta y sólo necesitan una reductasa del citocromo P450 que contiene FAD/FMN para la transferencia de electrones, donde el FAD sirve como aceptor de electrones del NADPH, mientras que el FMN interacciona y reduce al P450.
- Hemoproteínas clase III: son autosuficientes y no requieren un donador de electrones.
- Hemoproteínas clase IV: reciben los electrones directamente del NADPH.

En los organismos eucariontes los citocromos P450 de clase I se encuentran asociados a la membrana interna de la mitocondria y catalizan diversos pasos de la biosíntesis de hormonas esteroideas y vitamina D₃ (*Chapple, 1998*). Las enzimas de clase II son las más abundantes en los eucariontes (*Werck, 2001*). Los citocromos P450 y las NADPH–citocromo P450 reductasas no están asociados y ambos están anclados de forma independiente en la cara externa de la membrana del retículo endoplásmico liso mediante la región hidrofóbica del extremo amino-terminal (*Figura 12*) (*Berman, 2000*). La actividad de algunos P450 se ve favorecida por la presencia del citocromo b₅ que facilita la transferencia de electrones desde el NADPH (*Werck, 2001*).

Además de sus funciones biosintéticas, los citocromos P450 de clase I y clase II participan en el metabolismo de xenobióticos. Se trata de enzimas de gran trascendencia desde el punto de vista farmacológico y toxicológico (*Honkakoski, 2000*). Son responsables del metabolismo de fármacos y de los procesos de detoxificación. No obstante, en ocasiones participan en procesos de activación contribuyendo a la aparición de fenómenos tóxicos o de carcinogénesis (*Ortiz de Montellano, 2002*).

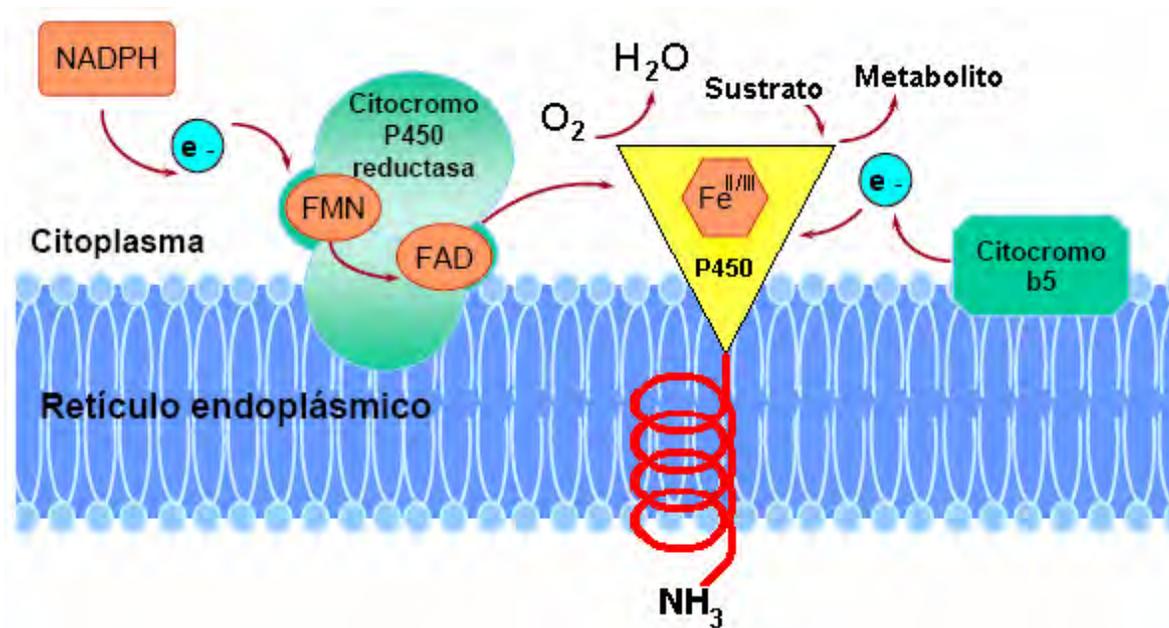


Figura 12. Localización del citocromo P450. Se muestra el aporte de electrones del NADPH al citocromo para la activación del oxígeno a través de la citocromo P450 reductasa. Esta última está insertada en la membrana del retículo endoplásmico, al igual que el citocromo b5. (Tomada y modificada de *Citocromo P450*)

Los citocromos P-450 de clase III participan en la síntesis de prostaglandinas en mamíferos, mientras que el P450 de clase IV sólo se ha identificado en hongos (*Honkakoski, 2000*). Ambas clases de enzimas se podrían considerar como las formas más ancestrales de citocromos P450 que participan en la detoxificación de especies activadas de oxígeno (*Mansuy, 1998*).

2.3.5. Mecanismo de acción del citocromo P450

El primer paso del proceso catalítico consiste en la unión del sustrato al sitio activo de la enzima, muy cerca del grupo hemo (*Ortiz de Montellano, 2002*). La unión del sustrato induce un cambio en la conformación del sitio activo, desplazando una molécula de agua de la sexta posición de coordinación del átomo de hierro (posición axial distal) (*Schlichting, 2000*). Como consecuencia se originan cambios en el estado de *spin* del hierro, en el potencial redox y en el máximo de absorbancia de la hemoproteína (*Paso 1 de la Figura 13*) (*Sligar, 1979; Meunier, 2004*).

En el segundo paso se favorece la adición de un electrón por parte de NADPH, debido al cambio del estado electrónico del sitio activo. Esto produce la reducción del complejo sustrato-hemoproteína al estado ferroso (Fe^{3+} a Fe^{2+}) (*Paso 2 de la Figura 13*). El Fe^{2+} tiene una menor afinidad en el eje axial, lo que provoca una desestabilización del sitio activo (*Poulos, 1987*). Esto provoca el ataque nucleofílico del oxígeno molecular que desplaza al ligando de agua, ocupando su posición de coordinación, dando lugar a la formación de un complejo superóxido (*Paso 3 de la Figura 13*) (*Ortiz de Montellano, 2002*).

En el cuarto paso se produce el aporte de un segundo electrón, por vía del sistema de transporte de electrones ya sea por la citocromo P450 reductasa, las ferredoxinas o el citocromo b5, con la formación de una especie de oxígeno cargada negativamente (grupo peroxo). Este es un grupo oxidante electrofílico de vida muy corta (*Paso 4 de la Figura 13*) (*Schlichting, 2000*).

El grupo peroxo formado en el paso anterior es rápidamente protonado por transferencia local de dos H^+ de las cadenas polipeptídicas laterales, liberando uno de los átomos de oxígeno en forma de una molécula de agua y la incorporación del otro oxígeno en el sustrato (*Schlichting, 2000*). Formando una especie altamente reactiva de Fe^{V} -oxo (*Paso 5 de la Figura 13*) (*Ortiz de Montellano, 2002*).

Dependiendo del sustrato y la enzima involucrados, las P450 pueden catalizar una gran variedad de reacciones. La más común es la hidroxilación (*Schlichting, 2000*). Cuando el metabolito se libera del sitio activo, la enzima regresa a su estado original, con una molécula de agua regresando a ocupar su lugar en la posición distal de coordinación del núcleo de hierro (*Paso 6 de la Figura 13*) (*Poulos, 1987*).

Existe una ruta alternativa para la monooxigenación, esto es la interacción con especies donadoras de oxígeno tales como peróxidos e hipocloritos, que llevan directamente a la formación del intermediario Fe^{V} -oxo, permitiendo que el ciclo catalítico concluya más rápidamente (*Paso S de la Figura 13*) (*Poulos, 1987*).

Si el monóxido de carbono (CO) se une al citocromo P450 reducido, el ciclo catalítico se interrumpe. Esta reacción conduce al espectro clásico con máximo de absorbancia a 450nm (*Paso C de la Figura 13*) (*Poulos, 1987*).

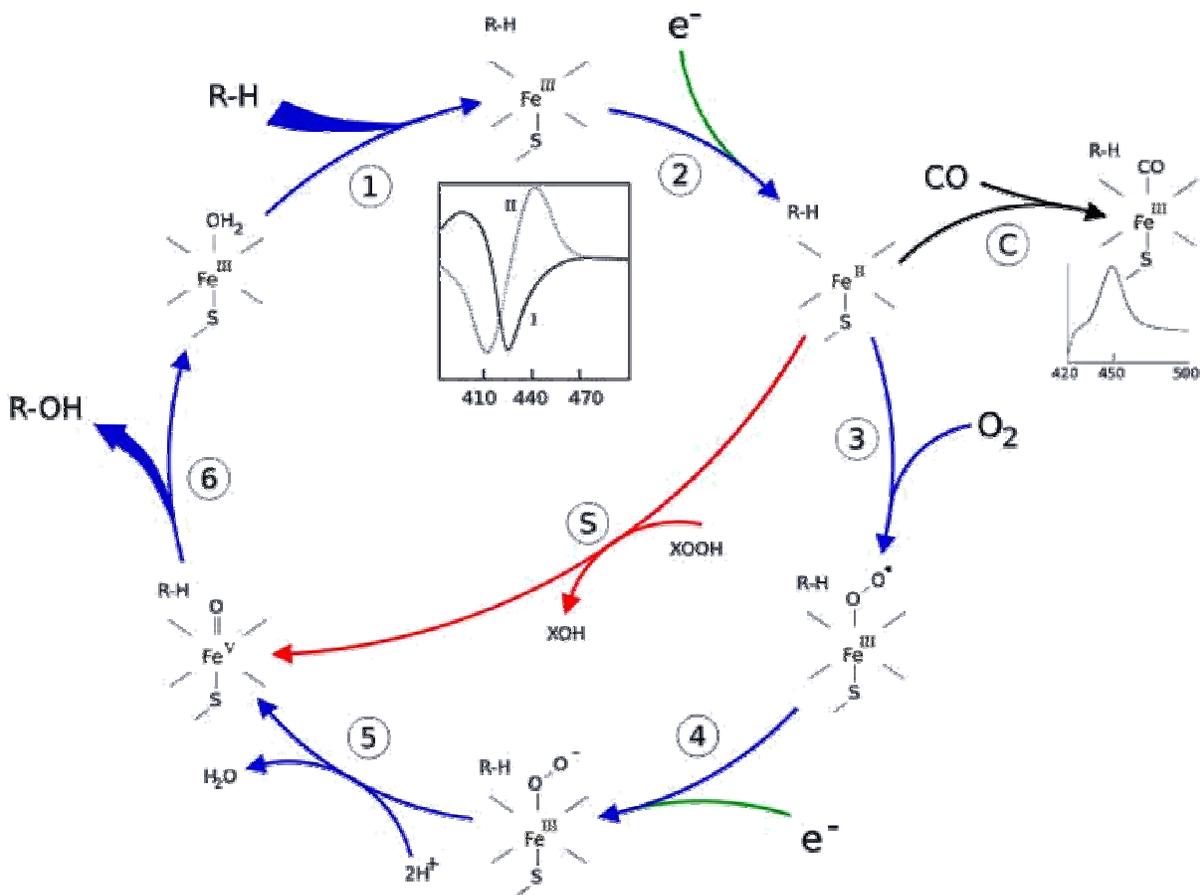


Figura 13. Ciclo catalítico del citocromo P450.

(Tomada de *Cytochrome P450*)

El desacoplamiento del ciclo catalítico del P450 se produce cuando los electrones del cofactor NADPH son consumidos sin formación de metabolitos oxidados (Poulos, 1987; Schlichting, 2000). Esto ocurre cuando:

- El intermediario $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$ se auto oxida liberando anión superóxido y regenerando la enzima en estado férrico.
- El intermediario Fe^{3+} -hidropéroxido se disocia en una molécula de H_2O_2 y enzima férrica.
- La especie $\text{Fe}=\text{O}$ en lugar de oxidar el sustrato es reducida a una molécula de agua por transferencia adicional de electrones.

2.3.6. Importancia de los citocromos P450

El objetivo principal del citocromo P450 y el resto de las enzimas que participan en el metabolismo de xenobióticos, es transformar éstos últimos en metabolitos que sean excretados con mayor facilidad del organismo (*Donato, 2003*). Durante las reacciones de biotransformación, los xenobióticos sufren cambios en su estructura química que, con frecuencia no solo lo convierten en una molécula más polar, sino que además lo inactivan y lo convierten en un metabolito sin actividad farmacológica e inocuo desde el punto de vista toxicológico, acelerando así su eliminación al tiempo que se produce la destoxicación (*Ortiz de Montallano, 1995*). Sin embargo, existen varios xenobióticos que se convierten en moléculas tóxicas tras su metabolización. Esto sucede cuando los metabolitos formados son especies reactivas que interaccionan con elementos o procesos celulares (*Gonzalez, 1998; Kent, 2001*). Estos compuestos reactivos son los radicales libres y metabolitos electrofílicos como los epóxidos, que son capaces de unirse covalentemente con proteínas, RNA o DNA, o que pueden producir estrés oxidativo (*Kent, 2001*). Si la vida media del metabolito reactivo es extremadamente corta sólo afectará a la enzima que lo generó provocando la inactivación de la misma (inhibidores suicidas) (*Lares, 2001*). Si la vida media del metabolito es más larga puede afectar otras macromoléculas, pero será neutralizada antes de salir de la célula o del tejido donde se formó, produciendo únicamente toxicidad local (*Gonzalez, 1998*). Algunos metabolitos reactivos pueden ser más estables y llegar a afectar otros tejidos, causando toxicidad generalizada. El balance entre las reacciones de activación metabólica y de inactivación es el que determina la severidad y el alcance de la toxicidad (*Gonzalez, 1998; Lares, 2001*). Este balance depende de factores como edad, sexo, ambiente, polimorfismos genéticos, inducción, inhibición, factores dietéticos, interacciones farmacológicas, enfermedades, y puede mostrar diferencias interindividuales e interétnicas significativas (*Lares, 2001*).

Las enzimas P450 tienen una amplia distribución tisular dentro del organismo, debido probablemente al gran número de procesos que realizan (*Welch, 1979*). Sin embargo, el hígado es el órgano de mayor expresión de estas enzimas y en él se encuentran los citocromos P450 implicados tanto en reacciones fisiológicas, como en metabolismo de xenobióticos (*Ding, 2003*). Se estima que cerca del 70% de los citocromos P450 hepáticos pertenecen a las familias 1 a 3 (*Ding, 2003; Ingelman, 2005*). Estas tres familias son las responsables del 70–80% del metabolismo de fase I de la mayoría de los fármacos usados actualmente en la clínica (*Ingelman, 2005*). El resto de las familias del citocromo incluyen enzimas que intervienen en el

metabolismo de diversas sustancias endógenas como esteroides, ácidos grasos y biliares, prostaglandinas, leucotrienos, etc (*Capdevila, 2000*). Sin embargo, algunas enzimas de las tres primeras familias también metabolizan sustratos endógenos y para algunas enzimas de la familia 2, hasta el momento, no se ha demostrado su papel en el metabolismo de xenobióticos (*Tabla 2*) (*Gonzalez, 1992*).

Tabla 2. Algunas enzimas del citocromo P450 y sus respectivos sustratos.

Enzima	Sustratos		Enzima	Sustratos	
	Endógenos	Exógenos		Endógenos	Exógenos
CYP1A2	β-estradiol Uroporfirinógeno	Acetaminofen	CYP4B1	Ácido araquidónico	---
		Aflatoxina B1	CYP4F2	Ácido araquidónico	---
		Cafeína	CYP4F3	Leucotrienos	---
		Fenacetina	CYP4F8	Prostaglandinas	---
		Paracetamol	CYP5	Ácido araquidónico	---
CYP2C9	---	Diclofenaco	CYP7A	Ácidos biliares	---
		Fenitoína	CYP7B	Neuroesteroides	---
		Fluoxetina	CYP8A	Ácido araquidónico	---
		Tolbutamida	CYP8B	Ácidos biliares	---
		Warfarina	CYP11A1	Esteroides	---
CYP2C19	---	Diazepam	CYP11B1	Cortisol	---
		Hexobarbital	CYP11B2	Aldosterona	---
		Omeprazol	CYP17	Testosterona	---
CYP2D6	---	Amitriptilina		Estrógenos	---
		Codeína	CYP19	Estrógenos	---
		Debrisoquina	CYP20	?	?
		Esparteína	CYP21	Cortisol	---
		Haloperidol	CYP24	Vitamina D	---
CYP2E1	---	Etanol	CYP26A1	Ácido retinoico	---
		Dimetilnitrosamina	CYP26B1	?	?
		Paracetamol	CYP26C1	?	?
CYP3A4 / 3A5	Glucocorticoides	Ciclosporina	CYP27A1	Ácidos biliares	---
		Lidocaína	CYP27B1	Vitamina D3	---
		Lovastatina	CYP39	Colesterol	---
		Nifedipina	CYP46	Colesterol	---
CYP4A11	Ácidos grasos	---	CYP51	Colesterol	---

(Tomada de *Liska, 1998; D'Hebron, 1999*)

Las isoenzimas más abundantes en el hígado son el CYP3A4 y los CYP2Cs, que representan un 30% y un 20%, respectivamente, del contenido total del citocromo P450. Por esto se considera al hígado como el principal órgano metabolizador. El papel clave del hígado

en la eliminación de estos compuestos deriva de su mayor contenido de enzimas implicadas en las reacciones de metabolización y de su privilegiada posición anatómica que le permite el contacto directo con todos los compuestos que acceden al organismo por vía oral (*Figura 14*) (*Shimada, 1994*).

