



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**IMPACTO DE CYP2D6, CYP2C19 Y ABCB1 EN LA TERAPIA
ANTIDEPRESIVA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

LUIS DANIEL MARTÍNEZ RAZO



CIUDAD DE MÉXICO.

AÑO 2017



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: MARISOL LÓPEZ LÓPEZ
VOCAL: SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
SECRETARIO: TZVETANKA DIMITROVA DINKOVA
1er. SUPLENTE: KRUTZKAYA JUÁREZ REYEZ
2° SUPLENTE: ALBERTO ORTEGA VÁZQUEZ

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA MANUEL
VELASCO SUAREZ**

ASESOR DEL TEMA:

MARISOL LÓPEZ LÓPEZ

SUSTENTANTE (S):

LUIS DANIEL MARTÍNEZ RAZO

Índice

1. Resumen.....	5
2. Introducción.....	6
2.1 Demencia.....	6
2.2 Epidemiología e importancia de las demencias.....	7
2.3 Enfermedad de Alzheimer.....	8
2.3.1 Enfermedad de Alzheimer y el trastorno depresivo mayor.....	9
2.3.2 Tratamiento.....	10
2.4 Antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRSs).....	12
2.4.1 Serotonina.....	12
2.4.2 La serotonina en la depresión y otros desórdenes afectivos.....	12
2.4.3 Farmacodinamia de los ISRSs.....	13
2.4.4 Citalopram y escitalopram.....	13
2.4.5 Farmacocinética de citalopram y escitalopram.....	15
2.5 Farmacogenética.....	17
2.5.1 Farmacogenética de citalopram y escitalopram.....	18
2.5.2 CYP3A4.....	18
2.5.3 CYP2C19.....	19

2.5.4 CYP2D6.....	24
2.5.5 Glicoproteína-P.....	26
2.5.6 Otros factores que producen variabilidad interindividual en el funcionamiento de CYP involucrados en el metabolismo de citalopram y escitalopram.....	28
2.5.7 Inductores e inhibidores.....	28
2.5.8 Factores no genéticos propios de cada individuo.....	28
2.5.9 Factores epigenéticos.....	29
3. Planteamiento del problema.....	30
4. Hipótesis.....	30
5. Objetivos.....	30
6. Procedimiento experimental.....	31
6.1 Población de estudio.....	31
6.1.1 Criterios de inclusión.....	32
6.1.2 Criterios de exclusión.....	32
6.2 Extracción de ADN genómico a partir de sangre periférica.....	33
6.3 Cuantificación de ADN.....	34
6.4 Genotipificación de los polimorfismos 3435T>C (rs1045642), 1236C>T (rs1128503) y 2677G>T/A (rs2032583) del gen ABCB1.....	34

6.5 Genotipificación de los polimorfismos 19154G>A (rs4244285), 17948G>A (rs4986893) y -806C>T (rs12248560) correspondientes a los alelos <i>CYP2C19</i>*2, <i>CYP2C19</i>*3 y <i>CYP2C19</i>*17, respectivamente, del gen <i>CYP2C19</i>, respectivamente.....	36
6.6 Genotipificación de los alelos <i>CYP2D6</i>*2, <i>CYP2D6</i>*3, <i>CYP2D6</i>*4, <i>CYP2D6</i>*5, <i>CYP2D6</i>*6, <i>CYP2D6</i>*10 y <i>CYP2D6</i>*17, así como las posibles multiplicaciones de los mismos; del gen <i>CYP2D6</i>.....	37
6.7 Electroforesis.....	46
6.8 Revisión de expedientes clínicos.....	47
6.9 Análisis estadístico.....	47
7. Resultados.....	47
7.1 Determinación de frecuencias de las variantes estudiadas.....	47
7.1.1 Frecuencias de las variantes de <i>ABCB1</i> en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram.....	47
7.1.2 Frecuencias de las variantes y fenotipos metabolizadores de <i>CYP2C19</i> en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram.....	48
7.1.3 Frecuencias de las variantes y fenotipos metabolizadores de <i>CYP2D6</i> en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram.....	49
7.2 Estudio del impacto de las variantes de <i>ABCB1</i>, <i>CYP2C19</i> y <i>CYP2D6</i> en la respuesta antidepressiva y reacciones adversas a citalopram y escitalopram en pacientes con enfermedad de Alzheimer.....	51
8. Discusión.....	53
9. Conclusiones.....	63

10. Referencias.....63

1. Resumen

Las demencias se están convirtiendo en un grave problema de salud pública debido a la tendencia de la población a envejecer. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la demencia más común y se caracteriza por el deterioro de las capacidades cognitivas de los pacientes; sin embargo, en algunos casos también aparecen síntomas no cognitivos como depresión, ansiedad, apatía y agitación, entre otros. La aparición de síntomas no cognitivos como el trastorno depresivo mayor contribuyen a que se acelere el deterioro cognitivo de los pacientes. El tratamiento de elección para los síntomas son los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, principalmente citalopram y escitalopram. Sin embargo, la respuesta terapéutica observada entre los pacientes es muy variable. Se ha propuesto que existe una influencia de las variantes en los genes *ABCB1*, *CYP2C19* y *CYP2D6* sobre la variación en la respuesta terapéutica y la susceptibilidad a padecer reacciones adversas, aunado al impacto de factores no genéticos que influyan sobre la respuesta terapéutica. Estos genes codifican para proteínas involucradas en la farmacocinética de estos fármacos. *ABCB1* codifica para la glicoproteína-P, un transportador de eflujo que participa en la distribución de los fármacos en el organismo. *CYP2C19* y *CYP2D6* codifican para enzimas del citocromo P450 que están involucrados en el metabolismo del citalopram y el escitalopram.