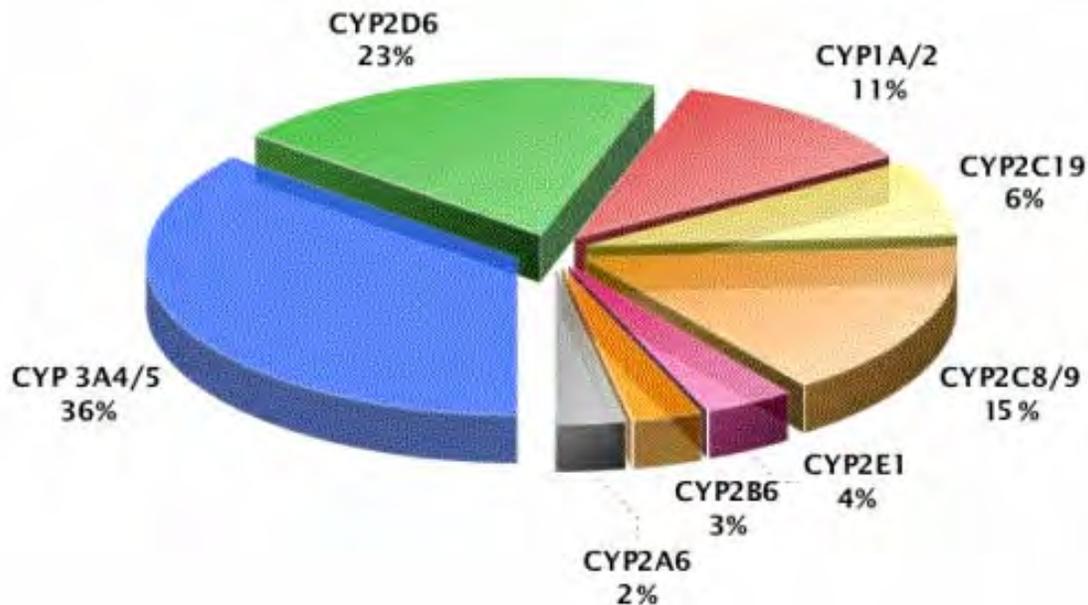


Figura 14. Porcentaje relativo de fármacos metabolizados por enzimas P450 presentes en hígado.
(Tomada y modificada de *Piscitelli, 2001*)

Entre las rutas de eliminación de los 200 fármacos más prescritos en los Estados Unidos, de acuerdo a la base de datos *The Internet Drug Index* de Abril 2008 (*RXList, 2008*), la principal es la vía de eliminación hepática, ya sea por metabolismo o por excreción en bilis. El metabolismo mediado por enzimas CYP representa la mayor parte de los procesos de biotransformación del hígado, contribuyendo en un 37% los miembros de la familia CYP3A, 17% CYP2C9, 15% CYP2D6, 10% CYP2C19, 9% CYP1A2 y 6% CYP2C8. CYP2B6 y otras isoformas (CYP2A6 y CYP2E1) participan en el metabolismo del 2% y 4% de los fármacos, respectivamente (*Zanger, 2008*).

Existen formas polimórficas del P450 que pueden ser responsables de las reacciones adversas a los fármacos. Las mutaciones en genes que codifican para el CYP450 pueden producir enzimas con actividad nula, reducida o aumentada. Esto da origen a cuatro fenotipos: metabolizadores pobres o lentos, que carecen de actividad enzimática; metabolizadores intermedios, que presentan una actividad enzimática reducida; metabolizadores extensos, que

tienen actividad enzimática normal; y metabolizadores ultra rápidos, que tienen actividad enzimática aumentada (*Ingelman, 2005*).

La actividad enzimática nula de los PMs comúnmente es consecuencia de la delección del gen que codifica para la enzima en cuestión, pero también puede deberse a la presencia de mutaciones que alteren el sitio de splicing, originen codones de paro, eliminen sitios de origen transcripcional o provoquen delecciones de aminoácidos (*Mancinelli, 2000*). Mientras que los IMs presentan disminución en la actividad enzimática debido a que tienen una copia de un alelo funcional y una copia de un alelo defectuoso, es decir, están en un estado heterocigoto. Sin embargo, puede darse el caso en el que los IMs presenten dos copias de un alelo con actividad intermedia, en cuyo caso se habla de un estado homocigoto para dicha mutación (*Mancinelli, 2000*). En el caso de los UMs, están presentes dos o más copias funcionales del gen, lo que se traduce en una mayor concentración enzimática en dichos individuos (*Ingelman, 2005*).

En la administración de un tratamiento farmacológico, en los PMs se esperarían niveles plasmáticos muy altos del fármaco debido a que carecen de la capacidad para metabolizar y eliminar dicho compuesto. Mientras que en los UMs, se esperarían niveles en plasma muy bajos o nulos del compuesto debido al rápido metabolismo presente en estos individuos (*Ingelman, 2005*).

2.4. CYP2D6

2.4.1. Antecedentes

El polimorfismo CYP2D6 fue descubierto por grupos de investigadores diferentes. Entre 1975 y 1977 dos grupos, de manera independiente, descubrieron una deficiencia genética en el metabolismo de la debrisoquina y de la esparteína (*López, 2004*). El descubrimiento del polimorfismo genético en el metabolismo de estos dos fármacos no fue una estrategia planeada, sino una observación accidental. Un evento dramático en el estudio farmacocinético provocó la búsqueda inicial del defecto metabólico específico. El Dr. Smith, investigador inglés, que estaba participando en un estudio con el agente antihipertensivo debrisoquina, tomó 40 mg y sufrió de vértigo, debilidad e hipotensión grave, colapsando con una dosis terapéutica

(Mahgoub, 1977). Esto era resultado de una inadecuada hidroxilación de la debrisoquina. En 1975, durante un estudio cinético por el grupo alemán de Michel Eichelbaum y colaboradores, usando una preparación de liberación lenta del antiarrítmico esparteína, dos sujetos presentaron efectos como diplopía, visión borrosa, mareo y dolor de cabeza. Al analizar los niveles de esparteína en el plasma de dichos sujetos, se encontraron niveles 3 a 4 veces mayores, aún cuando se administró la misma dosis a todos los sujetos del estudio. Esta reacción también se atribuyó a un metabolismo oxidativo disminuido (Eichelbaum, 1977). Los posteriores estudios en familias revelaron que el metabolismo de ambos fármacos se encuentra bajo control monogénico y que los metabolizadores pobres son homocigotos para un alelo defectuoso del citocromo P450 2D6, denominado *CYP2D6* o debrisoquina/esparteína 4-hidroxilasa (Abraham, 2001). Folke Sjöqvists demostró que la nortriptilina y la desimipramina son sustratos para *CYP2D6*, exhibiendo una variación interindividual en los niveles plasmáticos con la misma dosis, logrando identificar dos fenotipos (Hemmer, 1967). En los años ochenta y noventa, la variabilidad interindividual en la hidroxilación fue objeto de una intensa investigación, y ahora se sabe que algunos citocromos presentan polimorfismos genéticos (López, 2004).

2.4.2. Genética molecular

El gen *CYP2D6* reside en el brazo largo del cromosoma 22 en la región 13.1 (Figura 15), asociado a los pseudogenes *CYP2D7P* y *CYP2D8P* (Kimura, 1989). Posee nueve exones y ocho intrones, dentro de 4,378 pares de bases del sitio de inicio de la polimerasa hasta el sitio de poliadenilación (Kimura, 1989).



Figura 15. Localización del gen *CYP2D6*, locus 22q13.1.

(Tomada y modificada de *Gene Cards*, 2008)

El gen codifica para una proteína de 497 aminoácidos, con un peso molecular de 55.7 kDa, cuyo papel en el metabolismo es bastante importante ya que metaboliza cerca del 25% de los fármacos usados actualmente en la clínica (*Kimura, 1989; Kent, 2001*).

2.4.3. Polimorfismos de CYP2D6

La evolución del *locus CYP2D* en el humano ha implicado la eliminación de tres genes, la inactivación de dos (*CYP2D7P* y *CYP2D8P*) y la inactivación parcial de uno (*CYP2D6*) (*Kimura, 1989*). La presencia de dos pseudogenes localizados estrechamente y muy similares a *CYP2D6*, conllevan mutaciones que provocan productos génicos defectuosos (*McCarthy, 2002*).

Actualmente se han descrito más de 30 diferentes alelos defectuosos para *CYP2D6* y 55 variaciones del gen (*Brockmüller, 2008*). Dichas variantes son consecuencia de la delección completa del gen, conversiones del gen con los pseudogenes relacionados o variaciones de nucleótido simple, también conocidas como SNP (del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*), causando cambios en el marco de lectura, mutaciones sin sentido o mutaciones en el sitio de empalme (*Abraham, 2001*). Se calcula que hay 1 SNP cada 1000 pb, por lo que se estiman cerca de 4 millones dentro del genoma (*Gaedigk, 1999*). Estas variantes alélicas se han correlacionado con los cuatro fenotipos metabolizadores de fármacos: ultra rápidos, extensos, intermedios y pobres o lentos, lo que conlleva a una concentración baja, normal, intermedia y elevada, respectivamente, del fármaco en cuestión (*Kagimoto, 1990; Ingelman, 2005*).

Los individuos homocigotos para alelos nulos de *CYP2D6* exhiben un fenotipo PM, con alteración en el metabolismo y excreción de muchos fármacos, por lo que existe una mayor posibilidad de mostrar reacciones adversas (*López, 2004*). Mientras que los individuos con genes *CYP2D6* funcionales duplicados o multiplicados exhiben un fenotipo correspondiente UM (*Roger, 1996; López, 2004*). A diferencia de los individuos PM, los EM tienen riesgo de presentar ineficacia en el caso de tratamiento con algún fármaco metabolizado por *CYP2D6*. Por lo tanto, los UM requerirán dosis más altas para conseguir concentraciones terapéuticas, mientras los PM necesitan dosis más bajas para no presentar concentraciones mayores a las terapéuticas (*Roger, 1996*). Los polimorfismos más frecuentes para *CYP2D6* se muestran en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Polimorfismos más frecuentes del gen *CYP2D6*.

Polimorfismo	Mutación	Actividad enzimática
<i>CYP2D6</i> *1	Ninguna	Normal
<i>CYP2D6</i> *2	G ₁₇₄₉ C sustitución	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *3	A ₂₆₃₇ deleción	Nula
<i>CYP2D6</i> *4	G ₁₉₃₄ A sustitución	Nula
<i>CYP2D6</i> *5	Deleción del gen	Nula
<i>CYP2D6</i> *6	T ₁₇₉₅ deleción	Nula
<i>CYP2D6</i> *7	A ₃₀₂₃ C sustitución	Nula
<i>CYP2D6</i> *9	AGA ₂₇₀₁₋₂₇₀₃ deleción	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *10	C ₁₈₈ T sustitución	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *18	9 pb inserción Exón 9	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *36	C ₁₀₀ T sustitución	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *1X2	Gen duplicado	Aumentada
<i>CYP2D6</i> *2X2	Gen duplicado	Aumentada
<i>CYP2D6</i> *4X2	Gen duplicado	Nula
<i>CYP2D6</i> *35X2	Gen duplicado	Aumentada

(Tomada de *Abraham, 2001*)

2.4.4 Diferencias Interétnicas

Estudios en diferentes grupos étnicos del metabolismo de fármacos han demostrado que existen diferencias sustanciales entre las poblaciones con respecto a la distribución polimórfica de la actividad de *CYP2D6* y los correspondientes genomas (*Abraham, 2001; López, 2004*).

Los polimorfismos que originan el fenotipo PM han sido ampliamente estudiados en diversas poblaciones, debido a la relación que presentan con la acumulación de toxinas y los efectos adversos que esto conlleva (*Sachse, 1997; Ingelman, 2005*). Estos polimorfismos han mostrado resultados consistentes, en población caucásica *CYP2D6* carece de actividad en un 5-10% (*Alvan 1990; Gaedigk, 1999*), mientras que la incidencia de metabolizadores lentos entre orientales (chinos, japoneses y coreanos) es de 0-2% (*Nakamura, 1985; Bertilsson, 1992*), y cerca del 5% en población negra (africanos y afroamericanos) (*Masimirembwa, 1997*).

En un estudio realizado al norte de la India, los individuos de Bombay reportan una frecuencia de PMs de 2–3%. Mientras que al sur del país la frecuencia de PMs en individuos de Kerala es 4.8%, en Karnataka 4%, en Andhra Pradesh 1.8% y en Tamil Nadu 3.6%, lo que contribuye para el 3.5% de metabolizadores pobres al sur de India (*Naveen, 2006*).

En población mestizo mexicana se ha reportado una frecuencia de metabolizadores lentos de CYP2D6 de 10%, la cual es similar a caucásicos españoles (López, 2005). Mientras que para el alelo CYP2D6*3 se tiene una frecuencia de 1.44% y para el alelo CYP2D6*4 de 11.21% (Bradford, 2002).

La mutación más frecuente en población caucásica es CYP2D6*4 con una frecuencia alélica del 20% y consiste en la sustitución de G₁₉₃₄A en el último nucleótido del intrón 3, produciendo una anomalía en el proceso de splicing, lo que causa un cambio en el marco de lectura del DNA, originando la terminación prematura del codón. La segunda más común es CYP2D6*3, con una frecuencia de 1–2% e involucra una delección A₂₆₃₇ en el exón 5 resultando en la terminación prematura del codón (Bradford, 2002; López, 2004; Colombres, 2008). El alelo CYP2D6*5, que involucra la delección completa del gen CYP2D6, es uno de los alelos de actividad nula más encontrado en asiáticos, con una frecuencia de 2–7%. Mientras que en población africana presenta una frecuencia promedio de 3.9%, y en caucásicos europeos 2.6% (Ishiguora, 2004). En población mestizo mexicana se tiene reportada una frecuencia de 2.7% (López, 2005). Sujetos homocigotos para estos tres polimorfismos se espera que presenten un fenotipo PM. En población oriental el alelo más común es CYP2D6*10, identificado por una transición de C₁₈₈T, resultando en el cambio del aminoácido Pro₃₄Ser, que origina una enzima inestable y con actividad reducida, con una frecuencia de 38–70%, mientras que en los africanos el alelo CYP2D6*17 presenta una frecuencia de 34%; ambas variantes muestran actividad reducida, lo que se correlaciona con el fenotipo IM (Nakamura, 1985; Abraham, 2001).

Estudios sobre los polimorfismos de CYP2D6 en población hispana son de particular relevancia, ya que dicha población crece cada vez más, en especial en los Estados Unidos. Se ha reportado que la prevalencia de PMs en hispanos va de 2.2–6.6% (Bernard, 2006). En amerindios tepehuanos del estado de Durango se reportó una frecuencia alélica para CYP2D6*4 de 0.6%, y una frecuencia de PMs de prácticamente cero (Sosa, 2006). En la *Tabla 4* se muestran frecuencias reportadas de PMs y de los alelos de CYP2D6 para otras poblaciones.

Tabla 4. Frecuencias alélicas de los polimorfismos de *CYP2D6*, así como la frecuencia de metabolizadores lentos y ultra rápidos, en diversas poblaciones a nivel mundial.

Población	N	*3	*4	*5	*10	PM %	UM %	Referencia
Caucásica								
Norte América	143	1.4	19.9	2.1	8.0	4.2	ND	Wan, 2001
	208	1.0	17.5	3.8	1.9	2.0	2.0	Gaedigk, 1999
España	258	1.2	11.6	1.6	ND	5.0	1.0	Agúndez, 1994
Alemania	195	1.0	19.5	4.1	2.0	0	1.6	Griese, 1998
	589	2.0	20.7	2.0	1.5	0.1	1.5	Sacase, 1997
Negra								
Gahana	193	0	7.0	0.6	3.1	0	1.6	Griese, 1999
Tanzania	106	0	0.9	6.1	3.8	0.9	3.3	Wennerholm, 2001
Etiopía	122	0	1.2	3.3	8.6	1.8	29	Akillu, 1996
Asiática								
Norte América	154	0.3	7.8	6.2	7.5	1.3	ND	Wan, 2001
	193	0.3	7.5	6.2	3.9	2.3	1.3	Gaedigk, 2001
China	127	0.8	1.2	ND	70	1.6	ND	Wang, 1993
	179	1.0	< 0	5.7	50	ND	1.0	Ling, 2002
Japón	206	ND	ND	4.5	38.1	ND	0	Nishida, 2000
	98	ND	0.5	6.1	40.8	1.02	0	Tateishi, 1999
Amerindia								
México Americanos	349	< 1	10.3	2.3	7.4	3.2	1.0	Mendoza, 2001
Ngawbel (Panamá)	105	0	17.1	0	17.5	4.4	ND	Jorge, 1999
Embera (Colombia)	136	0	14	0	6.9	2.2	ND	Jorge, 1999
Mapuche (Chile)	84	0	3.6	4.2	1.8	ND	ND	Muñoz, 1998
Mestizos Mexicanos	243	1.4	11.2	2.7	12.4	10	6.5	López, 2005

ND = No determinado

(Tomada de Abraham, 2001; Bradford, 2002)

También se han observado diferencias en las frecuencias de individuos UM dependiendo del origen étnico de la población (López, 2004). Los etíopes presentan la frecuencia más alta (29%) de duplicaciones de *CYP2D6* descrita hasta el momento (Bernal, 1999). En los árabes sauditas, la frecuencia es de 20%; en caucásicos es relativamente baja, de 1–2%, a excepción de los españoles, con 7–10% (Bernal, 1999; Strachan, 2006).

El fenotipo UM afecta al 5.5% de la población del oeste de Europa (Bernal, 1999). Se han reportado frecuencias del 10% en poblaciones de Italia y Turquía, mientras que en Europa del Norte es poco frecuente (1–2%) y, básicamente, ausente en Asia (< 1%) (Ingelman, 2005). En mestizos mexicanos se tiene reportada una frecuencia de UMs de 6.5%. En población amerindia existen muy pocos estudios respecto a este fenotipo (López, 2005).

En general, las duplicaciones del gen *CYP2D6* ocurren con varios alelos, incluyendo *1, *2, *4, *6, *10, *17, *29, *35, *41, *43 y *45. La frecuencia de las duplicaciones del gen varían entre 10% y 50% en algunos grupos étnicos, incluyendo algunas poblaciones de Arabia, el este de África y del Pacífico, mientras que en Europa oscilan entre 1 y 5% (Zanger, 2008).

2.4.5. Genotipificación

El DNA es una macromolécula formada por cuatro nucleótidos cuyas bases nitrogenadas son: adenina, guanina, citosina y timina. Estas bases forman cadenas polinucleotídicas antiparalelas mediante enlaces fosfodiéster, en donde el residuo de azúcar es la desoxirribosa. Las cadenas están unidas entre sí por puentes de hidrógeno formados por el apareamiento de las bases nitrogenadas. El DNA contiene la información genética organizada en genes, que constituyen el genoma y se encuentran en todas las células eucariotas nucleadas. Los genes están presentes como una secuencia de bases en el DNA y son los elementos de información que codifican la secuencia de aminoácidos de una proteína, con la participación del RNA que actúa como molécula intermediaria (Strachan, 2006).

El primer requisito para el estudio molecular del genoma es que el DNA se encuentre libre de otros compuestos celulares. Sin importar la técnica utilizada para su obtención, el DNA nunca tendrá la longitud nativa que presenta en las células. La manipulación provocará rupturas aleatorias, pero con suficiente precaución, la longitud de los fragmentos de DNA obtenidos será aproximadamente la centésima parte de la longitud total de un cromosoma (Sambrook, 1989).

La genotipificación involucra la identificación de mutaciones genéticas definidas que dan origen a los diferentes fenotipos en el metabolismo de fármacos. Dichas mutaciones incluyen alteraciones genéticas que conllevan a una sobre expresión (múltiples genes), ausencia (alelo nulo) o producción de una proteína mutada cuya capacidad catalítica está reducida (alelo inactivante) (Abraham, 2001).

El DNA aislado de linfocitos puede ser utilizado en la genotipificación. Existen dos métodos muy comunes:

1. PCR–RFLP: Se amplifica la región específica del DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida de la digestión del producto amplificado con endonucleasas de restricción. El tamaño de los fragmentos de restricción se evalúan mediante electroforesis en geles, de agarosa o poliacrilamida, teñidos con bromuro de etidio y observados en transiluminador UV (*Strachan, 2006*).
2. PCR alelo–específico: Oligonucleótidos específicos para la hibridación de las variantes alélicas son utilizados para reacciones de amplificación paralelas. El análisis de la presencia o ausencia del producto amplificado se realiza en electroforesis de gel de agarosa teñido con bromuro de etidio y observado en transiluminador UV (*Strachan, 2006*).

Existen otros métodos que también permiten la genotipificación del DNA, como las micromatrices o chips de DNA, que ayudan al análisis simultáneo del espectro de los genes que participan en la respuesta a los fármacos (*López, 2004*). El desarrollo de las micromatrices es el resultado de avances importantes en nanotecnología y miniaturización de los procesos de síntesis, marcaje y colocación de un gran número de moléculas sobre superficies sólidas (*Hou, 1996; McKinnon, 2000*).

2.4.6. Fenotipificación

La fenotipificación evalúa la función enzimática y es una vía para identificar los fenómenos en la variabilidad del metabolismo de fármacos. Para esto se requiere de una cantidad de fármaco conocida, así como su metabolismo, y debe depender exclusivamente de la enzima CYP2D6. La excreción del compuesto original y/o metabolito en orina permite calcular el radio metabólico, el cuál mide la actividad individual de CYP2D6 (*Abraham, 2001*).

En un estudio de fenotipificación, a los individuos se les administra una dosis oral subterapéutica de un fármaco, y la orina es colectada en un período de 8 a 12 horas. Posteriormente, se determina el radio metabólico (RM) del compuesto original y sus metabolitos trazando la frecuencia de distribución en un histograma (*López, 2005*). Un polimorfismo es indicado por una curva de distribución de frecuencia binomial con la antimoda en las dos poblaciones. La antimoda sirve para separar los EM de los PM (*Abraham, 2001*).

Para la fenotipificación de CYP2D6 se utilizan los fármacos debrisoquina, esparteína, dextrometorfano, metoprolol y codeína. La antimoda de la distribución binomial de CYP2D6 varía en la población desde ≈ 0.01 a > 100 , en caucásicos con fenotipo PM se presenta un $RM_{\text{debrisoquina}} > 12.6$, $RM_{\text{esparteína}} > 20$ o $RM_{\text{dextrometorfano}} > 0.3$; en fenotipos UM se presentan $RM_{\text{debrisoquina}} < 0.2$, $RM_{\text{esparteína}} < 0.15$. Por otro lado, el fenotipo EM corresponde a los valores de RM entre los extremos de los valores de los fenotipos anteriores (Hou, 1996). El radio metabólico es una función de factores como la aclaramiento renal de fármacos, además de la actividad de la enzima (Abraham, 2001). Factores ambientales pueden modificar estas variables, las cuales pueden aumentar las diferencias en la antimoda del radio metabólico entre diferentes grupos étnicos (Hou, 1996).

La fenotipificación tiene algunas desventajas, se obstaculiza por riesgo de efectos adversos del fármaco, problemas con la asignación de un fenotipo incorrecto debido a una co-administración de otros fármacos y confusión de los efectos en presencia de enfermedades (Linder, 1997).

2.4.7. Inducción e Inhibición

La quinidina es el más potente inhibidor de CYP2D6. La quinina, que es un diastereoisómero de la quinidina, es cien veces menos potente, sin embargo, no es un sustrato de CYP2D6. Una dosis oral de 200 mg de sulfato de quinidina es suficiente para convertir a casi todos los metabolizadores extensos en metabolizadores pobres. La fluoxetina, paroxetina y propofenona también son potentes inhibidores de CYP2D6 (Liska, 1998). Se ha observado en mujeres EM cerca de un 33% de reducción en el RM de debrisoquina cuando utilizan anticonceptivos. Durante el ciclo menstrual, se observa una disminución insignificante en el RM de debrisoquina en la fase luteal comparada con la fase preovulatoria (Ingelman, 2005).

Se ha observado que fumar y la ovariectomía inducen la actividad de CYP2D6 pero solo en menor grado. Sin embargo, hay evidencia de que el embarazo tiene una gran influencia en la actividad de la enzima (Liska, 1998). Una de los aspectos importantes a resaltar es la capacidad que tienen algunos fármacos para inducir diversos citocromos P450. A diferencia de otros citocromos, CYP2D6 no se ve afectado por los inductores enzimáticos clásicos como el fenobarbital (Abraham, 2001).

2.4.8. Importancia clínica

La familia CYP2 está constituida por el mayor número de miembros organizados en más de 20 subfamilias. Dentro de la subfamilia CYP2D se localiza CYP2D6 o debrisoquina/esparteína 4-hidroxilasa (*Bertilsson; 2002*). Se trata posiblemente del citocromo más popular entre la comunidad científica debido a su expresión polimórfica y la influencia de sus múltiples variantes sobre su actividad enzimática, dando origen a las diferencias fenotípicas que determinan los fenotipos metabolizadores UM, EM, IM y PM (*Hersberger, 2000*).

Como se ha mencionado anteriormente, la frecuencia de aparición de las formas polimórficas varía notablemente entre individuos y diferentes grupos étnicos (*López, 2004*). En muchos casos el metabolismo deficiente de un fármaco por una vía polimórfica ha generado alteraciones en sus parámetros farmacocinéticos, disminución de su eficacia terapéutica o un mayor riesgo de aparición de efectos adversos y/o tóxicos entre la población, así mismo se ha encontrado una asociación entre metabolizadores lentos y la etiopatología de varios tipos de cáncer, lupus eritematoso, enfermedad de Parkinson, entre otras (*Lares, 2001; Scordo, 2002*). Las variantes alélicas que codifican para enzimas defectuosas no causan directamente la patología pero pueden incrementar la sensibilidad de los individuos a efectos dañinos hacia los fármacos (*Ingelman, 2005*). Otros polimorfismos representan mecanismos de defensa contra ciertas enfermedades como la malaria y la tuberculosis. Se piensa que la variabilidad de este sistema ha ayudado a las poblaciones a sobrevivir grandes epidemias debido a bacterias (*Daly, 2003*).

Si la esparteína y debrisoquina fueran los únicos fármacos metabolizados por CYP2D6, el estudio de sus polimorfismos hubiera sido teórico porque éstos no son considerados fármacos esenciales. Sin embargo, estudios posteriores identificaron una gran variedad de compuestos, estructuralmente diferentes, que son metabolizados por la enzima CYP2D6 (*Tabla 5*) (*Abraham, 2001*).

Tabla 5. Sustratos de CYP2D6.

Antihipertensivos			
Alprenolol	Bufuralol	Bunitrolol	Bupranolol
Carteolol	Clonidina	Debrisoquina	Guanoxano
Indoramina	Losartan	Metoprolol	Nimodipina
Nitrendipina	Oxiprenolol	Propranolol	Timolol
Antiarrítmicos			
Amiodarona	Aprindina	Encainida	Esparteína
Flecainida	Mexiletina	Procainamida	Propafenona
Antidepresivos			
Amiflavina	Amitriptilina	Brofaromina	Citalopram
Clomipramina	Desipramina	Desmetilcitalopram	Fluoxetina
Fluvoxamina	Imipramina	Maprotilina	Minaprina
Moclobemida	Nefazodona	Nortriptilina	Paroxetina
Tomoxetina	Tranilcipromina	Trimipramina	Venlafaxina
Neurolépticos			
Clozapina	Haloperidol	Levomepromazina	Olanzapina
Perfenazina	Pimozida	Risperidona	Sertindola
Tioridazina	Zuclopentixol		
Opiáceos			
Codeína	Dihidrocodeína	Dextrometorfano	Etilmorfina
Hidrocodona	Norcodeína	Oxicodona	Tramadol
Quimioterapéuticos			
Clotrimazol	Doxorubicina	Ketoconazol	Mefloquina
Primetamina	Rifampicina	Ritonavir	Roxitromicina
Sulfasalazina			
Antihistamínicos			
Azelastina	Cinarizina	Loratadina	Prometazina
Otros			
Apigenina	Budesonida	Ciclobenzaprina	Dibucaina
Dihidroergotamina	MDMA (éxtasis)	Metoxiamfetamina	Quercetina
Serotonina	Tacrina	Tamoxifen	

(Tomada de Abraham, 2001)

Aunque CYP2D6 está relativamente de forma minoritaria en el hígado (1.5% del total de citocromos), metaboliza hasta el 25% de los fármacos utilizados actualmente en la práctica clínica y muchos de estos fármacos tienen su sitio blanco dentro del sistema nervioso central (Figura 14) (Kroemer, 1995; Abraham, 2001).

Los polimorfismos de *CYP2D6* representan un excelente ejemplo tanto para conocer las implicaciones clínicas potenciales de la farmacogenética, como para saber el proceso por el cual dicha disciplina llevó desde el fenotipo hasta el entendimiento del mecanismo molecular a nivel de genotipo (*Weinshilboun, 2003*).

Además son clínicamente importantes para antidepresivos tricíclicos, algunos neurolépticos, antiarrítmicos, antihipertensivos, β -bloqueadores y derivados de morfina. En el caso de los antidepresivos tricíclicos, los fenotipos PM y UM presentan el mayor riesgo de reacciones adversas (*Abraham, 2001*).

Debido al alto carácter polimórfico del gen *CYP2D6*, la enzima *CYP2D6* es también sitio de un número de interacciones farmacológicas *in vivo*. Los sustratos con alta afinidad por la enzima se unen fuertemente a ella e inhiben el metabolismo de otros compuestos de baja afinidad. Dichas interacciones ocurren frecuentemente tanto en metabolizadores extensos como pobres. Con este conocimiento se puede anticipar las interacciones farmacocinéticas con el siguiente razonamiento:

*Si la droga A afecta la enzima P450 X y si ésta metaboliza los fármacos B, C y D,
entonces la droga A afectará el metabolismo de los fármacos B, C y D.*

Este razonamiento también se usa para decidir qué fármacos se desarrollarán y eliminar así las interacciones entre ellos (*Abraham, 2001*).

La importancia de la determinación del polimorfismo de *CYP2D6* es el valor clínico para predecir las respuestas inadecuadas o adversas a ciertos agentes terapéuticos y, así, predecir o prevenir el riesgo de enfermedades relacionadas con la exposición ocupacional o ambiental (*Marez, 1997; Abraham, 2001*).

2.5. De la Farmacogenética a la Farmacogenómica

2.5.1. Antecedentes

En 1957, *Motulsky* fue el primero en sugerir que ciertas reacciones adversas a los medicamentos podrían ser causadas por variaciones, determinadas genéticamente, en la actividad del metabolismo a nivel hepático. Poco después, *Vogel* en 1959 acuñó el término *Farmacogenética* para describir la relación entre la constitución genética de un individuo y la terapia farmacológica (*López, 2004*). Por lo tanto, esta disciplina estudia las variaciones genéticas responsables de las diferencias individuales en la respuesta a los fármacos y xenobióticos. Posteriormente, el término *Farmacogenética* se amplió al de *Ecogenética*, para abarcar las diferencias genéticas que determinan la susceptibilidad de los individuos a la acción de agentes físicos, químicos y biológicos del ambiente (*Nebert, 1997*).

2.5.2. Farmacogenómica

En el pasado, los estudios de eficacia y seguridad de los fármacos se desarrollaron en el supuesto de una persona promedio, ignorando el hecho de que los seres humanos muestran una diversidad genética extraordinaria (*Housman, 1988*). Durante 1994, en Estados Unidos se estima que se presentaron más de dos millones de pacientes hospitalizados a causa de serias reacciones adversas a fármacos resultando en 106,000 muertes. Estos datos sitúan a las reacciones adversas como la 5ª causa de muerte en ese país (*Lazarou, 1998*).

La farmacogenética se ha convertido en farmacogenómica como resultado de los recientes avances en la genómica y la bioinformática. La farmacogenética se refiere al estudio de un solo gen, mientras que la farmacogenómica abarca el estudio del genoma completo (*Tian, 2007*). También se ha propuesto que ésta última comprende ámbitos superiores al DNA, tales como el RNA o las proteínas, y está más relacionada con el desarrollo de fármacos que la farmacogenética, ya que su principal objetivo es estudiar las bases genéticas de la variación individual en la repuesta a los fármacos, así como identificar objetivos moleculares para el diseño y desarrollo de los mismos (*Mancinelli, 2000*).

La farmacogenética integra a la bioquímica y a la farmacología con el fin de encontrar biomarcadores fenotípicos, con caracterización genética mediante estudios de asociación. Por otro lado, la farmacogenómica aprovecha las técnicas genómicas tales como la secuenciación de DNA, mapeo genético y la bioinformática para permitir a los investigadores identificar las bases genéticas de la variación interindividual e interracial en la eficacia de los fármacos, su metabolismo y transporte. Una vez dentro del organismo, cada fármaco interactúa con proteínas de transporte, enzimas metabolizadoras y diversos tipos de receptores. Todas estas proteínas van a determinar la absorción, distribución, excreción, sitio blanco y respuesta farmacológica (*Mancinelli, 2000*).

2.5.3. Proyecto Genoma Humano

La secuencia del genoma humano ha establecido que el 99.9% del DNA es prácticamente idéntico en todos los individuos. La diferencia se debe a variaciones genéticas como el tamaño de secuencias repetidas, supresiones, inversiones, inserciones y, particularmente, los SNPs. Dichas variaciones pueden explicar la susceptibilidad genética a varias enfermedades, así como las diferencias individuales en las respuestas farmacológicas (*Wallace; 1999*).

Se espera que el impacto del genoma humano en las ciencias farmacéuticas potenciará positivamente sus estrategias, así como la práctica médica tradicional (*Wallace, 1999*). El principal esfuerzo es entender el significado de la variación genética de los genes implicados en el metabolismo de fármacos. Así como la aplicación de la tecnología genómica para el desarrollo de fármacos y modelos terapéuticos diseñados para lograr ensayos clínicos más exitosos, terapias más efectivas y menos tóxicas, y la disminución de los costos (*Destenaves, 2000*).

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. General

- Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de *CYP2D6**3, *4, *5 y *10 en una muestra de 124 individuos de población maya; mediante técnicas de biología molecular, con la finalidad de establecer la homogeneidad génica de la población maya.

3.2. Particulares

- Inferir la frecuencia de metabolizadores lentos en población maya en base al genotipo.
- Comparar las frecuencias obtenidas en la población maya con las reportadas para población mestizo mexicana.
- Comparar las frecuencias obtenidas con lo reportado para otras poblaciones.

4. HIPÓTESIS

4. HIPÓTESIS

Existe gran variación interindividual en la respuesta a los medicamentos en donde, en el mejor de los casos, la eficacia al tratamiento es de un 80% (*Spear, 2001*).

En 1998 *Lazarou y colaboradores*, reportaron una incidencia de hospitalizaciones de 6.7% en población estadounidense, con un 0.32% de decesos debido a reacciones adversas a medicamentos. Lo anterior colocó a las reacciones adversas a medicamentos entre la cuarta y sexta causa de muerte en esta población.

La genotipificación no solo incluye metabolizadores lentos, sino también a metabolizadores extensos o normales ya que de la interpretación de los resultados se desprenden los sujetos con genotipo homocigoto normal, heterocigoto y homocigoto para la variación, de los que este último sería metabolizador lento (*Hou, 1996*).

Debido a la variabilidad genotípica de *CYP2D6*, es importante estudiar la frecuencia de sus polimorfismos en poblaciones indígenas mexicanas, ya que podría tener importantes implicaciones terapéuticas en el uso de los fármacos que son sustratos de *CYP2D6* y tienen una estrecha ventana terapéutica. Este estudio también contribuye al conocimiento de la estructura genética de la población mexicana.

Se espera que las frecuencias genotípicas y alélicas de *CYP2D6**3, *4, *5 y *10 en la población maya sean menores a lo reportado para población mestizo mexicana.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Muestras Biológicas

5.1.1. Muestras de Estudio

Se estudió una población maya, cuyas muestras fueron donadas por el Dr. Ramon Coral del Departamento de Genética del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Las muestras proceden de familiares de pacientes que acuden a clínicas rurales en el estado de Yucatán y que son referidos a un hospital de concentración en Mérida. El 100% de la población estudiada son individuos aparentemente sanos, tienen dos apellidos mayas, son de padres y cuatro abuelos mayas, hablan maya y todos tienen el grupo sanguíneo O Rh⁺. Todos los individuos estudiados aceptaron participar en el estudio, previo consentimiento informado. La población total consta de 124 muestras de DNA cromosómico, 100 mujeres y 24 hombres, con una edad promedio de 22.83 años y un intervalo de 0 a 44 años.

5.1.2. Muestras Control

La población maya se comparó con una población mestizo mexicana, previamente estudiada en el Departamento de Neurogenética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, que consta de 372 muestras de DNA cromosómico extraído a través de sangre venosa periférica, 204 mujeres y 168 hombres, con una edad promedio de 27.6 años y un intervalo de 16 a 66 años. La mayoría de estos individuos son donadores del banco de sangre de este instituto, de los cuales se manejó la muestra en forma anónima, y el resto son conyuges de los pacientes que acuden a consulta y aceptaron donar una muestra de sangre, previo consentimiento informado.

5.2. Toma de muestra

En condiciones asépticas y con material nuevo y estéril, se tomó una muestra de aproximadamente 20mL de sangre venosa periférica en tubos vacutainer con solución anticoagulante ACD (ácido cítrico–dextrosa). El citrato actúa como anticoagulante al unirse al calcio (Ca^{2+}) formando complejos solubles, inhibiendo así el factor IV de la cascada de coagulación. La dextrosa funge como conservador y permite que la sangre pueda almacenarse hasta por 7 días a 4°C sin alterar las estructuras celulares presentes en la misma (*Figura 16*).



Figura 16. Toma de muestra por punción venosa.
Tomada en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

5.3. Lisis de glóbulos rojos y obtención de leucocitos

Para la obtención de leucocitos primero se homogeniza la muestra de sangre, que debe ser tomada en tubos vacutainer ACD, y se transfiere a un tubo cónico de 50mL. Este tubo se llena con amortiguador de lisis de células rojas (RCLB) y se nivela con otro tubo. Se agita suavemente durante 10 minutos para homogenizar y se centrifuga a 5000 rpm a 4°C durante 10 minutos.