Para explorar la influencia genética con la respuesta terapéutica y la ocurrencia de reacciones adversas a citalopram o escitalopram se evaluó la asociación de los polimorfismos 3435T>C (rs1045642), 1236C>T (rs1128503) y 2677G>T/A (rs2032583) del gen *ABCB1* en una muestra de pacientes mestizos mexicanos con EA. Los resultados mostraron una asociación entre el genotipo TT del polimorfismo 2677G>T/A y la susceptibilidad a padecer reacciones adversas al ser tratados con citalopram o escitalopram; el resto de los genotipos no mostró ninguna asociación.

Adicionalmente se evaluó la asociación de los alelos *CYP2C19**2, *CYP2C19**3 y *CYP2C19**17 del gen *CYP2C19*; y *CYP2D6**2, *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5, *CYP2D6**6, *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17 del gen *CYP2D6* pero no se encontró alguna asociación significativa con la respuesta terapéutica o susceptibilidad a reacciones

adversas. Se determinó el fenotipo metabolizador para las enzimas de cada paciente y se evaluó su asociación con su respuesta terapéutica o susceptibilidad reacciones adversas sin encontrar asociaciones significativas. Sin embargo, en algunos pacientes parece tener un impacto el fenotipo metabolizador de estas dos enzimas pero dado el número reducido de pacientes con el que se contó para el ensayo es complicado establecer alguna relación, por lo que ampliar el número de sujetos de estudio facilitaría el análisis de los resultados y le daría un mayor grado de confianza al estudio.

2. Introducción.

2.1 Demencia

La demencia se puede definir como un síndrome clínico neurodegenerativo caracterizado por un deterioro progresivo de las funciones cognitivas y la incapacidad para llevar a cabo las funciones de la vida cotidiana, de acuerdo a los criterios del DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental). La demencia afecta la memoria, el pensamiento, orientación, comprensión, habilidad para hacer cálculos, capacidad de aprendizaje, lenguaje y juicio. También puede presentarse deterioro en el control emocional, comportamiento social y estado de ánimo (Prince y cols, 2013; Zúñiga y cols, 2014).

Existen distintos tipos de demencia asociados con diferentes patrones en la sintomatología y las anomalías cerebrales. Entre los tipos más comunes se encuentran: la EA, la demencia vascular, la demencia con cuerpos de Lewy, la degeneración frontotemporal lobar, la demencia mixta, la demencia por enfermedad de Parkinson, y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, entre otras. Estas demencias son irreversibles; sin embargo, existen algunas otras condiciones que pueden mimetizar los síntomas de las demencias y ser potencialmente reversibles, como es el caso de la depresión, el delirium, los efectos adversos por medicación, los problemas de tiroides, el uso excesivo de alcohol y la deficiencia de algunas vitaminas (Alzheimer's Association, 2014).

2.2 Epidemiología e importancia de las demencias.

Las demencias son un problema creciente de salud pública a nivel mundial debido a su impacto social y económico (Zúñiga y cols, 2014). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el mundo existen 46.8 millones de personas que padecen demencia, y se prevé que este número aumente de 74.7 millones en 2030 a 131.5 millones en 2050, como se muestra en la Figura 1 (Alzheimer's Disease International, 2013; Alzheimer's Association, 2015). Es importante señalar que casi dos tercios de las personas afectadas radican en países de ingresos medio y bajo (Instituto Nacional de Geriátría, 2014).

A pesar de afectar principalmente a personas mayores, la demencia no se considera una consecuencia del envejecimiento, aunque sólo entre el 2% y el 10% de los casos de demencia inician antes de los 65 años, mientras que a partir de esta edad la prevalencia se duplica cada 5 años (OMS, 2013). Actualmente, la población mundial de adultos mayores presenta una tendencia a crecer, como se muestra en la Figura 2, por lo tanto se espera que las demencias empiecen a cobrar mayor importancia con el paso de los años y sean consideradas un problema de salud pública, como algunos países ya lo han hecho (Alzheimer's Disease International, 2013).

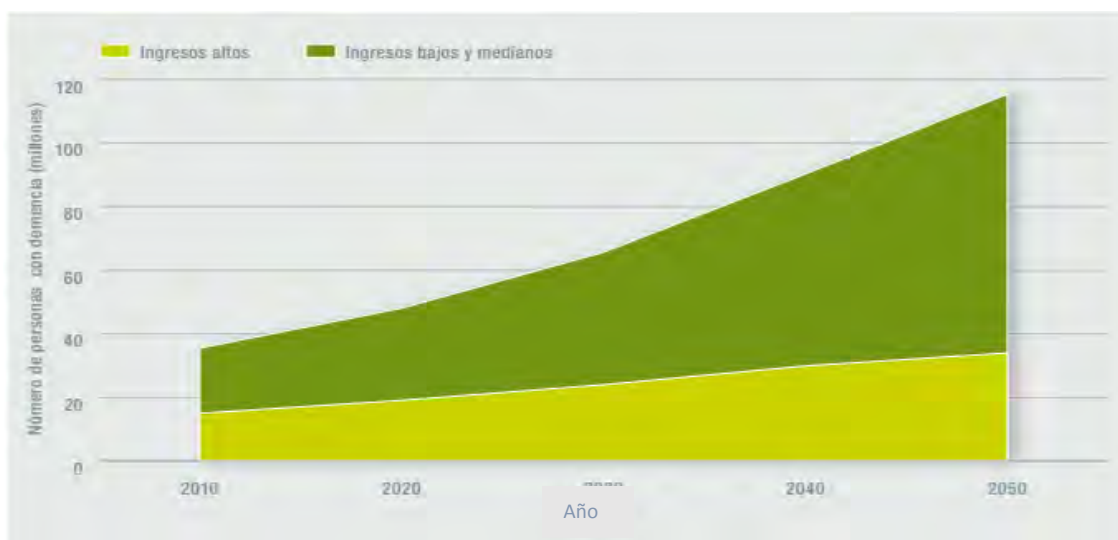


Figura 1. Número de personas que padecen demencia a nivel mundial entre 2010 y 2050
Tomada y modificada de Organización Mundial de la Salud, 2013.