Posteriormente, se elimina con vacío la mitad del sobrenadante (*Figura 17*), este lavado con el amortiguador RCLB se repite 2 a 5 veces más hasta obtener un botón de leucocitos libre de eritrocitos. Cuando este botón de células se observa limpio, se elimina completamente el sobrenadante, se seca y puede guardarse a -20°C hasta por un mes.



Figura 17. Lisis celular.

Tomada en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

5.4. Extracción y lavado de DNA por método de sales y fenol-cloroformo

Para realizar la extracción del DNA del botón de leucocitos obtenido de la muestra de sangre se adicionan 886 μ L de NaCl 5mM, 46 μ L de SDS 10% y 308 μ L de NaCl saturado. Cuando se adiciona cada uno de éstos reactivos es necesario resuspender cuidadosamente con una pipeta de transferencia para homogenizar adecuadamente la muestra, cuidando que no se forme espuma durante el proceso.

Posteriormente se transfiere todo el contenido a un tubo cónico de 15mL y se centrifuga a 5000 rpm a 4°C durante 20 minutos. Se recupera el sobrenadante en otro tubo 15mL nuevo y se desecha el botón. Se adiciona al sobrenadante un volumen igual de la solución fenol-cloroformo-alcohol isoamílico y se agita suavemente a mano durante 10 minutos. Luego se centrifuga nuevamente a 500 rpm y 4°C por 10 minutos, y se transfiere la fase acuosa (superior) a un nuevo tubo, teniendo cuidado de no llevarse restos celulares de la interfase, y se desecha el resto. A este sobrenadante se le agrega un volumen igual de la solución cloroformo-alcohol isoamílico y nuevamente se agita a mano por 10 minutos. Se centrifuga a 4°C, 5000 rpm por 10 minutos y se recupera nuevamente la fase acuosa (superior) en un tubo nuevo sin arrastrar suciedad de la interfase.

A este sobrenadante se le adiciona un volumen igual de isopropanol frío o 2 volúmenes de etanol frío, y se agita suavemente para precipitar el DNA. En estas condiciones la muestra de DNA precipitado puede guardarse hasta un día a -20°C.

Posteriormente se recupera el DNA precipitado con una pipeta pasteur con punta de gancho, se enjuaga dos o tres veces con etanol al 70% para eliminar las sales precipitadas y se dejar secar hasta que esté traslucido.

Una vez seco, se introduce la punta de la pipeta pasteur con el DNA en un microtubo de 1.5mL, con la cantidad suficiente de agua inyectable estéril para disolverlo, y se deja en estas condiciones durante 1hr aproximadamente. Luego se retira la pipeta pasteur, se cierra el microtubo y se incuba a 50°C durante 1hr para disolver completamente el DNA. Al finalizar la incubación la muestra de DNA se guarda a -20°C hasta su uso.

5.5. Cuantificación de DNA cromosómico

Todas las muestras de DNA cromosómico de población maya se cuantificaron por espectrofotometría para determinar su concentración. El primer paso para la cuantificación es preparar una dilución de la muestra de DNA cromosómico 1:100. A 495µL de agua inyectable estéril se le adicionan 5µL de DNA genómico y se homogeniza adecuadamente en vortex.

Para realizar las lecturas se debe encender la lámpara de UV del espectrofotómetro, se selecciona la longitud de onda a 260nm y se calibra utilizando agua inyectable estéril como blanco en una celda de cuarzo. La dilución de la muestra de DNA se coloca en otra celda y se realiza la lectura a 260 y 280nm. Con estas lecturas se calculó la concentración y pureza cada una de las muestras de DNA.

5.6. Análisis de integridad del DNA cromosómico por electroforesis en gel de agarosa

Primero se monta y nivela el portagel de la cámara de electroforesis, luego se prepara una solución de agarosa al 0.8% con amortiguador TBE 0.5X y se calienta hasta que esté completamente homogénea. Esta solución de agarosa se agrega en el portagel de la cámara, se coloca el peine y se deja reposar hasta que polimerice. Se retira el peine y se coloca el gel dentro de la cámara con amortiguador TBE 0.5X. Para cargar las muestras en el gel se deben mezclar 2µL de DNA cromosómico con 1µL de colorante de carga. El gel debe cargarse cuidadosamente para no perforar los pocillos del mismo. La electroforesis se realiza a un

voltaje continuo de 100V durante 1hr. Al finalizar se retira el gel de la cámara y se tiñe con una solución de bromuro de etidio (10 mg/mL) por 8–10 segundos. El exceso de bromuro de etidio se elimina sumergiendo el gel en agua durante 20 minutos. El gel se observa en el transiluminador de luz ultravioleta. El DNA íntegro se observa como una banda en la parte superior de los pozos del gel.

5.7. Amplificación por PCR convencional y genotipificación de *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* y *CYP2D6*10*

Para la amplificación y genotipificación de los alelos *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* y *CYP2D6*10* se empleó la técnica de PCR–RFLP, que consiste, primero en la amplificación de la región de interés mediante la técnica de PCR seguida de una digestión con enzimas de restricción específicas. La combinación de ambas técnicas permitió identificar los genotipos homocigoto silvestre o normal, heterocigoto y homocigoto anormal para cada uno de los polimorfismos.

La amplificación de los alelos *CYP2D6*3* y **4* se realizó de acuerdo a la técnica de Schur, 2001 con ciertas modificaciones, mientras que alelo *CYP2D6*10* se trabajó según Sachse, 1997. Para llevar a cabo las reacciones de amplificación se utilizaron oligonucleótidos específicos para cada polimorfismo (Tabla 6).

Tabla 6. Secuencia de oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los polimorfismos *2D6*3*, **4*, y **10*.

Oligonucleótidos*	Secuencia	Tamaño
<i>CYP2D6*3</i>		
2D6*3 A	5' - GAT GAG CTG CTA ACT GAG CC - 3'	20 pb
2D6*3 B	5' - CCC AGA GCA TAC TCG GGA C - 3'	19 pb
<i>CYP2D6*4</i>		
2D6*4 A	5' - GCC TTC GCC AAC CAC TCC G - 3'	19 pb
2D6*4 B	5' - AAA TCC TGC TCT TCC GAG GC - 3'	20 pb
<i>CYP2D6*10</i>		
2D6*10 A	5' - TCA ACA CAG CAG GTT CA - 3'	17 pb
2D6*10 B	5' - CTG TGG TTT CAC CCA CC - 3'	17 pb

*NOTA: La secuencia y ubicación de los oligonucleótidos está dada de acuerdo a la secuencia del gen *CYP2D6*.
(Código de acceso GeneBank No. M33388)

Para los tres polimorfismos se utilizó la misma mezcla de PCR. A cada reacción se le adicionan de 1–3µL de DNA cromosómico a una concentración de 200–400 ng/µL, de cada oligonucleótido se adiciona 1µL a una concentración de 100 ng/µL, 5µL de Taq PCR Master Mix Kit QIAGEN (2.5 U de *Taq* DNA polimerasa, amortiguador 1X QIAGEN PCR, 1.5 mM MgCl₂ y 200 µM de cada dNTP), 0.6µL de DMSO al 5% y H₂O grado inyectable hasta un volúmen de 12µL.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en termociclador *Eppendorf Master Cycler Gradient*. Las condiciones de reacción para cada polimorfismo se muestran en la *Tabla 7*.

Tabla 7. Condiciones de la reacción de PCR para cada polimorfismo.

Polimorfismo	Condiciones de reacción			
	Desnaturalización Inicial	Desnaturalización, alineamiento y extensión	Extensión final	Ciclos
<i>CYP2D6*3</i>	94°C, 5 min	94° 1 min, 58° 1 min, 72° 1:30 min	72° 10 min	40
<i>CYP2D6*4</i>	94°C, 5 min	94° 1 min, 60° 1 min, 72° 1:30 min	72° 10 min	30
<i>CYP2D6*10</i>	94°C, 3 min	94° 30 seg, 58° 30 seg, 72° 1:30 min	72° 10 min	40

Los productos de PCR de los polimorfismos *CYP2D6*3*, **4* y **10* se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1%. Para identificar los productos de PCR de cada polimorfismo se utilizó un marcador de peso molecular con un patrón de bandas de 100 pb.

5.7.1. Restricción enzimática.

Después de la amplificación, los productos de PCR se sometieron a digestión con enzimas de restricción específicas para cada polimorfismo. Las reacciones de digestión se incubaron a 37°C para obtener los fragmentos de restricción específicos para cada genotipo de cada uno de los polimorfismos (*Tabla 8*). Las condiciones de la reacción de digestión para cada polimorfismo se muestran en la *Tabla 9*.

Tabla 8. Enzimas de restricción y RFLPs generados para cada genotipo de los polimorfismos 2D6*3, *4 y *10.

Genotipos	CYP2D6*3	CYP2D6*4	CYP2D6*10
Enzima de restricción	<i>MspI</i>	<i>MvaI</i>	<i>HphI</i>
Secuencia de reconocimiento	5' - C↓CGG - 3'	5' - CC↓(A/T)GG - 3'	5' - GGTGA(N) ₈ ↓ - 3'
Homocigoto silvestre (wt/wt)	188, 82 pb	250, 105 pb	362, 71 pb
Heterocigoto (wt/m)	188, 168, 82, 20 pb	355, 250, 105 pb	362, 262, 100, 71 pb
Homocigoto anormal (m/m)	168, 82, 20 pb	355 pb	262, 100, 71 pb

Tabla 9. Condiciones para cada reacción de digestión de los polimorfismos *3, *4 y *10.

Reactivo [Concentración]	CYP2D6*3	CYP2D6*4	CYP2D6*10
Producto de PCR 2D6*3	10 µL	---	---
Producto de PCR 2D6*4	---	10 µL	---
Producto de PCR 2D6*10	---	---	10 µL
<i>MspI</i> [10 U / µL]	0.1 µL	---	---
<i>MvaI</i> [10 U / µL]	---	0.2 µL	---
<i>HphI</i> [10 U / µL]	---	---	0.2 µL
BSA [0.1%]	0.3 µL	---	---
Amortiguador 10X T	1.5 µL	---	---
Amortiguador 10X R	---	2 µL	---
Amortiguador 10X B	---	---	2 µL
Agua grado inyectable	Aforar a 15 µL	Aforar a 20 µL	Aforar a 20 µL

Al finalizar la incubación, los fragmentos de restricción ó RFLPs se analizaron por electroforesis vertical en geles de poliacrilamida al 4.5% para los alelos *CYP2D6*4* y *CYP2D6*10*, y al 8.5% para el alelo *CYP2D6*3*. Para identificar los genotipos correspondientes también se utilizó un marcador de peso molecular.

La metodología para la preparación de los geles de poliacrilamida y la digestión enzimática fue la siguiente:

Preparación de geles de poliacrilamida

En un vaso de precipitado se mezcla con agitación constante acrilamida al 40%, amortiguador TBE 10X, persulfato de amonio 10%, TEMED y agua desionizada*. La mezcla se inyecta en el medio de dos vidrios para electroforesis vertical, previamente lavados y secos, y acoplados con separadores. Se coloca el peine y se deja polimerizar el gel durante un mínimo

de 30 minutos. Luego se monta en la cámara de electroforesis y se llenan los compartimentos de la misma con amortiguador TBE 1X.

***NOTA:** La cantidad de cada uno de los reactivos dependerá de la concentración final del gel de poliacrilamida. Para *CYP2D6*3* se utiliza un gel al 8.5% y para *CYP2D6*4* y **10* al 4.5%.

Digestión enzimática

La mezcla de digestión se realiza de acuerdo al polimorfismo que se esté trabajando*, en un microtubo de 0.5 o 1.5mL, según sea necesario. Se adicionan 10μL de mezcla a cada una de las muestras amplificadas y se homogenizan suavemente con micropipeta sin formar burbujas. Se centrifuga un pulso todos los microtubos y se incuban durante 3–4hrs a 37°C.

***NOTA:** Ver *Tabla 9* para las condiciones de reacción de cada polimorfismo.

Al término de la incubación, se adicionan 10μL de colorante de carga a cada muestra y se homogenizan con micropipeta. Se toma todo el volumen de cada muestra (30μL) y se deposita en uno de los pocillos del gel. Finalmente, se mezclan 2μL de marcador de peso molecular de 100 pb con 1μL de colorante de carga y se deposita en un pozo del gel. La cámara se cierra y se realiza la electroforesis a 260–280V durante 3hrs.

Terminando la electroforesis, se desmonta el gel de la cámara y se separan cuidadosamente los vidrios del gel para no romperlo. Se toma cuidadosamente y se tiñe con bromuro de etidio en solución por 8–10 seg. Se enjuaga el exceso de bromuro con agua y se visualiza en transiluminador de luz UV.

5.8. Amplificación por PCR alelo–específico y genotipificación de *CYP2D6*5*

Para la identificación del polimorfismo *CYP2D6*5* se empleó la metodología de acuerdo a *Hersberger, 2000* donde se llevó a cabo la combinación de dos reacciones de PCR simultáneas, una para la detección de la delección del gen *CYP2D6* y otra para detectar la región 22q13 como control positivo de la amplificación, cada una con un par de oligonucleótidos específicos (*Tabla 10*). Los productos de PCR se analizaron directamente por electroforesis en gel de agarosa al 0.8% con amortiguador TBE 0.5X durante 2 hrs, utilizando un marcador de

peso molecular con bandas de 1 kb. Posteriormente, el gel se tiñe con bromuro de etidio y se observa con luz ultravioleta. Un producto de PCR de 3.2 kb indica la delección del gen *CYP2D6* y un producto de 5.1 kb indica el alelo normal.

Tabla 10. Secuencia de oligonucleótidos usados para la amplificación de *CYP2D6**5.

Oligonucleótidos*	Secuencia	Tamaño
P13	5'- ACC GGG CAC CTG TAC TCC TCA -3'	21 pb
P24	5'- GCA TGA GCT AAG GCA CCC AGA C -3'	22 pb
DPKup	5' - GTT ATC CCA GAA GGC TTT GCA GGC TTC A - 3'	28 pb
DPKlow	5' - GCC GAC TGA GCC CTG GGA GGT AGG TA - 3'	26 pb

*NOTA: La secuencia y ubicación de los oligonucleótidos está dada de acuerdo a la secuencia del gen *CYP2D6*.
(Código de acceso GeneBank No. M33388)

Las condiciones específicas de la reacción de PCR para la genotipificación del polimorfismo *CYP2D6**5 se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 11. Reactivos y condiciones de la reacción de PCR–alelo específico para la detección del polimorfismo *CYP2D6**5.

Reactivo	[Concentración]	Cantidad	
DNA	[\approx 400 ng / μ L]	1 - 3 μ L	
P13	[100 ng / μ L]	0.4 μ L	
P24	[100 ng / μ L]	0.4 μ L	
DPKup	[100 ng / μ L]	0.8 μ L	
DPKlow	[100 ng / μ L]	0.8 μ L	
Enzima <i>Expand Long Template</i>	[5 U / μ L]	0.75 μ L	
dNTP's	10 mM	1.75 μ L	
DMSO	[5%]	2.5 μ L	
Amortiguador 10X #1	---	5 μ L	
Agua grado Inyectable	---	Aforar a 30 μ L	
Condiciones de reacción			
Desnaturalización inicial	Desnaturalización, hibridación y extensión	Extensión final	Ciclos
94° C 10 min	94° 1 min, 65° 30 seg, 68° 5 min	68° 10 min	35

La ubicación de los oligonucleótidos está dada de acuerdo a la secuencia del gen *CYP2D6*, con excepción del oligonucleótido Dup, el cual está localizado en la región intergénica entre *CYP2D7P* y *CYP2D6* (Neville, 2002; Fuselli, 2004).

5.9. Análisis estadístico

La información obtenida de los sujetos de estudio se analizó con el test de chi-cuadrada (χ^2), calculando los intervalos de confianza al 95%, y se comparó con la población mestizo mexicana.

6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Análisis electroforético del DNA cromosómico

Las integridad del DNA cromosómico de los individuos mayas y controles se evaluó por electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, teñido con bromuro de etidio y visualizado con luz ultravioleta. En la *Figura 18* se muestra un gel en donde se observa la integridad del DNA cromosómico de las muestras utilizadas.

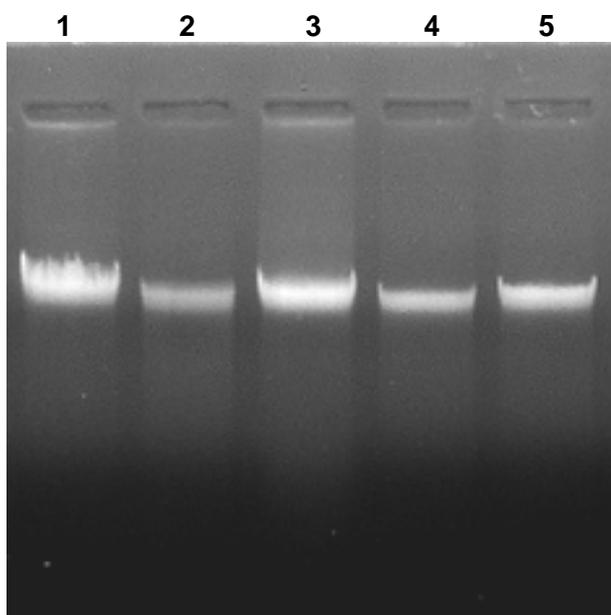


Figura 18. DNA cromosómico visualizado en gel de agarosa al 0.8% con luz UV. En los carriles 1 a 5 se observa la banda característica del DNA cromosómico íntegro. Tomada en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

6.2. Análisis espectrofotométrico del DNA cromosómico

Las muestras de DNA cromosómico de los mayas y controles estudiados se cuantificaron por espectrofotometría de absorción UV, encontrándose una concentración promedio de 150–200 ng/ μ L y 250–400 ng/ μ L, respectivamente. La pureza promedio de las muestras mayas y controles fue de 1.65 y 1.90, respectivamente. El valor óptimo de la pureza va de 1.8–2.0, valores por fuera de este intervalo indican contaminación de la muestra.

6.3. Genotipificación de los alelos *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* y *CYP2D6*10*

Los productos de PCR de cada polimorfismo se identificaron en geles de agarosa utilizando un marcador de peso molecular con un patrón de bandas conocido. La longitud de los productos de amplificación se muestra en la *Tabla 12*.

Tabla 12. Productos de amplificación de PCR para cada polimorfismo.

Polimorfismo	Producto de amplificación
<i>CYP2D6*3</i>	270 pb
<i>CYP2D6*4</i>	355 pb
<i>CYP2D6*10</i>	433 pb

En el caso de *CYP2D6*3* y *CYP2D6*10*, la presencia del polimorfismo genera un nuevo sitio de corte para la enzima de restricción, por lo que los fragmentos esperados para un heterocigoto son las combinaciones de los fragmentos generados en un homocigoto normal y un homocigoto anormal. Mientras que para *CYP2D6*4* la presencia del polimorfismo elimina el único sitio de corte que reconoce la enzima de restricción; en consecuencia, un homocigoto anormal presenta un fragmento con la misma longitud que el producto de PCR (*Tabla 8*).

En las *Figuras 19A*, *19B* y *19C* se muestran los genotipos encontrados para cada uno de los polimorfismos de *CYP2D6*, que fueron identificados en geles de poliacrilamida al 4.5% (*CYP2D6*4* y *CYP2D6*10*) y 8.5% (*CYP2D6*3*).

6.4. Genotipificación del alelo *CYP2D6*5*

Se identificaron dos fragmentos de amplificación para el polimorfismo *CYP2D6*5*, uno de 5.1 kb que representa el homocigoto silvestre o normal, y el segundo de 3.2 kb que representa el homocigoto para la delección completa del gen *CYP2D6*. En la *Figura 19D* se muestra un gel de agarosa con los tres genotipos que presenta este polimorfismo.

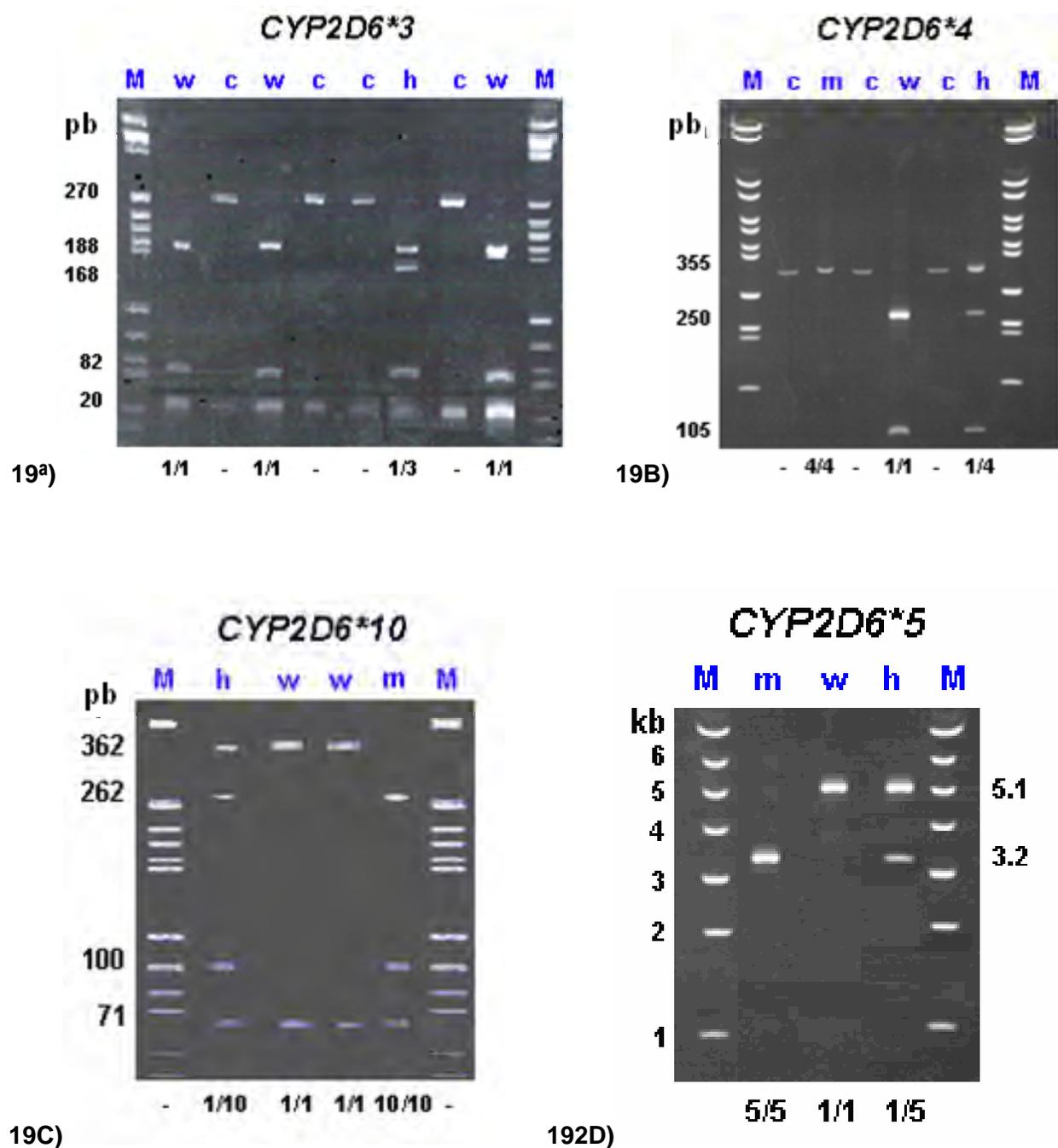


Figura 19. Fotografías de geles de acrilamida (A, B, C) y agarosa (D) con los genotipos obtenidos para cada polimorfismo. Cada genotipo se identifica por el patrón de bandas generado por la restricción enzimática.

A) *CYP2D6*3*, B) *CYP2D6*4*, C) *CYP2D6*10*, D) *CYP2D6*5*. M = marcador de peso molecular, w = homocigoto silvestre, h = heterocigoto, m = homocigoto anormal, c = producto de PCR.

Tomadas en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

6.5. Frecuencias genotípicas y alélicas de *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5 y *CYP2D6**10

Se caracterizaron los polimorfismos *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5 y *CYP2D6**10 en las 124 muestras mayas y en los 372 controles. A partir de los resultados obtenidos se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas. En las *Tablas 13* y *14* se muestran las frecuencias obtenidas.

Tabla 13. Frecuencias genotípicas en población maya y control.

Genotipos <i>CYP2D6</i>	Fenotipo metabolizador esperado	Controles		Mayas	
		n	%	n	%
Homocigoto normal *1/*1	Extenso (EM)	271	72.8	98	79
Heterocigoto *1/*3	Extenso (EM)	1	0.3	4	3.2
Heterocigoto *1/*4	Extenso (EM)	50	13.5	8	6.5
Heterocigoto *1/*5	Extenso (EM)	17	4.6	3	2.4
Heterocigoto *1/*10	Extenso (EM)	26	7	4	3.2
Heterocigoto compuesto *3/*10	Intermedio (IM)	0	0	1	0.8
Heterocigoto compuesto *4/*10	Intermedio (IM)	2	0.5	6	4.9
Homocigoto anormal *10/*10	Intermedio (IM)	2	0.5	0	0
Homocigoto anormal *3/*3	Lento (PM)	0	0	0	0
Homocigoto anormal *4/*4	Lento (PM)	2	0.5	0	0
Homocigoto anormal *5/*5	Lento (PM)	1	0.3	0	0

Tabla 14. Frecuencias alélicas en población maya y control.

Alelos <i>CYP2D6</i>	Controles		Mayas	
	n	%	n	%
*1	273	73.4	90	72.6
*3	1	0.3	5	4.0
*4	52	14	14	11.3
*5	18	4.8	3	2.4
*10	28	7.5	12	9.7

Se calculó el equilibrio de Hardy–Weinberg ($1 = p^2 + 2pq + q^2$) para cada polimorfismo y se encontró que ambas poblaciones están en equilibrio. En la población maya se encontraron frecuencias de 79%, 3.2%, 6.5%, 2.4% y 3.2% para los genotipos (*1/*1), (*1/*3), (*1/*4), (*1/*5) y (*1/*10), respectivamente. También se encontró una frecuencia de 0.8% y 4.9% para los genotipos heterocigotos compuestos (*3/*10) y (*4/*10), respectivamente. No se encontraron homocigotos anormales para ningún polimorfismo. En cuanto a las frecuencias alélicas, para el alelo normal *1 se obtuvo una frecuencia de 72.6%. El alelo no funcional *3, que se identifica por la variación *del A*₂₆₃₇ en el exón 5 de *CYP2D6*, presentó una frecuencia de 4%, mientras que la variación *G*₁₉₃₄A, que identifica al alelo *4, presentó una frecuencia de 11.3%. Para el

alelo *5, que representa la delección completa del gen *CYP2D6*, se encontró una frecuencia de 2.4%. Por último, para el alelo *10, identificado por la transición $C_{188}T$, se encontró una frecuencia de 9.7% para el grupo grupo maya estudiado.

En la población control se tienen frecuencias alélicas de 73.4%, 0.3%, 14%, 4.8% y 7.5% para los alelos *1, *3, *4, *5 y *10, respectivamente. Las frecuencias genotípicas para el homocigoto normal ($^{*1}/^{*1}$) y los heterocigotos ($^{*1}/^{*3}$), ($^{*1}/^{*4}$), ($^{*1}/^{*5}$) y ($^{*1}/^{*10}$) son de 72.8%, 0.3%, 13.5%, 4.6% y 7%, respectivamente. Se encontró una frecuencia de 0.5% para los genotipos ($^{*4}/^{*4}$), ($^{*4}/^{*10}$) y ($^{*10}/^{*10}$); y una frecuencia de 0.3% para el genotipo ($^{*5}/^{*5}$).

Con los genotipos encontrados se puede inferir el fenotipo esperado en cada uno de los individuos de estudio, tanto de la población maya como de la población control. Los fenotipos esperados en base al genotipo se muestran en la *Tabla 15*.

Tabla 15. Fenotipos metabolizadores encontrados para *CYP2D6* en base al genotipo.

Fenotipo metabolizador	Controles		Mayas	
	n	%	n	%
Extenso (EM)	365	98.2	117	94.3
Intermedio (IM)	4	1.0	7	5.7
Pobre o Lento (PM)	3	0.8	0	0

6.6. Análisis estadístico.

Se realizó una comparación utilizando la prueba estadística de χ^2 entre la población maya estudiada y la población control para ver si existe diferencia significativa entre portadores y no portadores para cada uno de los polimorfismos de *CYP2D6* estudiados, así como para sus respectivos genotipos. En la *Tabla 16* se muestran los resultados de la prueba χ^2 realizada, mientras que en la *Tabla 17* se observa la comparación de la población maya con respecto a otras poblaciones a nivel mundial.

Gracias a la prueba estadística se puede observar que existe una diferencia significativa ($p < 0.0009$) entre portadores y no portadores del polimorfismo *CYP2D6**3 entre mayas y mestizos mexicanos.

Tabla 16. Análisis estadístico de los polimorfismos de *CYP2D6*.

Mayas vs Mestizos	χ^2	IC 95%	p
CYP2D6*3			
Portadores vs No portadores	11.02	1.71 - 739.19	0.0009
CYP2D6*4			
Portadores vs No portadores	0.58	0.39 - 1.5	0.445
Heterocigotos vs No heterocigotos	0.38	0.4 - 1.58	0.536
Homocigotos anormales vs No anormales	0.67	0 - 16	0.413
CYP2D6*5			
Portadores vs No portadores	1.34	0.09 - 1.71	0.246
Heterocigotos vs No heterocigotos	1.11	0.1 - 1.84	0.291
Homocigotos anormales vs No anormales	0.33	0 - 117	0.563
CYP2D6*10			
Portadores vs No portadores	0.58	0.59 - 2.78	0.446
Heterocigotos vs No heterocigotos	0.95	0.63 - 3.04	0.329
Homocigotos anormales vs No anormales	0.67	0 - 16	0.413

Tabla 17. Frecuencias alélicas de *CYP2D6* en población maya y en otras poblaciones.

Población	n	*3	*4	*5	*10	Referencia
Caucásica						
Norte América	143	1.4	19.9	2.1	8.0	Wan, 2001
	208	1.0	17.5	3.8	1.9	Gaedigk, 1999
España	258	1.2	11.6	1.6	-	Agúndez, 1994
Alemania	195	1.0	19.5	4.1	2.0	Griese, 1998
	589	2.0	20.7	2.0	1.5	Sachse, 1997
Negra						
Gahana	193	0	7.0	0.6	3.1	Griese, 1999
Tanzania	106	0	0.9	6.1	3.8	Wennerholm, 2001
Etiopía	122	0	1.2	3.3	8.6	Akillu, 1996
Asiática						
Norte América	154	0.3	7.8	6.2	7.5	Wan, 2001
	193	0.3	7.5	6.2	3.9	Gaedigk, 2001
China	127	0.8	1.2	ND	70.0	Wang, 1993
	179	1.0	< 1	5.7	50.0	Ling, 2002
Japón	206	-	-	4.5	38.1	Nishida, 2000
	98	-	0.5	6.1	40.8	Tateishi, 1999
Amerindia						
México Americanos	349	< 1	10.3	2.3	7.4	Mendoza, 2001
Ngawbel (Panamá)	105	0	17.1	0	17.5	Jorge, 1999
Embera (Colombia)	136	0	14.0	0	6.9	Jorge, 1999
Mapuche (Chile)	84	0	3.6	4.2	1.8	Muñoz, 1998
Mestizos Mexicanos	243	1.4	11.2	2.7	12.4	López, 2005
Mayas	124	4.0	11.3	2.4	9.7	Este estudio

(Tomada de Abraham, 2001; Bradford, 2002)

7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas encontradas en la población maya estudiada son diferentes a las frecuencias de la población mestizo mexicana con la cual se compararon. Se observa que los alelos *CYP2D6*4* y *CYP2D6*5* tienen frecuencias menores en el grupo maya, mientras que los alelos *CYP2D6*3* y *CYP2D6*10* tienen una frecuencia ligeramente mayor, con respecto a la población mestizo mexicana (*Tabla 14*).

La frecuencia de *CYP2D6*3* (4%) encontrada en los mayas estudiados en comparación con lo reportado en mestizos mexicanos (1.4%) puede ser resultado del mestizaje con los españoles en la época de la conquista, ya que este alelo es característico de la población caucásica.

Los primeros nativos amerindios llegaron a lo que hoy es América a través del puente formado en la era glacial en el estrecho de Bering entre los años 30,000–12,000 A.C. (*Figura 20*), esto se concluye por similitudes culturales, morfológicas y genéticas entre poblaciones americanas y asiáticas. También se ha descubierto evidencia que sugiere que existieron dos vías de migración transatlántica desde Asia antes de que Colón llegara a América (*Arnaiz, 2000*). Esto explicaría la frecuencia encontrada de *CYP2D6*10* (9.7%) en la población de estudio. Este alelo, característico de la población asiática, pudo haber llegado con dichas migraciones y, posteriormente, debido a la endogamia que existía entre los grupos amerindios de esa época fue aumentando gradualmente su frecuencia (*Tabla 14*).

En cuanto a los fenotipos de *CYP2D6*, en la *Tabla 15* se observa que el fenotipo predominante en la población maya y en la población control es el EM, con 94.3% y 98.2%, respectivamente. En la *Tabla 13* se observan los fenotipos esperados en base al genotipo. Aún cuando se tengan individuos heterocigotos para alguno de los polimorfismos estudiados (**3*, **4*, **5* o **10*), la copia funcional del gen *CYP2D6* (**1*) es suficiente para que estos individuos presenten un metabolismo normal. En cuanto a los fenotipos IM, se observa una frecuencia de 5.7% y 1% en la población maya y control, respectivamente. Se espera un fenotipo IM cuando los individuos poseen dos copias del alelo *CYP2D6*10* (actividad reducida), o cuando poseen una copia de *CYP2D6*10* y una copia de algún alelo no funcional del gen (*CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* o *CYP2D6*5*). En el caso de la población maya se tienen seis individuos heterocigotos compuestos $^{*4}/_{*10}$ y un heterocigoto compuesto $^{*3}/_{*10}$, sin encontrarse homocigotos

$^{*10}/_{*10}$. En la población control se encontraron dos individuos heterocigotos compuestos $^{*4}/_{*10}$ y dos homocigotos $^{*10}/_{*10}$. Con respecto al fenotipo PM en población control se encontraron dos homocigotos $^{*4}/_{*4}$ y uno $^{*5}/_{*5}$, mientras que en la población maya no se encontró ningún genotipo asociado a este fenotipo.

■ Rutas transatlánticas (20,000 A.C.) ■ Ruta por estrecho de Bering (30,000–12,000 A.C.)



Figura 20. Posibles rutas antiguas de migración que dieron lugar a los primeros nativos amerindios.
(Tomada y modificada de *Mapas de México*)

El análisis estadístico realizado para comparar la población maya con la población mestizo mexicana (*Tabla 16*) muestra que se encontró una diferencia significativa para el polimorfismo *CYP2D6*3* al comparar los individuos portadores contra los no portadores ($p < 0.0009$). Esta diferencia es consecuencia de la mayor frecuencia alélica de *CYP2D6*3* en el grupo maya con respecto al grupo mestizo. No hubo diferencias significativas para ninguno de los otros polimorfismos estudiados.

Al comparar las frecuencias alélicas de la población maya estudiada con lo reportado en otras poblaciones amerindias y mexicanas (*Tabla 17*), se observa que la frecuencia del alelo

*CYP2D6*3* (4%) es mucho mayor que en amerindios (0%) de Panamá, Colombia, Chile, mestizos mexicanos (0.3%) y mexicanos americanos (< 1%). La frecuencia de *CYP2D6*4* (11.3%) es mayor a lo reportado en amerindios mapuches (3.6%), menor a los amerindios de Panamá (17.1%) y Colombia (14%), pero similar a mexicanos americanos (10.3%). La frecuencia de *CYP2D6*5* (2.4%) es similar a la de mexicanos americanos (2.3%), mayor a los amerindios de Panamá y Colombia (0%), pero menor a mapuches (4.2%) y mestizos mexicanos (7.5%) (*Bradford, 2002*). Para el alelo *CYP2D6*10* se encontró una frecuencia de 9.7%, que es mayor a mexicanos americanos (7.4%), mestizos mexicanos (7.5%) y amerindios de Colombia (6.9%) y Chile (1.8%), pero menor a los amerindios de Panamá (17.5%). Estos resultados demuestran la gran variabilidad interétnica que existe en la frecuencia de los polimorfismos de *CYP2D6*.