Figura 2. Población mundial de 60 años o más, entre 1950 y 2050. Según la OMS existe una tendencia mundial al incremento de adultos mayores, la población más vulnerable a las demencias Tomada y modificada de Organización Mundial de la Salud, 2013

En México existen en la actualidad más de 10 millones de adultos mayores de 60 años, y las proyecciones indican un fenómeno de envejecimiento irreversible en el país. Se estima que existen alrededor de 800 mil personas afectadas por demencia en el país, y que el número ascenderá a 3 millones en el año 2050 (Instituto Nacional de Geriatria, 2014).

2.3 Enfermedad de Alzheimer.

La EA es el tipo de demencia más común en el adulto mayor, responsable de entre el 60% y el 70 % de los casos mundiales (Alzheimer's Association, 2015); sin embargo, no existen reportes en México que indiquen cual es la prevalencia de este padecimiento en el país.

El síntoma inicial más común es la pérdida gradual de la capacidad para recordar información nueva. Sin embargo, la EA se caracteriza por una gran diversidad de síntomas, además de la pérdida de memoria, que empeoran de manera progresiva. Entre otros síntomas característicos de la EA se encuentran: dificultad para planear o resolver problemas, dificultad para realizar actividades de la vida cotidiana, confusión temporal y espacial, problemas de apreciación visual y espacial,

perturbación del sueño, problemas de lenguaje y escritura, cambios de humor, personalidad, apatía y depresión (Revet y cols, 2013). Estos últimos síntomas de carácter no cognitivo como depresión, ansiedad y agitación contribuyen para que el deterioro cognitivo de los pacientes se dé con mayor rapidez (Lara y cols, 2016).

La fisiopatología de la EA se debe al daño y muerte neuronal que inicia en el hipocampo, región cerebral que está relacionada con la memoria y el aprendizaje, y posteriormente las lesiones se extienden por el resto del cerebro. Las lesiones cerebrales son causadas por agregados proteicos de placas seniles y ovillos neurofibrilares. Las placas seniles están formadas por agregados de la proteína β -amiloide, las cuales sufrieron cambios conformacionales en su estructura terciaria formando así los agregados. Los ovillos neurofibrilares son formados por agregados anormales de la proteína tau, la cual es regulada por fosforilación. (Revet y cols, 2013; Lara y cols, 2016). La formación de la placa β -amiloide interfiere con la neurotransmisión colinérgica en el hipocampo comprometiendo las funciones cognitivas (Serrano-Pozo y cols, 2011). Otros neurotransmisores también se ven afectados y existe un déficit en los niveles de serotonina causado por el deterioro neuronal que se relaciona con síntomas depresivos (Álvarez y cols, 2008). La noradrenalina también se ve afectada y la fluctuación de sus niveles se ha asociado con depresión y agitación (Álvarez y cols, 2008).

2.3.1 Enfermedad de Alzheimer y trastorno depresivo mayor.

La disminución en los niveles de serotonina generada por la EA contribuye al desarrollo de depresión y otros síntomas afectivos en los pacientes (Álvarez y cols, 2008). Simultáneamente, el padecimiento del trastorno depresivo mayor es considerado un factor de riesgo para desarrollar EA (Green y cols, 2003; Xia, 2017).

La asociación entre cognición y síntomas afectivos es un proceso circular, en el que la depresión se acompaña de un procesamiento más lento de la información y afectación de la memoria y, a su vez, el rendimiento cognitivo puede ser el origen de la aparición de la sintomatología depresiva (Simons y cols, 2009). El trastorno

depresivo mayor tiene una incidencia del 42% en pacientes con EA (Zhao y cols, 2016).

El trastorno depresivo mayor se caracteriza por un estado de ánimo triste o irritable, desinterés, pérdida del apetito o peso, alteraciones del sueño, cambios en la actividad psicomotora, fatiga, sentimientos de culpa inapropiados, problemas de concentración y pensamientos de muerte (DSM-5, 2014).

Otro factor de riesgo para EA descrito previamente es el hipotiroidismo, el cual se ha asociado con una disminución en las capacidades cognitivas y, también, con una predisposición a sufrir de depresión (Zavareh y cols, 2016; Salazar y cols, 2017).

2.3.2 Tratamiento

En el manejo de la EA, el principal objetivo es permitir que el paciente tenga la habilidad para llevar a cabo su vida diaria de la mejor manera posible, manteniendo una buena calidad de vida, disminuyendo la velocidad en el progreso de los síntomas cognitivos y tratando la depresión y otros síntomas conductuales.

La EA tiene dos alternativas de tratamiento dependiendo de la etapa en la que se encuentre. En las primeras etapas, el tratamiento no farmacológico es el más utilizado y tiene como meta el mantener o mejorar las funciones cognitivas del paciente, así como, su habilidad para llevar a cabo actividades de la vida cotidiana. De igual forma, es usado para reducir síntomas conductuales como depresión, apatía, agresividad, agitación, alucinaciones, delirios, desinhibición, ideas o comportamientos suicidas y problemas de sueño. Este tratamiento consiste en el estímulo de los sentidos con el uso de música, imágenes o fotografías de familiares (World Alzheimer's Report 2009).