Las poblaciones mayas del estado de Yucatán, como la que se estudió, que habitaban en regiones geográficamente accesibles pudieron sufrir un mayor mestizaje con los conquistadores españoles, además de la posible mezcla con aztecas, totonacas y otras étnias, en comparación con otras poblaciones mayas que habitaban regiones montañosas más aisladas, como las estudiadas por *Herrera, 2007*. Debido a esto, y posiblemente a la endogamia de las poblaciones amerindias, la frecuencia de varios polimorfismos fue incrementándose con el paso del tiempo (*Collins, 2004*). Esto podría explicar la elevada frecuencia de *CYP2D6*4* y *CYP2D6*10* observada en la población estudiada.

Otra razón que puede explicar la relativa heterogeneidad en la frecuencia de los polimorfismos de *CYP2D6* en la población maya estudiada es que las poblaciones amerindias pudieron surgir a partir de un número pequeño de individuos y que la presencia de dichas variantes es producto de un efecto fundador combinado con la endogamia.

8. CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

En base a los datos obtenidos se concluye que la población maya estudiada posee heterogeneidad génica respecto a otras poblaciones.

Se determinaron las frecuencias alélicas de los polimorfismos *CYP2D6**3, *4, *5 y *10 en una población de origen maya, encontrándose valores de 4.0%, 11.3%, 2.4% y 9.7%, respectivamente.

Se encontró una diferencia significativa en la frecuencia del alelo *CYP2D6**3 en los mayas estudiados (4.0%) con respecto a los mestizos mexicanos (1.4%).

El alelo *CYP2D6**4, característico de población caucásica, presentó la mayor frecuencia (11.3%) en la población estudiada. Sin embargo, es menor a la que se presenta en mestizos mexicanos (14%).

Se encontró una frecuencia de 0% de individuos con fenotipo PM dentro de la población maya. Sin embargo, se encontró un elevado número de heterocigotos compuestos (seis $^{*4}/_{*10}$ y uno $^{*3}/_{*10}$), en comparación con población mestizo mexicana.

Se encontraron dos genotipos distintos que pueden dar lugar a un fenotipo metabolizador intermedio (IM), $^{*4}/_{*10}$ y $^{*3}/_{*10}$. La frecuencia de posibles individuos con fenotipo IM en el grupo maya fue de 7%.

APÉNDICE

APÉNDICE

Secuencia completa del gen CYP2D6

NCBI Nucleotide

Search Nucleotide for [] Go

Display GenBank Show 5 Send to Hide: [] sequence []

Range: from begin to end [] Reverse complemented strand Features: []

1: [M33388](#). [Reports](#) Human cytochrome ...[gi:181303]

LOCUS HUMCYP2D6 9432 bp DNA linear PRI 22-NOV-1994

DEFINITION Human cytochrome P450 IID6 (CYP2D6) gene, complete cds.

ACCESSION M33388

VERSION M33388.1 GI:181303

KEYWORDS cytochrome P450; cytochrome P450 IID6.

SOURCE Homo sapiens (human)

ORGANISM [Homo sapiens](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.

REFERENCE 1 (bases 1 to 9432)
 AUTHORS Kimura,S., Umeno,M., Skoda,R.C., Meyer,U.A. and Gonzalez,F.J.
 TITLE The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene
 JOURNAL Am. J. Hum. Genet. 45 (6), 889-904 (1989)
 PUBMED [2574001](#)

COMMENT Original source text: Human DNA, clone lambda2D-18/2.
 Draft entry and computer-readable sequence for [Am. J. Hum. Genet. 45, 889-904 (1989)] kindly submitted by S.Kimura, 29-MAR-1990.

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..9432
 /organism="Homo sapiens"
 /mol_type="genomic DNA"
 /db_xref="taxon:[9606](#)"
 /map="22q13.1"
[gene](#) join(1532..1799,2503..2674,3225..3377,3466..3626,4060..4236,4427..4568,4776..4963,5418..5559,5658..5909)
 /gene="CYP2D6"
[mRNA](#) join(1532..1799,2503..2674,3225..3377,3466..3626,4060..4236,4427..4568,4776..4963,5418..5559,5658..5909)
 /gene="CYP2D6"
 /product="cytochrome P450 IID6"
 /note="G00-132-127"
[exon](#) 1532..1799

```

        /gene="CYP2D6"
        /note="cytochrome P450 IID6; G00-132-127"
        /number=1
CDS      join(1620..1799,2503..2674,3225..3377,3466..3626,
        4060..4236,4427..4568,4776..4963,5418..5559,5658..5836)
        /gene="CYP2D6"
        /codon_start=1
        /product="cytochrome P450 IID6"
        /protein_id="AAA53500.1"
        /db_xref="GI:181304"
        /db_xref="GDB:G00-132-127"

/translacion="MGLEALVPLAVIVAIFLLLVDLMHRRQRWAARYPPGPLPLPGLG
NLLHVDFQNTPYCFDQLRRRFGDVFSLQLAWTPVVVLNGLAAVREALVTHGEDTADRP
PVPITQILGFGPRSQGVFLARYGPAWREQRRFSVSTLRNLGLGKKSLEQWVTEEAACL
CAAFANHSGRPFPRPNGLLDKAVSNVIASLTCGRRFEYDDPRFLRLLDLAQEGKKEESG
FLREVLNAVAVLLHIPALAGKVLRFQKAFLTQLDELLTEHRMTWDPAQPPRDLTEAFL
AEMEKAKGNPESSFNDENLRIVVADLFSAGMVTSTTTLAWGLLLMILHPDVQRRVQQE
IDDVIGQVRRPEMGDQAHMPYTTAVIHEVQRFGDIVPLGVTHMTSRDIEVQGFRIPKG
TTLITNLSSVLKDEAVWEKPFRLFHPEHFLDAQGHFVKPEAFLLPFSAGRRACLGEPLAR
        MELFLFFTSLQLQHFSSVPTGQPRPSHHGVFAFLVSPSPYELCAVPR"
intron   1800..2502
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=1
exon     2503..2674
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=2
intron   2675..3224
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127; does not fit consensus"
        /number=2
exon     3225..3377
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=3
intron   3378..3465
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=3
exon     3466..3626
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=4
intron   3627..4059
        /gene="CYP2D6"
        /note="G00-132-127"
        /number=4
exon     4060..4236

```

```

                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=5
    intron      4237..4426
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=5
    exon        4427..4568
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=6
    intron      4569..4775
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=6
    exon        4776..4963
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=7
    intron      4964..5417
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=7
    exon        5418..5559
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=8
    intron      5560..5657
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=8
    exon        5658..5909
                /gene="CYP2D6"
                /note="G00-132-127"
                /number=9

```

ORIGIN

```

    1 gaattcaaga ccagcctgga caacttggaa gaaccggtc tctacaaaaa atacaaaatt
    61 agctgggatt ggggtgcggtg gctcatgcct ataatcccag cactttggga gcctgaggtg
   121 ggtggatcac ctgaagtcag gagttcaaga ctagcctggc caacatgggtg aaaccctatc
   181 tctactgaaa atacaaaaag ctagacgtgg tggcacacac ctgtaatccc agctacttag
   241 gaggctgagg caggagaatt gcttgaagcc tagaggtgaa ggttgtagtg agccgagatt
   301 gcatcattgc acaatggagg ggagccacca gcctgggcaa caagaggaaa tctccgtctc
   361 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaagaattag gctgggtggt gcctgtagtc ccagctactt
   421 gggaggcagg ggggtccactt gatgtcgaga ctgcagtgag ccatgatcct gccactgcac
   481 tccggcctgg gcaacagagt gagaccctgt ctaaagaaaa aaaaaataaa gcaacatatac
   541 ctgaacaaag gatcctccat aacgttccca ccagatttct aatcagaaac atggaggcca
   601 gaaagcagtg gaggaggacg accctcaggg agcccgggag gatgttgtca caggctgggg
   661 caagggcctt cgggtacca actgggagct ctgggaacag ccctgttgca aacaagaagc
   721 catagcccgg ccagagccca ggaatgtggg ctgggctggg agcagcctct ggacaggagt
   781 ggtcccattc aggaaacctc cggcatggct ggggaagtgg gtacttgggtg ccgggtctgt
   841 atgtgtgtgt gactggtgtg tgtgagagag aatgtgtgcc ctaagtgtca gtgtgagtct
   901 gtgtatgtgt gaatatgttc tttgtgtggg tgattttctg cgtgtgtaat cgtgtccctg
   961 caagtgtgaa caagtggaca agtgtctggg agtggacaag agatctgtgc accatcaggt
  1021 gtgtgcatag cgtctgtgca tgtcaagagt gcaaggtgaa gtgaagggac caggcccatg
  1081 atgccactca tcatcaggag ctctaaggcc ccaggtaagt gccagtgaca gataaggggtg
  1141 ctgaaggtca ctctggagtg ggcaggtggg ggtagggaaa gggcaaggcc atgttctgga
  1201 ggaggggttg tgactacatt aggggtgatg agcctagctg ggaggtggat ggccgggtcc

```

1261 actgaaaccc tggttatccc agaaggcttt gcaggcttca ggagcttggga gtggggagag
 1321 ggggtgactt ctccgaccag gccctccac cggcctaccc tgggtaaggg cctggagcag
 1381 gaagcagggg caagaacctc tggagcagcc cataccgcc ctggcctgac tctgccactg
 1441 gcagcacagt caacacagca ggttcactca cagcagaggg caaaggccat catcagctcc
 1501 ctttataaag gaagggtcac gcgctcggtg tgctgagagt gtcctgcctg gtcctctgtg
 1561 cctggtgggg tgggggtgcc aggtgtgtcc agaggagccc atttggtagt gaggcaggtg
 1621 tggggctaga agcactgggtg cccctggccg tgatagtggc catcttctctg ctctgggtgg
 1681 acctgatgca ccggcgccaa cgctgggctg cacgctaccc accaggcccc ctgccactgc
 1741 ccgggctggg caacctgctg catgtggact tccagaacac accatactgc ttcgaccagg
 1801 tgagggagga ggtcctggag ggcggcagag gtgctgaggc tcccctacca gaagcaaca
 1861 tggatgggtg gtgaaaccac aggtgggacc agaagccagg ctgagaaggg gaagcaggtt
 1921 tgggggacgt cctggagaag ggcatttata catggcatga aggactggat tttccaaagg
 1981 ccaaggaaga gtagggcaag ggcctggagg tggagctgga cttggcagtg ggcattgcaag
 2041 cccattgggc aacatatggt atggagtaca aagtcccttc tgctgacacc agaaggaaag
 2101 gccttgggaa tggagatga gttagtctctg agtgccgttt aaatcacgaa atcgaggatg
 2161 aagggggtgc agtgaccggg ttcaaacctt ttgactgtg ggtcctcggg cctcactgcc
 2221 tcaccggcat ggaccatcat ctgggaatgg gatgctaact ggggcctctc ggcaattttg
 2281 gtgactcttg caaggtcata cctgggtgac gcatccaaac tgagtctctc catcacagaa
 2341 ggtgtgaccc ccacccccgc cccacgatca ggaggctggg tctcctcctt ccacctgctc
 2401 actcctggta gccccggggg tcgtccaagg ttcaaatagg actaggacct gtagtctggg
 2461 gtgatcctgg cttgacaaga ggcctgacc ctccctctgc agttgcggcg ccgcttcggg
 2521 gacgtgttca gcctgcagct ggcctggacg ccgggtggtcg tgctcaatgg gctggcggcc
 2581 gtgcgcgagg cgctgggtgac ccacggcgag gacaccgccg accgcccgc tgtgccatc
 2641 acccagatcc tgggtttcgg gccgcgttcc caaggcaagc agcgggtggg acagagacag
 2701 atttccgtgg gaccggggtg ggtgatgacc gtagtccgag ctgggcagag agggcgcggg
 2761 gtcgtggaca tgaacaggc cagcagagtgg ggacagcggg ccaagaaacc acctgacta
 2821 gggaggtgtg agcatgggga cgaggcgggg gcttgtgacg agtggcgggg gccactgccc
 2881 agacctggca ggagcccaat ggggtgagctg ggcgcatttc ccagctggaa tccggtgtcg
 2941 aagtgggggc ggggaccgca cctgtgctgt aagctcagtg tgggtggcgc gggggccgcg
 3001 gggctctccc tgagtgcaaa ggcggtcagg gtgggcagag acgaggtggg gcaaagcctg
 3061 cccagccaa gggagcaagg tggatgcaca aagagtgggc cctgtgacca gctggacaga
 3121 gccagggact gcgggagacc agggggagca tagggttggga gtgggtggtg gatggtgggg
 3181 ctaatgcctt catggccacg cgcacgtgcc cgtcccacc ccagggtgt tccctggcgcg
 3241 ctatgggccc gcgtggcgcg agcagagggc cttctcctg tccacctgac gcaacttggg
 3301 cctgggcaag aagtgcctgg agcagtggtg gaccgaggag gccgcctgcc tttgtgccgc
 3361 cttcgccaac cactccgggtg ggtgatgggc agaagggcac aaagcgggaa ctgggaaggc
 3421 gggggacggg gaaggcgacc ccttaccgc atctcccacc cccaggacgc cctttcgcc
 3481 ccaacggtct cttggacaaa gccgtgagca acgtgatcgc ctccctcacc tgcgggcgc
 3541 gcttcgagta cgacgacct cgcttctca ggctgctgga cctagctcag gagggactga
 3601 aggaggagtc gggctttctg cgcgaggtgc ggagcgagag accgaggagt ctctgcaggg
 3661 cgagctccc agaggtgccg gggctggact ggggcctcgg aagagcagga tttgcataga
 3721 tgggtttggg aaaggacatt ccaggagacc ccaactgtaag aagggcctgg aggaggaggg
 3781 gacatctcag acatggtcgt gggagaggtg tgcccgggtc agggggcacc aggagaggcc
 3841 aaggactctg tacctcctat ccacgtcaga gatttcgatt ttaggtttct cctctgggca
 3901 aggagagagg gtggaggctg gcaacttggg agggacttgg tgaggtcagt ggtaaggaca
 3961 ggcaggccct gggctacct ggagatggt ggggcctgag acttgtccag gtgaacgcag
 4021 agcacaggag ggattgagac cccgttctgt ctggtgtagg tgctgaatgc tgtcccctc
 4081 ctctgcata tcccagcgt ggcctggcaag gtcctacgct tccaaaaggc tttcctgacc
 4141 cagctggatg agctgctaac tgagcacagg atgacctggg acccagccca gccccccga
 4201 gacctgactg aggccttctt ggcagagatg gagaaggtga gagtggctgc cacggtgggg
 4261 ggcaaggggtg gtgggttgag cgtcccagga ggaatgaggg gaggtgggc aaaaggttgg
 4321 accagtgcac caccggcgga gccgcactctg ggctgacagg tgcagaattg gaggtcattt
 4381 gggggctacc ccgttctgtc ccgagtatgc tctcggccct gctcaggcca aggggaacc
 4441 tgagagcagc ttcaatgatg agaacctgcg catagtgggtg gctgacctgt tctctgccgg
 4501 gatggtgacc acctcgacca cgctggcctg gggcctcctg ctcatgatcc tacatccgga
 4561 tgtgcagcgt gagcccatct gggaaacagt gcaggggccc agggaggaag ggtacaggcg
 4621 ggggcccatt aactttgctg ggacaccggg ggctccaagc acaggcttga ccaggatcct

4681 gtaagcctga cctcctccaa cataggagggc aagaaggagt gtcagggccg gaccccctgg
4741 gtgctgaccc attgtgggga cgcattgtctg tccaggccgt gtccaacagg agatcgacga
4801 cgtgataggg caggtgcggc gaccagagat gggtgaccag gctcacatgc cctacaccac
4861 tgccgtgatt catgaggtgc agcgctttgg ggacatcgtc cccctgggtg tgaccatata
4921 gacatcccgt gacatcgaag tacagggcct ccgcatccct aaggtaggcc tggcgccctc
4981 ctcaccccag ctcagcacca gcacctggtg atagccccag catggetact gccaggtggg
5041 cccactctag gaaccctggc cacctagtc tcaatgccac cacactgact gtccccactt
5101 ggggtgggggg tccagagtat aggcagggct ggctgtcca tccagagccc ccgtctagtg
5161 gggagacaaa ccaggacctg ccagaatggt ggaggacca acgctgagc ggagaggggg
5221 cagtgatggg gcctctgaga ggtgtgact cgccctgctg tggggtcgga gagggtactg
5281 tggagcttct cgggcgcagg actagttgac agagtccagc tgtgtgccag gcaagtgtgtg
5341 tccccctgtg gtttgggtggc aggggtccca gcatcctaga gtccagtccc cactctcacc
5401 ctgcatctcc tgcccagggg acgacactca tcaccaacct gtcactcgtg ctgaaggatg
5461 aggcctgtct ggagaagccc ttcgcttcc accccgaaca cttcctggat gccagggcc
5521 actttgtgaa gccggaggcc ttcctgcctt tctcagcagg tgctgtggg gagcccggct
5581 ccctgtcccc ttcctgtggg tcttgacagg gtatcaccca ggagccaggc tcaactgacg
5641 ccctcccctc cccacaggcc gccgtgcatg cctcggggag cccctggccc gcatggagct
5701 cttcctcttc ttcacctccc tgetgcagca cttcagcttc tcggtgccca ctggacagcc
5761 cgggcccagc caccatggtg tctttgcttt cctggtgagc ccatccccct atgagctttg
5821 tgctgtgccc cgctagaatg gggtagctag tccccagcct gctccctagc cagaggctct
5881 aatgtacaat aaagcaatgt ggtagttcca actcgggtcc cctgctcacg ccctcgttgg
5941 gatcatcctc ctcagggcaa ccccaccct gcctcattcc tgcttaccac accgcctggc
6001 cgcatttgag acaggggtac gttgaggtg agcagatgtc agttaccctt gcccataatc
6061 ccattgtccc cactgaccca actctgactg cccagattgg tgacaaggac tacattgtcc
6121 tggcatgtgg ggaaggggccc agaatgggct gactagaggt gtcagtcagc cctggatgtg
6181 gtggagaggg caggactcag cctggaggcc catatttcag gcctaactca gccaccacca
6241 catcagggac agcagtcctg ccagcaccat cacaacagtc acctccttc atatatgaca
6301 ccccaaaacg gaagacaaat catggcgtca gggagctata tgccagggct acctacctcc
6361 cagggctcag tcggcaggtg ccagaagctt cctggggaag gccccatgga agcccaggac
6421 tgagccacca cctcagcct cgtcacctca ccacaggact ggctacctct ctgggcccctc
6481 agggatgctg ctgtacagac ccctgaccag tgacgagttc gcactcaggg ccaggctggc
6541 gctggaggag gacacttggt tggctccaac cctaggtacc atcctcccag tagggatcag
6601 gcagggccca caggcctgcc ctagggacag gagtcaacct tggaccata aggcactggg
6661 gcgggcagag aaggaggagg tggcatgggc agctgagagc cagagaccct gaccctagtc
6721 cttgctctgc cattaccccg tgtgaccccg ggcccaccct tccccaccct tccccaccct
6781 gggcttctgt ttccttctgc caacgagaag gctgcttcac ctgcccagag tctgtcttc
6841 ctgctctgcc ttctggggct gtggcccttg ctggcctgga gcccacaacca agggcagggg
6901 ctgctgtcct ccacgtctgt cctcaccgac ataatgggct gggctgggca cacaggcagt
6961 gcccaagagt ttctaagtag catatgatta cctgagtcct gggcagacct tcttagggaa
7021 cagcctggga cagagaacca cagacactct gaggagccac cctgaggcct cttttgccag
7081 aggaccctac agcctccctg gcagcagttc cgccagcatt tctgtaaatg ccctcatgcc
7141 aggggtgcgg ccggtgtca gcacgagagg gacgttggte tgtcccctgg caccgagtca
7201 gtcagaaggg tggccagggc ccccttgggc cctccagag acaatccact gtggtcacac
7261 ggctcgggtg caggaagtgc tgttctgca gctgtgggga cagggagtgt ggatgaagcc
7321 aggctgggtt tgtctgaaga cggaggcccc gaaaggtggc agcctggcct atagcagcag
7381 caactcttgg atttattgga aagatttct tccaggttct gactctggg ggtgttagag
7441 gctcagaacc agtccagcca gagctctgtc atgggcagct agaccgggtc ccagggcctt
7501 tgctcttctg tgcctcaga ggcctctgca aagtagaac aggcagcctt gtgagtcctc
7561 tcctgggagc aaccaaccct cctctgaga tgccccgggg ccaggtcagc tgtggtgaaa
7621 ggtagggatg cagccagctc agggagtggc ccagagttcc tgcccacca aggaggtcc
7681 caggaaggtc aaggacctg actcctgggc tgettcctc cctcccctc cccaggtcag
7741 gaaggtggga aagggtggg gtgtctgtga cctggcagc cactgagaag caggggtggaa
7801 gcagccccct gcagcacgct gggctcagtg tcttaccaga tggatacga gcaacttct
7861 tttgaacctt tttattttcc tggcaggaag aagagggatc cagcagtgag atcaggcagg
7921 ttctgtgttg cacagacagg gaaacaggct ctgtccacac aaagtctgtg gggccaggat
7981 gaggcccagt ctgttcacac atggctgctg cctctcagct ctgcacagac gtctctgctc
8041 ccctgggatg gcagcttggc ctgctggctt tgggggtgag ccagcctcca gcactgcctc