En etapas más avanzadas y cuando el tratamiento no farmacológico no funciona se opta por una terapia farmacológica. La terapia farmacológica usada no interfiere con la patología de la EA, pero permite que el cerebro compense la consecuencia de la pérdida de neuronas colinérgicas. El tratamiento de elección consiste en los

inhibidores de la acetilcolinesterasa rivastigmina, galantamina y donepecilo (American Psychiatric Association, 2004). En etapas aún más avanzadas se utiliza como tratamiento al antagonista del receptor glutamatérgico, N-metil-D-aspartato (NMDA), memantina. Por lo general este fármaco se usa en conjunto con algún inhibidor de la acetilcolinesterasa (Kovacs, 2009). Respecto a los síntomas no cognitivos existen diferentes alternativas terapéuticas (Tabla 1) que ayudan a mejorar la calidad de vida del paciente.

Tabla 1. Síntomas conductuales en la EA y las alternativas terapéuticas usadas para su tratamiento. Tomada y modificada de la American Psychiatric Association. Practice guidelines for the Treatment of Alzheimer Disease and Other Dementias of Late Life (2004).

Comportamiento	Terapia
Agitación/Agresividad	Antipsicóticos, antidepresivos, ansiolíticos, anticonvulsivos.
Ansiedad	Antidepresivos, ansiolíticos, anticonvulsivos.
Apatía	Antidepresivos, estimulantes.
Humor	Antidepresivos, anticonvulsivos.
Percepción	Antipsicóticos.
Síntomas vegetativos	Antidepresivos, ansiolíticos, estimulantes.

Existe evidencia de que los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) son mejor tolerados que otros antidepresivos ya que causan menos sedación, son menos cardiotoxicos y tiene menos efectos colinérgicos centrales y periféricos que los antidepresivos tricíclicos (Inga y cols, 2011). Se ha observado una mejora en pacientes con EA que presentan síntomas como agitación, agresividad o depresión que usan citalopram como tratamiento (Drye y cols, 2009; Porsteinsson y cols, 2014).

2.4 Antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS's).

2.4.1 Serotonina.

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT) es un neurotransmisor involucrado en funciones autónomas, actividad motora, secreción de hormonas, cognición y algunos procesos complejos asociados con humor y emociones (Zhou, 2007).

En las neuronas serotoninérgicas el triptófano (TRP) es convertido en 5-HT mediante dos reacciones catalizadas por las enzimas triptófano hidroxilasa (TPH) y la descarboxilasa aromática (DDC) (Struder y cols, 2001). 5-HT es almacenado en vesículas presinápticas y su transporte es mediado por el transportador de monoaminas (SLC18A2). La 5-HT no almacenada es degradada por la monoaminoxidasa A (MAOA) a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Hoffman y cols, 1998). Una vez liberada la 5-HT de las vesículas presinápticas puede interactuar con los receptores presinápticos y postsinápticos. La interacción con los receptores presinápticos 1A (HTR1A), B (HTR1B), y D (HTR1D) atenúa la excitación de 5-HT. La interacción con receptores postsinápticos HTR1 (HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR1E, HTR1F) y HTR2 (HTR2A, HTR2C) interviene en la activación de cascadas de señalización mediadas por segundos mensajeros (Struder y cols, 2001). El transportador de solutos de la familia 6 miembro 4 (transportador de serotonina, SLC6A4) es el encargado de recapturar la 5-HT en la neurona presináptica (Quick, 2003).

2.4.2 La serotonina en la depresión y otros desórdenes afectivos.

En 1967 se propuso la hipótesis de la participación de la serotonina en la depresión. Esta hipótesis propone que una disminución en la actividad en la vía de la 5-HT está relacionada con la fisiopatología de la depresión (Coppin, 1967). Sin embargo, el papel de la serotonina en la depresión ha sido controversial ya que se argumenta que ha habido una promoción excesiva de los ISRS's basada en la hipótesis de la serotonina (Kirsch y cols, 2008). Estudios recientes en modelos animales han

descrito que diversos componentes del sistema 5-HT como la triptófano-hidroxilasa, el transportador 5-HT o receptores específicos de 5-HT (5-HT_{1A}) están involucrados en alteraciones que mimetizan el estado depresivo en humanos y, en algunos casos, ansiedad (Cowen, 2008; Albert y cols, 2012). Se ha sugerido que receptores enriquecidos en el segmento ventral del hipocampo como Htr1a, Htr2c y Htr7 juegan un papel en el humor y en comportamientos relacionados con la ansiedad, similar al efecto ansiolítico y antidepresivo de los ISRS's (Phil, 2012).

2.4.3 Farmacodinamia de los ISRS's.

La diana molecular de los ISRS's es el transportador de serotonina SLCA4. Esta interacción se refleja en la inhibición de la recaptura de 5-HT del espacio o hendidura sináptica a la neurona presináptica, lo que permite que la 5-HT permanezca mayor tiempo en el espacio sináptico e interaccione con los receptores postsinápticos (Quick, 2003). El mecanismo se puede apreciar en la Figura 3. Esta clase de antidepresivos requiere de 2-4 semanas para que se observe su efecto terapéutico, tiempo en el cual la neurotransmisión noradrenérgica y serotoninérgica se adapta a los cambios (Vidal y cols, 2009).

Los cinco ISRS's disponibles en el mercado son fluoxetina, paroxetina, fluvoxamina, setralina y citalopram. Este último posee un enantiómero, el escitalopram, con las mismas propiedades terapéuticas del citalopram. El escitalopram es el enantiómero S del citalopram, mientras que el citalopram está compuesto por la mezcla racémica de los enantiómeros S y R.

2.2.4 Citalopram y escitalopram

El citalopram pertenece a la familia de los antidepresivos ISRS's y su estructura se puede observar en la Figura 4. El citalopram y su metabolito N-desmetilado existen como mezcla racémica pero el efecto farmacológico es debido al enantiómero S (Sánchez, 2006). A pesar de que el metabolito N-desmetilcitalopram posee actividad farmacológica, éste no cruza la barrera hematoencefálica por lo que no puede llevar a cabo su actividad (Brøsen y Naranjo, 2001).

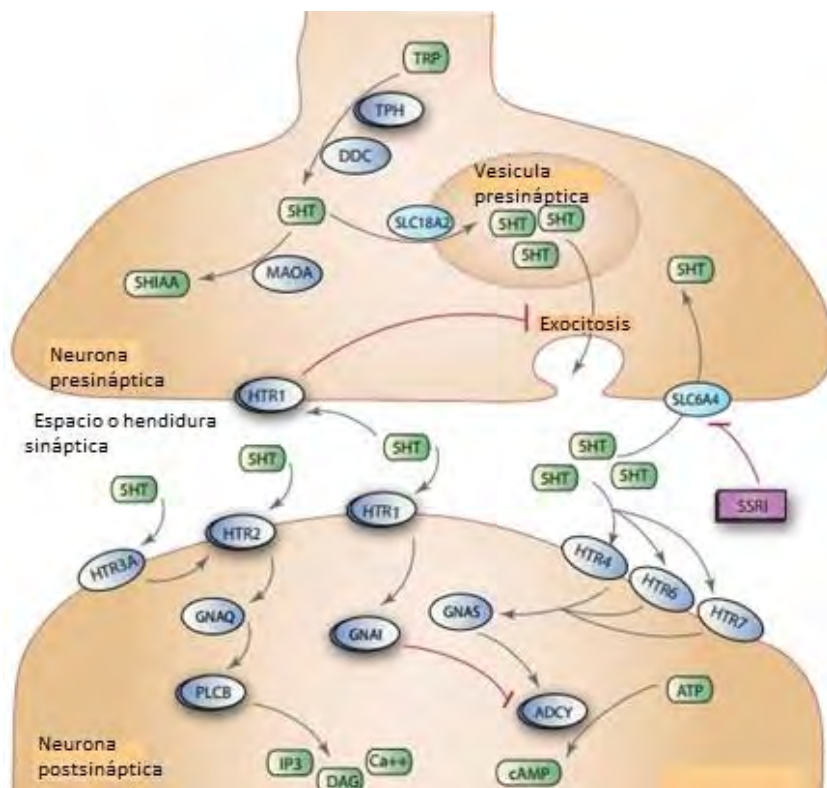


Figura 3. Farmacodinamia de los antidepresivos ISRS's. Se aprecia el bloqueo del transportador SLC6A4 que impide la recaptura de serotonina en la neurona presináptica. Esto permite la interacción con los receptores presentes en la neurona postsináptica. Tomada y modifica de PharmGKB.org.

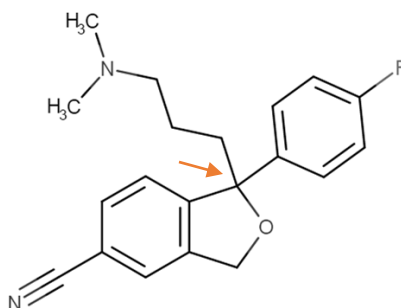


Figura 4. Estructura química del citalopram. Molécula de citalopram, cuyo nombre según IUPAC es 1-[3-(dimetilamino) propil]-1-(4-fluorofenil)-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-carbonitrilo. Se señala con una flecha el carbono quiral de la molécula.

Además de su actividad sobre la recaptura de serotonina también se ha reportado que impacta en menor medida sobre la recaptura de dopamina y noradrenalina. El

efecto clínico que mejora los síntomas del humor y disminuye la ansiedad se debe a los cambios adaptativos en la función neuronal que potencian el sistema serotoninérgico. Este proceso adaptativo tarda por lo regular dos semanas en las cuales aún no se presenta el efecto terapéutico. En estas dos semanas aparecen efectos adversos como boca seca, mareo, somnolencia, disfunción sexual y dolor de cabeza. Es importante mencionar que el citalopram es el ISRS que presenta menos interacciones fármaco-fármaco (Wang y Pae, 2013).

El citalopram y escitalopram pueden producir diversos efectos adversos, algunos de ellos independientes de dosis, por ejemplo mareos, sudoración, náuseas, vómito, temblores involuntarios, somnolencia, irregularidades en el ritmo cardiaco, pérdida de la memoria, confusión, convulsiones, pérdida de la conciencia, presencia de un color azulado alrededor de la boca, dedos y uñas, dolor muscular, orina oscura, dolor de pecho, cansancio, alteración en la frecuencia respiratoria, alucinaciones, fiebre, rash cutáneo, ictericia, pérdida de la coordinación, rigidez muscular, urticaria, dolor de cabeza, entre otros (Ferguson, 2001).

La agencia de salud de los Estados Unidos, *Food and Drug Administration* (FDA), emitió un comunicado en 2011 acerca de las anomalías en el ritmo cardiaco causadas por dosis elevadas de citalopram y recomendó no prescribir posologías mayores a 40 mg por día. En cuanto a los cambios en la actividad eléctrica del corazón (prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma [ECG]), el citalopram puede ocasionar un ritmo cardiaco anormal e incluso conducir a *torsade de pointes* que puede ser mortal. El efecto es dosis-dependiente por lo que factores genéticos y ambientales que influyan en la concentración plasmática del fármaco pueden favorecer la aparición de este efecto (FDA, 2012).