8101 cctgccctgc tgcctcccac tctgcagtgc tccatggctg ctcagttgga cccacgctgg
8161 agacgttcag tcgaagcccc gggctgtcct tacctcccag tctgggggtac ctgccacctc
8221 ctgctcagca ggaatggggc taggtgcttc ctcccctggg gacttcacct gctctccctc
8281 ctgggataag acggcagcct cctccttggg ggcagcagca ttcagtcctc caggtctcct
8341 gggggctcgtg acctgcagga ggaataagag ggcagactgg gcagaaaggc cttcagagca
8401 cctcactcctc ctgttctcac actgggggtgt cacagtctctg ggaagttctt ccttttcagt
8461 tgagctgtgg taaccttgtg agtttctctg agggggcctg ccactacctt tgggactccc
8521 tgccgtgtgt ctgggtctaa ctgagctctg aaaggagaga gccccagccc tgggccttcc
8581 aggggaagcc ttacctcaga ggttggcttc ttctactctt tgactttgcy tctctgcaga
8641 gggaggtggg aggggtgaca caaccctgac acccacacta tgagtgatga gtagtctgcy
8701 cccgactggc ccatcctttc caggtgcagt ccccttact gtgtctgcca aggggtccag
8761 cacagccgcc cactccagg ggaagaggag tgccagccct taccacctga gtgggcacag
8821 tgtagcattt attcattagc cccacactg gcctgacct ctcccctgtg ggctgcatga
8881 caaggagaga gaacaggctg aggtgagagc tactgtcaac acctaaacct aaaaaatcta
8941 taattgggct gggcaggggtg gctcacgctt gtaatcccag cactttggga ggccgagatg
9001 ggtggatcac ctgaggtcag atgttcgaga ccagcctggc caacatgggt aaaccccgtc
9061 tctactaaaa atacaaaaaa ttagctgggc gtgggtgggtg gtgctgtaa tcccagctac
9121 tcaggaggct gaggcaggag aattgcttga acctgggagg cagaggctgc agtgagccga
9181 gatcgcacatca ttgcaactca gcctgggtcaa caagagtgaa actgtcttaa aaaaaaatc
9241 tataattgat atcttttagaa agataaaact ttgcattcat gaaataagaa taggaggggtc
9301 taaaataaaa atgttcaaac acccaccacc actaattctt gacaaaaata tagtctgggt
9361 gccttagctc atgcctgtaa tcccagcatt ttgggaggct aaggcaggag gattgtttga
9421 gcctaggaat tc

//

[Disclaimer](#) | [Write to the Help Desk](#)
[NCBI](#) | [NLM](#) | [NIH](#)

Last update: Thu, 03 Jul 2008 Rev. 132917

GLOSARIO

GLOSARIO

Absorbancia: Cantidad de luz de una longitud de onda específica que es absorbida por una solución de una sustancia en particular.

Alelo: Formas alterativas del mismo gen que ocupan el mismo *locus* en cromosomas homólogos, y que gobiernan las variantes en la producción del mismo producto génico.

Alícuota: Volumen o cantidad de masa que se va a emplear en una prueba de plataforma o de laboratorio. Se suele medir en mililitros o gramos. La alícuota de una muestra sólida debe realizarse diluyendo los gramos de muestra en un disolvente.

Amortiguador: Sistema químico cuya función es controlar el nivel de iones específicos en una solución. Cuando el nivel de hidrógeno en solución es controlado, el sistema se llama amortiguador de pH.

Balance electrolítico: Funciones implicadas en el mantenimiento del balance entre la ingesta, el almacenamiento, la utilización y la eliminación de electrolitos en el cuerpo.

Bioinformática: Rama de la biología encargada del desarrollo de técnicas para la recolección y manipulación de datos biológicos, y su uso para descubrimientos o predicciones biológicas. Este campo abarca todos los métodos y teorías computacionales aplicables a la Biología Molecular y otras áreas.

Biomarcador: Parámetros biológicos que pueden medirse y cuantificarse (ej. concentración enzimática, concentración hormonal, distribución genotípica de un gen dentro de una población) que sirven como índices para ensayos de salud, tales como riesgo de enfermedad, exposición ambiental y sus efectos, procesos metabólicos, embarazo, etc.

Biomoléculas: Moléculas que constituyen a los seres vivos, formadas principalmente por los elementos carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, representando alrededor del 99% de la masa de la mayoría de las células.

Biosíntesis: Formación anabólica de sustancias químicas dentro de los organismos, en las células o en fracciones subcelulares.

Biotransformación: Alteración química de una sustancia exógena dentro de o por efecto de un sistema biológico. Dicha alteración puede inactivar el compuesto o dar lugar a la formación de un metabolito activo.

Carcinogénesis: Formación de cáncer, carcinoma o cualquier otra neoplasia maligna, que consiste en el crecimiento tumoral de los tejidos incoordinados con las necesidades del organismo, alterando las funciones biológicas normales.

Codominancia: Estado de un gen en el que sus dos alelos son dominantes y, en consecuencia, se expresan al mismo tiempo, dando origen a un fenotipo característico.

Codón: Juego de tres nucleótidos (estrictamente en el mRNA pero, por extensión, en el DNA genómico de codificación) que especifica un aminoácido o una señal de detección de traducción.

Cofactor: Componente no proteico, termoestable y de bajo peso molecular, necesario para la acción de una enzima. Entre los cofactores más comunes se encuentran los iones metálicos (Fe^{2+} , Cu^{2+} , K^+ , Mn^{2+} , Mg^{2+} , entre otros) y moléculas orgánicas ó coenzimas.

Control monogénico: Característica o carácter fenotípico regulado por un solo gen.

Densidad óptica: Es la absorción de un elemento óptico por unidad de distancia, para una longitud de onda dada.

Desoxinucleósidos: Nucleósidos que han perdido el hidroxilo 2' del azúcar ribosa.

Desoxinucleótido trifosfatado: Son los ésteres de fosfato de los desoxinucleósidos.

Diastereoisómero: Término que indica la relación entre estereoisómeros que no son imágenes superponibles.

Ecogenética: Se refiere a la interacción entre uno o varios genes y el ambiente.

Efecto fundador: frecuencia alta de un alelo particular en una población porque esta última deriva de un número pequeño de fundadores, uno o más de los cuales llevaba ese alelo.

Electrofílico: También llamado electrófilo, es una especie química afín con las cargas negativas, es decir, tiene zonas deficientes de electrones, ya sea con carga positiva neta (cationes) o que tengan una densidad de carga positiva.

Electrolito: Sustancia que se descompone en iones (partículas cargadas) cuando se disuelve en los líquidos del cuerpo o el agua, permitiendo que la energía eléctrica pase a través de ellos.

Endogamia: Reproducción entre individuos de un mismo linaje.

Endógeno: Cualquier sustancia o compuesto que es formado en los tejidos internos del organismo.

Espectrofotómetro: Instrumento que expone una muestra a un rayo de luz de una longitud de onda específica para medir su absorbancia.

Estereoespecífico: Proceso en el que reactivos estereoquímicamente diferentes dan productos estereoquímicamente distintos.

Estereoquímica: Se refiere a dos compuestos con igual fórmula molecular pero con propiedades físicas y/o químicas diferentes, que se denominan isómeros.

Etiopatología: Se refiere al estudio de las causas de alguna enfermedad en particular.

Eubacterias: También conocidas como “*bacterias verdaderas*”, son los organismos microscópicos procariontes actualmente conocidos como *bacterias*.

Eucarionte: Se denomina eucarionte a todo organismo formado por células que tienen su información genética encerrada dentro de una doble membrana, denominada membrana nuclear, que delimita el núcleo celular.

Exógeno: Cualquier sustancia o compuesto que es formado fuera de los tejidos internos del organismo.

Exón: Segmento de un gen que codifica para una secuencia proteica específica.

Fenotipo: Características observables de una célula o un organismo.

Filogenética: Disciplina encargada de la clasificación de los organismos según su relación evolutiva percibida.

Fluorescencia: Fenómeno en el cual una sustancia que absorbe luz de una longitud de onda dada irradia una porción de energía en forma de luz a una longitud de onda mayor.

Gen: Unidad de herencia; secuencia de nucleótidos del material genético que determina la herencia de una característica determinada, o de un grupo de ellas.

Genoma: Grupo total de diferentes moléculas de DNA de un organelo, una célula o un organismo. El genoma humano completo consiste en 25 moléculas de DNA distintas, la molécula de DNA mitocondrial, aunada a 24 diferentes moléculas cromosómicas de DNA.

Genotipo: Constitución genética de un individuo, ya sea en su totalidad o en un *locus* específico.

Grupo hemo: Molécula formada por un anillo de porfirina con un átomo de hierro central en forma de complejo.

Hemoproteína: Proteínas que contienen un grupo hemo, como la mioglobina, la hemoglobina y los citocromos.

Heterogeneidad génica: Existencia de muchos alelos diferentes que están presentes en un mismo *locus* dentro de una población.

Heterocigoto: Individuo que tiene dos alelos diferentes en un *locus* en particular.

Heterocigoto compuesto: Individuo que es heterocigoto para dos alelos mutantes distintos del mismo *locus*.

Hidrofóbico: Propiedad de las sustancias químicas de ser repelidas por el agua o que no se pueden mezclar con ella, como los aceites.

Homocigoto: Individuo que posee dos alelos idénticos en un *locus* en particular.

Interacciones farmacológicas: Reacciones que ocurren cuando hay dos o más fármacos presentes en un organismo y uno de ellos aumenta o disminuye la acción del otro.

Intrón: DNA no codificante que separa exones vecinos en un gen.

Isoenzima: Son enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química.

Locus: Localización cromosómica única que define la posición de un gen individual o la secuencia de DNA.

Mapeo genético: Elaboración de un mapa de los diferentes *loci* génicos sobre la base de la posición genética de unos con respecto a los otros.

Metabolismo: Reacciones químicas que ocurren dentro de las células y tejidos de un organismo. Estos procesos incluyen la biótesis (Anabolismo) y degradación (Catabolismo) de sustancias orgánicas usadas por un organismo viviente.

Metabolito: Es cualquier molécula química utilizada o producida durante el metabolismo.

Mutación: Alteración o cambio en la información genética de un ser vivo y que, por lo tanto, va a producir un cambio de características, y que puede heredarse a la descendencia.

Nanotecnología: Campo de las ciencias aplicadas dedicado al control y manipulación de la materia a una escala menor que un micrómetro, es decir, a nivel de átomos y moléculas.

Oligonucleótido: Secuencia corta de 2 a 30 nucleótidos sintetizada para aparearse con una región específica de DNA y que sirve como sitio de reconocimiento para la DNA polimerasa.

Poliadenilación: Es la adición al extremo 3' de una cadena de RNA de una secuencia larga de poliadenilato (*cola poli-A*), es decir, un tramo de RNA cuyas bases son todas adenina.

Polimerasa: Enzima cuya función es la síntesis de nuevas moléculas de DNA o RNA a partir de una molécula molde mediante la incorporación de nucleótidos.

Polimorfismo: Variación en la secuencia de nucleótidos del DNA dentro de una población, que se presenta en al menos el 1% de la misma.

Pseudogen: Es la copia de un gen que carece normalmente de intrones y de otras secuencias de DNA esenciales para su función; son genéticamente similares al gen funcional original, pero no se expresan y frecuentemente contienen numerosas mutaciones.

Radicales libres: Son moléculas (orgánicas o inorgánicas), formadas por contacto con el oxígeno, son extremadamente inestables y reactivas, que actúan alterando las membranas celulares y atacando el material genético de las células.

Región intergénica: Secuencia de nucleótidos que se encuentra entre dos genes.

Región intragénica: Secuencia de nucleótidos que se encuentra dentro de un gen.

Resonancia: Es la atracción o donación de electrones a través de un enlace covalente (π), generado a partir del traslape de un orbital químico (p) de un sustituyente con un orbital (p) de un anillo aromático.

Secuencia palindrómica: Secuencia de nucleótidos de DNA que es idéntica tanto en la cadena principal como en la cadena complementaria cuando se leen en dirección 5' a 3'.

Solución stock: Mejor conocida como solución madre, es aquella dilución, de concentración conocida, utilizada como medida estándar para determinar la concentración de otras soluciones.

Splicing: Proceso de corte y eliminación de intrones dentro de la secuencia de DNA de un gen.

Termociclador: Aparato usado en Biología Molecular que permite realizar los ciclos de temperaturas necesarios para una reacción de PCR, amplificación de DNA o para reacciones de secuenciación con el método de Sanger.

Transición: Sustitución de una pirimidina por una pirimidina ($C \leftrightarrow T$) o una purina por una purina ($A \leftrightarrow G$).

Transiluminador UV: Aparato emisor de luz ultravioleta utilizado para la visualización de geles teñidos, comúnmente, con bromuro de etidio.

Transversión: Sustitución de una purina por una pirimidina ($A \leftrightarrow C$) o de una pirimidina por una purina ($T \leftrightarrow G$).

Vía parenteral: cualquiera de las vías que implican la administración de fármacos directamente por inyección.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abraham B. y Adithan C. 2001. Genetic polymorphism of CYP2D6. *Indian. J. Pharmacol.* **33**:147-169.
- Alvan G., Bechtel P., Iselius L. y Gundert-Remy U. 1990. Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **39**:533-537.
- Arnaiz Villena A., Vargas Alarcón G., Granados J., Gómez Casado E., Longas J., Gonzales Hevilla M., Zuñiga J., Salgado N., Hernández Pacheco G., Guillen J. y Martinez Laso J. 2000. HLA genes in Mexican Mazatecans, the peopling of the Americas and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens.* **56**:405-416.
- Berman H.M., Battistuz T., Bhat T.N., Bluhm W.F., Bourne P.E., Burkhardt K., Feng Z., Gilliland G.L., Thanki N., Weissing H., Westbrook J.D. y Zardecki C. 2002. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research.* **6**:235-242.
- Bernal M.L., Sinues B., Johansson I., McLellan R.A., Wennerholm A., Dahl M.L., Ingelman Sundberg M. y Bertilsson L. 1999. Ten percent of North Spanish individuals carry duplicated or triplicated CYP2D6 genes associated with ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Pharmacogenetics.* **9**:657-660.
- Bernard S., Neville K.A., Nguyen A.T. y Flockhart D.A. 2006. Interethnic Differences in Genetic Polymorphisms of CYP2D6 in the U.S. Population: Clinical Implications. *Oncologist.* **11**:126-135.
- Bertilsson L., Lou Y.Q., Du Y.L., Liu Y., Kuang T.Y., Liao X.M., Wang K.Y., Reviriego J., Iselius L. y Sjöqvist F. 1992. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquine and S-mephenytoin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **51**:388-397.
- Bertilsson L., Dahl M.L., Dalén P. y Al-Shurbaji A. 2002. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **53**:111-122.
- Bradford L. 2002. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics.* **3**(2):229-243.
- Brockmöller J. y Tzvetkov M. 2008. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **64**:133-157.
- Capdevila J.H., Falck J.R. y Harris R.C. 2000. Cytochrome P-450 and arachidonic acid bioactivation. Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *J. Lipid. Res.* **41**:163-181.

- Cervantes A. y López M. 1997. Aplicación de las técnicas de la biología molecular en el estudio del genoma humano y en el diagnóstico de las enfermedades hereditarias. *Rev. Med. Hosp.* **60**(4):196-205.
- Chapple C. 1998. Molecular-genetic analysis of plant cytochrome P-450-dependent monooxygenases. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**:311-343.
- Collins Schramm H., Chima B., Morii T., Wah K., Figueroa Y., Criswell L., Hanson R., Knowler W., Silva G., Belmont J. y Seldin M. 2004. Mexican American ancestry-informative markers: examination of population structure and marker characteristics in European Americans, Mexican Americans, Amerindians and Asians. *Hum. Gen.* **114**:263-271.
- Colombres García S. 2008. Variabilidad en la respuesta a fármacos debido a polimorfismos en enzimas de la familia CYP450. *inFARMAte.* **3**(18):1-6.
- Daly A.K. 2003. Pharmacogenetics of the mayor polymorphic metabolizing enzymes. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **17**(1):27-41.
- Destenaves B. y Thomas F. 2000. New advances in pharmacogenomics. *Curr. Op. Chem. Biol.* **4**:440-444.
- D'Hebron P.V. 1999. Reacciones adversas relacionadas con la metabolización de los fármacos. *Butlletí CROC.* **12**(3):12-15.
- Ding X. y Kaminsky L.S. 2003. Human extrahepatic cytochromes P-450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **43**:149-173.
- Donato M.T. y Castell J.V. 2003. Strategies and molecular probes to investigate the role of Cytochrome CYP450 in drug metabolism: Focus on in vitro studies. *Clin. Pharmacokinetics.* **42**:153-178.
- Eichelbaum M. y Spannbrucker N. 1977. Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **16**:183-187.
- Evans W.E. y Relling M.V. 1999. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science.* **286**:487-491.
- Fuselli S., Dupanloup I., Frigato E., Cruciani F., Scozzari R., Moral P., Sistonen J., Sajantila A. y Barbujani G. 2004. Molecular diversity at the CYP2D6 locus in the Mediterranean region. *Eur. J. Hum. Gen.* **12**:916-924.
- Gaedigk A., Gotschall R.R., Forbes N.S., Simon S.D., Kearns G.L. y Leeder J.S. 1999. Optimization of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data. *Pharmacogenetics.* **9**(6):669-682.

- Gaikovitch E.A. 2003. "Genotyping of the polymorphic drug metabolizing enzymes cytochrome P450 2D6 and N-acetyltransferase 2 in a Russian sample." Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt – Universität zu Berlin, Berlin, Germany.
- Gómez Casado E., Martínez Laso J., Moscoso J., Zamora J., Martín Villa M., Pérez Blas M., López Santalla M., Lucas Gramajo P., Silvera C., Lowy E. y Arnaiz Villena A. 2003. Origin of Mayans according to HLA genes and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens*. **61**:425-436.
- Gonzalez F.J. 1992. Human cytochromes P-450: problems and prospects. *Trends. Pharmacol. Sci.* **13**:346-352.
- Gonzalez F.J. 1998. The study of xenobiotic metabolizing enzymes and their role in toxicity *in vivo* using targeted gene disruption. *Toxicol. Lett.* **102**:161-166
- Graham S.E. y Peterson J.A. 1999. How similar are P-450s and what can their differences teach us. *Arch. Biochem. Biophys.* **369**(1):24-29
- Hemmer W. y Sjöqvists F. 1967. Plasma levels of monomethylated tricyclic antidepressants during treatment with imipramine-like compounds. *Life Sci.* **6**(17):1985-1903.
- Herrera R.J., Rojas D.P. y Terreros M.C. 2007. Polymorphic Alu insertions among Mayan populations. *J. Hum. Genet.* **52**(2):129-142.
- Hersberger M., Marti Jaun J., Rentsch K. y Hänseler E. 2000. Rapid detection of the CYP2D6*3, CYP2D6*4 and CYP2D6*6 alleles by tetra-primer PCR and of the CYP2D6*5 allele by multiplex long PCR. *Clinical Chemistry.* **46**(8):1072-1077.
- Hesham M.K. y Ayman O.S. 2005. Regulatory Mechanisms Modulating the Expression of Cytochrome P450 1A1 Gene by Heavy Metals. *Toxicological Sciences.* **88**(1):39-51.
- Honkakoski P. y Negishi M. 2000. Regulation of cytochrome P-450 (CYP) genes by nuclear receptors. *Biochem. J.* **347**:321-337.
- Hou Z.Y., Chen C.P., Yang W.C., Lai M.D., Buchert E.T., Chung H.M., Pickle L.W. y Woosley R.L. 1996. Determination of dextromethorphan metabolic phenotype by salivary analysis with a reference to genotype in Chinese patients receiving renal hemodialysis. *Clin. Pharmacol. Ther.* **59**(4):411-417.
- Housman D. y Ledley F.D. 1988. Why pharmacogenomics? Why now? *Nat. Biotechnol.* **16**:492-493.
- Ingelman Sundberg M. 2005. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *The Pharmacogenomics Journal.* **5**:6-13.

- Ingelman Sundberg M. y Rodríguez Antona C. 2005. Pharmacogenetics of drug metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective therapy. *Phil. Trans. R. Soc. B.* **360**:1563-1570.
- Ishiguro A., Kubota T., Sasaki H. e Iga t. 2004. A long PCR assay to distinguish CYP2D6*5 and a novel CYP2D6 mutant allele associated with an 11-kb EcoRI haplotype. *Clinica Chimica Acta.* **347**:217-221.
- Kagimoto M., Heim M., Kagimoto K., Zeugin T. y Meyer U.A. 1990. Multiple mutations of the human cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. *J. Biol. Chem.* **265**(28):17209-17214.
- Kent U.M., Juschyshyn M.I. y Hollenberg P.F. 2001. Mechanism based inactivators as probes of cytochrome P450 structure and function. *Curr. Drug Metab.* **2**(3):215-243
- Kimura S., Umeno M., Skoda R., Meyer U. y Gonzalez F. 1989. The human debrisoquine 4-hydroxylation (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene and a pseudogene. *Am. J. Hum. Genet.* **45**:889-904.
- King T.E., Mason H.S. y Morrison M. 1973. Oxidases and Related redox Systems. *University Park Press.* 1:235-242.
- Kroemer H.K. y Eichelbaum M. 1995. "It's the genes stupid". Molecular bases and clinical consequences of genetic cytochrome P450 2D6 polymorphisms. *Life Sci.* **56**(26):2285-2298.
- Lares Assef I. y Trujillo Jiménez F. 2001. La farmacogenómica y su importancia en la clínica. *Gac. Méd. Méx.* **137**(3):227-236.
- Lazarou J., Pomeranz B.H. y Corey P. 1998. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients. *JAMA.* **279**(15):1200-1205.
- Lehninger A., Nelson D. y Cox M. 1993. "Principles of Biochemistry". Segunda edición, Ed. Worth Publishers, New York, N.Y., U.S.A.
- Lewis D.F. 2004. 57 varieties: the human cytochromes P450. *Pharmacogenomics.* **5**(3):305-318.
- Lin H. y Lu A. 1998. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.* **35**(5):361-390.
- Linder M.W., Prough R.A. y Valdes R.Jr. 1997. Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic efficiency. *Clin. Chem.* **43**(2):254-266.
- Liska DeAnn. 1998. The Detoxification Enzyme Systems. *Alt. Med. Rev.* **3**(3):187-198.

- López M., Guerrero J.L., Familiar I.M., Jung H., Corona T. y Alonso M.E. 2004. Farmacogenómica: búsqueda de la terapia personalizada. *Rev. Neurol.* **39**(11):1063-1071.
- López M., Guerrero J., Jung Cook H. y Alonso M.E. 2005. CYP2D6 genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **61**:749-754.
- Mahgoub A., Idle J.R., Dring L.G., Lancaster R. y Smith R.L. 1977. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet.* **2**:584-586.
- Mancinelli L., Cronin M. y Sadée W. 2000. Pharmacogenomics: The Promise of Personalized Medicine. *AAPS Pharm. Sci.* **2**(1):1-13.
- Mansuy D. 1998. The great diversity of reactions catalyzed by cytochrome P-450. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* **121**(1-3):5-14.
- Marez D., Legrand M., Sabbagh N., Guidice J.M., Spire C., Lafitte J., Meyer U.A. y Broly F. 1997. Polymorphism of the cytochrome P450 2D6 gene in an European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics.* **15**(12):1249-1252.
- Masimirembwa C. y Hasler J.A. 1997. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes in African populations: implications for the use of neuroleptics and antidepressants. *Brain Res. Bull.* **44**(5):561-571.
- Matsunaga I., Ueda A., Fujiwara N., Sumimoto T. e Ichihara K. 1999. Characterization of the ybdT gene product of *Bacillus subtilis*: novel fatty acid beta-hydroxylating cytochrome P450. *Lipids.* **34**(8):841-846.
- McCarthy L.C., Davies K.J. y Campbell D.A. 2002. Pharmacogenetics in diverse ethnic populations, implications for drug discovery and development. *Pharmacogenomics.* **3**(4):493-506.
- McKinnon R. y Evans A. 2000. Cytochrome P450: Pharmacogenetics. *Aust. J. Hosp. Pharm.* **30**:102-105.
- Meunier B., Visser S.P. y Shaik S. 2004. Mechanism of Oxidation Reactions Catalyzed by Cytochrome P450 Enzymes. *Chem. Rev.* **104**(9):3947-3980.
- Motulsky A.G. 1957. Drug reactions enzymes, and biochemical genetics. *J. Am. Med. Assoc.* **165**(7):835-837.
- Nakamura K., Goto F., Ray W.A., McAllister C.B., Jacqz E., Wilkinson G.R. y Branch R.A. 1985. Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquine and mephenytoin hydroxylation between Japanese and Caucasian populations. *Clin. Pharmacol. Ther.* **38**(4):402-408.

- Naveen A.T., Prassana T., Farzana B.L. y Adithan C. 2006. CYP2D6 genotype and phenotype relationship in South Indians. *J. Postgrad. Med.* **52**(4):253-256.
- Nebert D.W. 1997. Polymorphism in drug metabolizing enzymes: why is the clinical significance and why do they exist? *Am. J. Hum. Genet.* **60**:265-271.
- Nelson D. R. 1999. Cytochrome P450 and the individuality of species. *Arch. Biochem. Biophys.* **369**(1):1-10.
- Neville M. y Selzer R. 2002. Characterization of cytochrome P450 2D6 alleles using the Invader™ System. *Bio Techniques.* **32**:s34-s43.
- Omura T. y Sato R. 1964. The Carbon Monoxide-binding Pigment of Liver Microsomes: Evidence for Its Hemoprotein Nature. *J. Biol. Chem.* **239**(7):2370-2378.
- Omura T. 1999. Forty years of cytochrome P450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **266**(3):690-698.
- Orellana M. y Guajardo V. 2004. Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. *Rev. Méd. Chile.* **132**:85-94.
- Orozco L., González L., Chávez M., Velásquez R., Lezana J.L., Saldaña Y., Villareal T. y Carnevale A. 2001. XV-2c / KM-19 Haplotype Analysis of Cystic Fibrosis Mutations in Mexican Patients. *Am. J. Med. Gen.* **102**(3):277-281.
- Ortiz de Montellano P.R. 1995. "Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry". Segunda edición, Ed. Plenum, Nueva York, N.Y., U.S.A.
- Ortiz de Montellano P.R. y De Voss J.J. 2002. Oxidizing species in the mechanism of cytochrome P-450. *Nat. Prod. Rep.* **19**(4):477-493.
- Park B.K., Kitteringham N.R., Pirmohamed M. y Tucker G.T. 1996. Relevance of induction of human drug-metabolizing enzymes: pharmacological and toxicological implications. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **41**(6):477-491.
- Poulos T., Finzel B.C. y Howard A.J. 1987. High-resolution crystal structure of cytochrome P450cam. *J. Mol. Biol.* **195**(3):687-700.
- Robin C. 2001. Peopling the past: New perspectives on the ancient Maya. *PNAS.* **98**(1):18-21.
- Lovlie R., Daly A.K., Molven A., Idle J.R. y Steen V.M. 1996. Ultrarapid metabolizers of debrisoquine: Characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene. *FEBS Lett.* **392**(1):30-34.
- Sachse C., Brockmöller J., Bauer S. y Roots I. 1997. Cytochrome P450 2D6 variants in Caucasian Population: Allele Frequencies and Phenotypic Consequences. *Am. J. Hum. Gen.* **60**:284-295.

- Sambrook J., Fritsch E.F. y Maniatis T. 1989. "Molecular cloning, a laboratory manual". Second edition, Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, N.Y., U.S. A.
- Schlichting I., Berendzen J., Chu K., Stock A.M., Maves S.A., Benson D.E., Sweet R.M., Ringe D., Petsko G.A. y Sligar S.G. 2000. The catalytic pathway of cytochrome P-450cam at atomic resolution. *Science*. **287**(5458):1615-1622.
- Schur B., Bjerke J., Nuwayhid N. y Wong S.H. 2001. Genotyping of the cytochrome P450 2D6*3 and *4 mutations using conventional PCR. *Clinical Chemical Acta*. **308**:25-31.
- Scordo M.G. y Spina E. 2002. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to antipsychotic therapy. *Pharmacogenomics*. **3**(2):201-218.
- Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y. 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**(1):414-423.
- Sligar S.G., Cinti D.L., Gibson G.G. y Schenkman J.B. 1979. Spin state control of the hepatic cytochrome P450 redox potential. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **90**(3):925-932.
- Sosa Macías M., Elizondo G., Flores Pérez C., Flores Pérez J., Bradley Alvarez F., Alanis Bañuelos R. y Lares Asseff I. 2006. CYP2D6 genotype and phenotype in amerindians of Tepehuano origin and mestizos of Durango Mexico. *J. Clin. Pharmacol.* **46**:527-536.
- Spear B.B., Heath-Chiozzi M. y Huff J. 2001. Clinical application of pharmacogenetics. *TRENDS Mol. Med.* **7**(5):85-9.
- Strachan T. y Read A. 1999. "Human Molecular Genetics". Segunda edición, Ed. Wiley-Liss, New York, N.Y., U.S.A.
- Strachan T. 2006. "Genética Humana". Tercera edición, Ed. McGraw-Hill, D.F., México.
- Swen J., Huizinga T., Gelderblom H., de Vries E.G., Assendelft W., Kirchheiner J. y Guchelaar H. 2007. Translating Pharmacogenomics: Challenges on the road to the clinic. *Plos Medicine*. **4**(8):1317-1324.
- Tian C., Hinds D., Shigeta R., Adler S., Lee A., Pahl M., Silva G., Belmont J., Hanson R., Knowler W., Gregersen P., Ballinger D. y Seldin M. 2007. A Genomewide Single-Nucleotide-Polymorphism Panel for Mexican American Admixture Mapping. *Am. J. Hum. Genet.* **80**:1014-1023.
- Van der Weide J. y Stejins L.S. 1999. Cytochrome P450 enzyme system: genetic polymorphisms and impact on clinical pharmacology. *Ann. Clin. Biochem.* **36**(6):722-729.

- Vargas Alarcón G., Gamboa R., Vergara Y., Rodríguez Zepeda J.M., de la Peña A., Izaguirre R., Zuñiga J., Ruiz Morales J.A. y Granados J. 2002. LMP2 and LMP7 gene polymorphism in Mexican populations: Mestizos and Amerindians. *Genes and Immunity*. **3**:373-377.
- Vargas Alarcón G., Hernandez Pacheco G., Moscoso J., Pérez Hernández N., Murguía L., Moreno A., Serrano Vela J., Granados C. y Arnaiz Villena A. 2006. HLA genes in Mexican Teeneks: HLA genetic relationship with other worldwide populations. *Molecular Immunology*. **43**:790-799.
- Vargas Alarcón G., Moscoso J., Martinez Laso J., Rodriguez Perez J., Flores Domínguez C., Serrano Vela J., Moreno A., Granados J. y Arnaiz Villena. 2007. Origin of Mexican Nahuas (Aztecs) according to HLA genes and their relationships with worldwide populations. *Molecular Immunology*. **44**:747-755.
- Wallace R.W. 1999. Pharmacogenomics: the next logical step. *Drug Discovery Today*. **4**:105-107.
- Weinshilboum R. 1997. Inheritance and drug response. *N. Engl. J. Med.* **348**(6):529-537.
- Welch R.M. 1979. Toxicological implications of drug metabolism. *Pharmacol. Rev.* **30**:457-467.
- Werck Reichhardt D. y Feyereisen R. 2001. Cytochromes P450: a success story. *Gen. Biol.* **1**(6):1-8.
- Williams P.A., Cosme J., Sridhar V., Johnson E.F. y McRee D.E. 2000. Mammalian microsomal cytochrome P-450 monooxygenase: structural adaptations for membrane binding and functional diversity. *Mol. Cell.* **5**(1):121-131.
- Piscitelli S. y Rodvold K. 2001. "In Drug Interactions in Infections Diseases". Segunda edición, Ed. Humana Press, Totowa, New Jersey, U.S.A.
- Zanger U., Turpeinen M., Klein K. y Schwab M. 2008. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal. Bioanal. Chem.* **10**:1-16

BIBLIOGRAFÍA ELECTRÓNICA

Citocromo P450. (s.f.). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://www.ranf.com/publi/mono/mono.html>

CYP2D6 Gene. (26 agosto 2008). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CYP2D6&search=cyp2d6>

Cytochrome P450. (s.f.). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

http://en.wikipedia.org/wiki/Cytochrome_P450

Hablantes de lengua indígena en México. (s.f.). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/lindigena>

Mapas de México. (s.f.). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://www.mapasmexico.net/>

MeSH Polymorphism. (2000). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>

RxList. (s.f.). Recuperado el 15 de octubre de 2008, de

<http://www.rxlist.com>

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

ACD: Ácido cítrico–dextrosa

ADH: Alcohol deshidrogenasa

ALDH: Aldehído deshidrogenasa

CO: Monóxido de carbono

COMT: Catecol O–metiltransferasa

CYP: Citocromo P450

CYP2D6: Citocromo P450 de la familia 2, subfamilia D, isoenzima 6

CYP450: Familia del citocromo P450

DMSO: Dimetil sulfóxido

dNTP: Desoxinucleótidos trifosfatados

DO: Densidad óptica

DPD: Dihidropirimidina deshidrogenasa

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

FAD: Flavin adenin dinucleótido

FMN: Flavin mononucleótido

GST: Glutación S–transferasa

HMT: Histamina metiltransferasa

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

MA: Mexicanos americanos

MM: Mestizos mexicanos

MR: Radio metabólico

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido

NAT: N–acetil transferasa

NQO1: Quinona óxido reductasa

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RCLB: Amortiguador de lisis de células rojas

RFLP: Fragmentos de restricción de longitud polimórfica

SDS: Dodecil sulfato de sodio

SNP: Polimorfismo de nucleótido simple

ST: Sulfotransferasa

TBE: Amortiguador tris–borato–EDTA

TEMED: N,N,N',N'–tetrametiletilendiamina

TMPT: Tiopurina metiltransferasa

UGT: Uridina 5'–trifosfato glucuronosiltransferasa