2.4.5 Farmacocinética de citalopram y escitalopram

El citalopram se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal. En este proceso participa la glicoproteína-P, una proteína transmembranal de eflujo que puede afectar el transporte activo del fármaco a través de las barreras. Esta proteína se encuentra expresada en enterocitos y en la barrera hematoencefálica (Karlsson y

cols, 2013). Alcanza su concentración plasmática máxima a las cuatro horas de ser administrado por vía oral con una biodisponibilidad del 80% y tiene una vida media de 35 horas (Paulzena y cols, 2016). El citalopram tiene un volumen de distribución de 12 L/kg. Es muy lipofílico y se distribuye a través de todo el cuerpo, incluyendo la barrera hematoencefálica. (Paulzena y cols, 2016).

El citalopram es metabolizado principalmente en el hígado, siendo el N-desmetilcitalopram el principal metabolito, el cual presenta menor lipofilicidad y por tanto no atraviesa la barrera hematoencefálica. Otros metabolitos son N,N-didesmetilcitalopram, citalopram N-óxido, y citalopram ácido propanoico. Sus metabolitos poseen muy baja actividad y no contribuyen al efecto terapéutico del fármaco (Katrin y cols, 2011).

Las isoenzimas CYP3A4 y CYP2C19, que forman parte del complejo del citocromo P450 (CYP) son las encargadas de la producción del desmetilcitalopram en mayor medida, CYP2D6 también es capaz de catalizar la reacción pero lo hace en menor medida. Mientras que la enzima CYP2D6 es la enzima encargada de producir N,N-didesmetilcitalopram a partir del metabolito primario (Rochat y cols, 1997). En la Tabla 2 y en la Figura 5 se observan las rutas metabólicas del citalopram.

Tabla 2. Reacciones metabólicas de citalopram. Principales reacciones en la vía metabólica de citalopram donde se aprecia la importancia de las isoenzimas CYP2D6, CYP2C19 y CYP3A4.

Sustrato	Enzimas	Producto
Citalopram	CYP2D6	Citalopram-N-óxido
Citalopram	CYP2D6, CYP3A4	CYP2C19, N-desmetilcitalopram
Citalopram	Desconocida	Citalopram ácido propanoico
N-Desmetilcitalopram	CYP2D6	N,N-didesmetilcitalopram

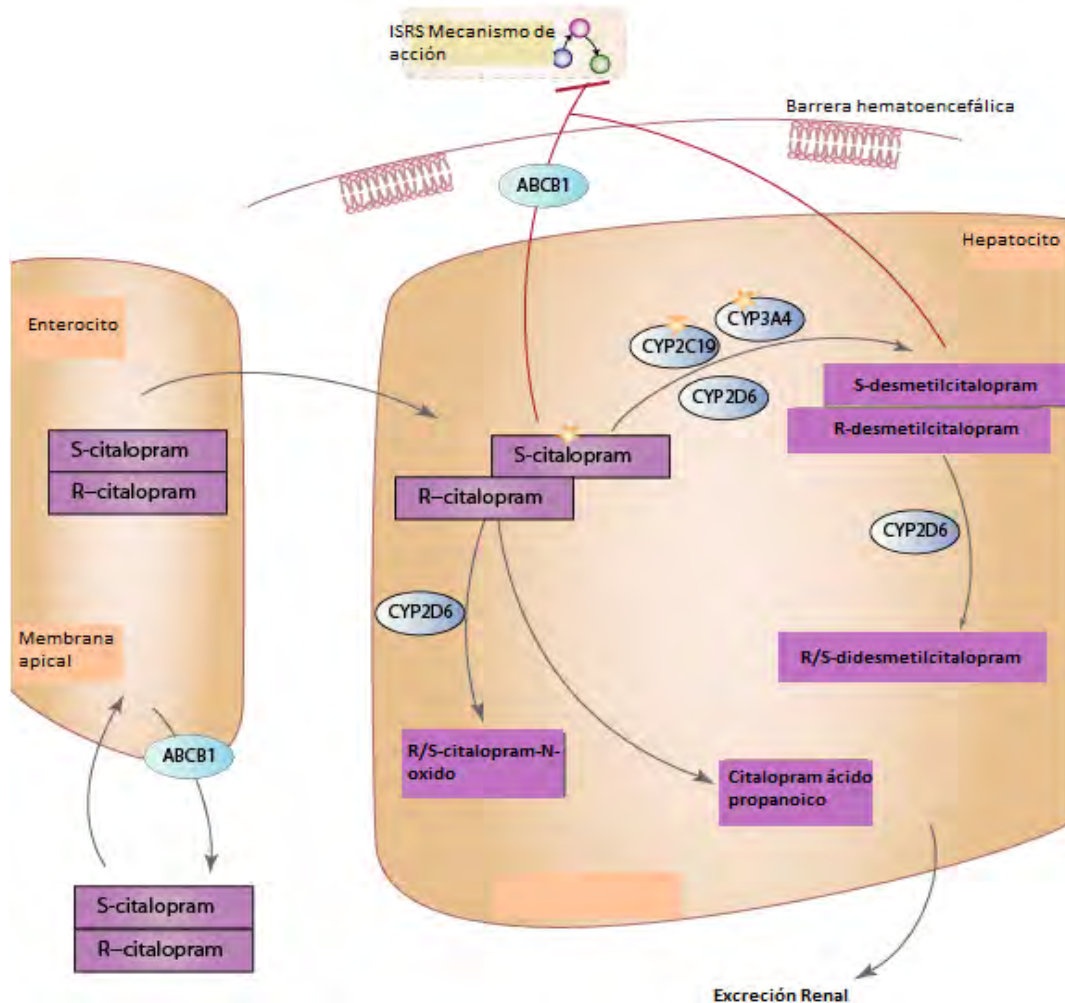


Figura 5. Metabolismo de Citalopram. Reacciones metabólicas durante la eliminación del citalopram. Se encuentran involucradas las isoenzimas CYP2C19 y CYP3A4 en la producción del metabolito primario en mayor proporción y CYP2D6 en menor. CYP2D6 también genera el metabolito secundario. Tomado y modificado de PharmGKB.org.

2.5 Farmacogenética.

En la farmacocinética y farmacodinamia de citalopram y escitalopram participan diversas enzimas, transportadores y receptores que pueden influir en la variabilidad de la respuesta antidepresiva y la ocurrencia de reacciones adversas. Por tanto, variantes en genes que codifican para estas proteínas pueden impactar el tratamiento con los ISRS's.

La farmacogenética se encarga del estudio de la variabilidad en la respuesta a fármacos debido a factores genéticos. El término fue acuñado por primera vez en 1959 por Vogel para referirse al estudio de la variación de los genes individuales en la respuesta a los medicamentos. La farmacogenética es una rama de un concepto más amplio llamado farmacogenómica, la cual se encarga de estudiar las bases moleculares y genéticas de las enfermedades con el fin diseñar nuevos esquemas terapéuticos (Arribas, 2010).

La variabilidad genética causante de las diferencias en la respuesta terapéutica puede ser debida a polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNPs) o también a inserciones y deleciones (de una a miles de pares de bases) en donde el gen puede estar eliminado por completo o, por el contrario, que se encuentre multiplicado (Arribas, 2010). Los SNPs pueden localizarse a lo largo del gen afectando la secuencia de aminoácidos de la proteína y por lo tanto su actividad fisiológica, o también pueden localizarse en la región reguladora del gen, afectando la capacidad de enlace de los factores de transcripción y por lo tanto el nivel de expresión del gen (Arribas, 2010). Dichas variantes pueden presentarse en intrones y afectar las secuencias donadoras o receptoras de splicing y por lo tanto afectar los niveles de expresión o la secuencia de aminoácidos de la proteína resultante (García-Blanco y cols, 2004). Estos polimorfismos genéticos condicionan a la farmacología influyendo tanto en la farmacocinética, como en la farmacodinamia (Altman y cols, 2002).

2.5.1 Farmacogenética de citalopram y escitalopram.

En el metabolismo del citalopram y el escitalopram están involucradas diversas enzimas, principalmente algunas pertenecientes CYP como CYP3A4, CYP2D6 y CYP2C19 (Rochat y cols, 1997).

2.5.2 CYP3A4.

CYP3A4 es la enzima CYP más abundante en el hígado y en los enterocitos. El sitio activo de CYP3A4 es muy grande y flexible. Además de citalopram y escitalopram,

metaboliza preferentemente sustratos lipofílicos como eritromicina, ciclosporinas, el antineoplásico taxol, tamoxifeno, las estatinas, antidepresivos, benzodiazepinas, opioides, entre otros (Bu, 2006).

CYP3A4 comparte 85% de su secuencia de aminoácidos con CYP3A5. Sin embargo, presentan sustratos específicos y son capaces de catalizar diferentes reacciones a partir del mismo sustrato (Williams y cols, 2002). Estas enzimas son muy importantes ya que metabolizan alrededor del 30% de los fármacos (Figura 6) (Bu, 2006).

El gen *CYP3A4* forma parte del clúster CYP3A y se encuentra en el cromosoma 7q22.2 (Nelson, 2004). A pesar de que CYP3A4/5 están encargados de la mayor parte del metabolismo de fármacos, son muy pocos los polimorfismos que tienen un verdadero impacto en la variabilidad en la respuesta terapéutica (Penno y cols, 1981). Aunque se han observado patrones de heredabilidad en el metabolismo de fármacos en CYP3A4, las bases genéticas de este fenómeno permanecen ocultas (Perera, 2010). Solo el alelo *CYP3A4*22* se ha asociado con un menor efecto terapéutico de las estatinas (Wang y cols, 2011).

Las variantes genéticas de *CYP3A4* pueden no llegar a ser tan relevantes ya que existen fenómenos importantes de inducción e inhibición enzimática que modifican el tiempo de exposición al fármaco en el organismo. En la Tabla 3 se observan algunos ejemplos de inductores e inhibidores de CYP3A4 y de otras CYP que se pueden encontrar en la dieta o en tratamientos farmacológicos concomitantes.

2.5.3 CYP2C19

Diversos estudios relacionan variantes genéticas de *CYP2D6* y *CYP2C19* con las concentraciones plasmáticas citalopram y escitalopram, la respuesta terapéutica y la aparición de efectos adversos en la terapia de citalopram y escitalopram (Ji y cols, 2014).

El gen *CYP2C19* se encuentra en el cromosoma 10q24 y pertenece a la subfamilia *CYP2C*, que está compuesta por cuatro genes (*CYP2C18*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2C8*) homólogos (Nelson, 2004). Este gen es altamente polimórfico, se han reportado 34 alelos de *CYP2C19*, de los cuales algunos presentan una actividad disminuida como *CYP2C19*2* y *CYP2C19*3* (Hiratsuka, 2016). El alelo *CYP2C19*2*, como el resto de los alelos, representa un haplotipo conformado por más de un SNP, sin embargo, uno de ellos es representativo y es el que se utiliza para genotificarlo. Para el alelo *CYP2C19*2* la variante determinante es 19154G>A, la cual resulta en la generación de un sitio aberrante de *splicing*, y la síntesis de una enzima de actividad nula (de Morais y cols, 1994). El alelo *CYP2C19*3* tiene como variante determinante 17948G>A, la cual se utiliza para su identificación. La enzima que resulta de este alelo es de actividad nula ya que le polimorfismos introduce un codón de paro prematuro (de Morais y cols, 1994).

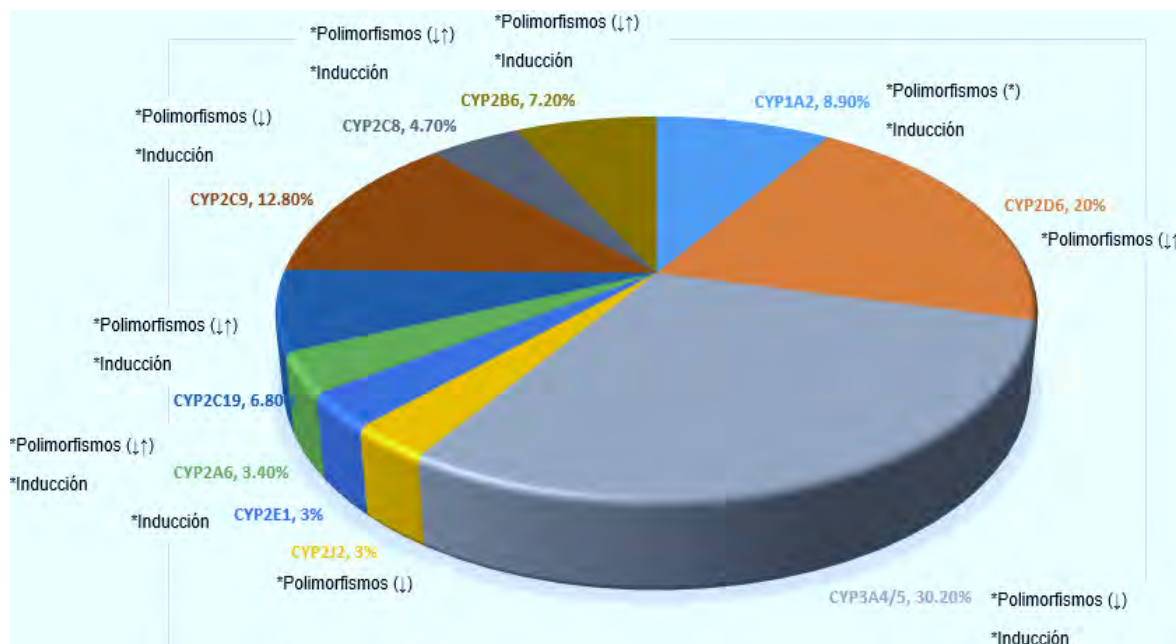


Figura 6. Proporción de fármacos procesados por las principales isoenzimas del CYP. Porcentaje de fármacos metabolizados por cada isoenzima, así como, los factores que afectan su funcionamiento (factores genéticos e inductores). Tomada y modificada de Zanger (2013). (*) Factor aún en controversia.

El gen CYP2C19 también tiene alelos de actividad aumentada como el alelo *CYP2C19*17* cuya variante crucial es -806C>T que resulta en una sobre expresión del gen que se ha asociado con un metabolismo ultrarrápido de los sustratos de CYP2C19 (Sibbing y cols, 2010).

Tabla 3. Inductores e inhibidores de las principales enzimas CYP. Se señalan algunos de los inductores e inhibidores más importantes de las enzimas CYP con mayor impacto en el metabolismo de fármacos. Tomada y modificada de Zanger (2013).

Enzima	Inductores	Inhibidores
CYP2C19	Ácido acetilsalicílico, barbitúricos, dexametasona, rifampicina, ritonavir, hierba de San Juan.	Clopidrogel, fluoxetina, voriconazol.
CYP2D6	No hay inductores para CYP2D6	Celecoxib, paroxetina, metadona, quinidina.
CYP3A4/5	Barbitúricos, dexametasona, ginko biloba, miconazol, fenobarbital, fenitoína, estatinas, Hierba de San Juan, topiromato, ácido valpróico.	Claritromicina, diltiazem, naringina, ketoconazol, verapamilo, voriconazol.

CYP2C19 se encarga de inactivar a los inhibidores de la bomba de protones (IBP), el anticoagulante clopidrogel y juega un papel importante en el metabolismo de antidepresivos de primera y segunda generación, dentro de los cuales se encuentran los ISRS's (Brøsen 2004; Zanger y cols, 2013;).

El genotipo de *CYP2C19* tiene impacto en el metabolismo de los inhibidores de la bomba de protones, diversos antidepresivos (clomipramina, amitriptilina, citalopram, moclobemida y escitalopram), benzodiacepinas, antifúngicos (voriconazol) y el fármaco antimalárico proguanil (Lee, 2013). De acuerdo al genotipo *CYP2C19* de los pacientes se puede predecir el fenotipo metabolizador de acuerdo a lo especificado en la Tabla 4.

El fenotipo metabolizador pobre (PM) es producto de los alelos *CYP2C19**2 (19154G>A; rs4244285) y *CYP2C19**3 (17948G>A; rs4986893) (Furuta y cols, 2007) y los pacientes heterocigotos y homocigotos para estos alelos presentan mayores concentraciones plasmáticas de fármacos sustrato de estas enzimas.

Por otro lado, el alelo *CYP2C19**17 (-806C>T; rs12248560) produce ganancia de función (fenotipo ultra metabolizador o UM). Algunos estudios han asociado la presencia de este alelo con agregación plaquetaria en pacientes en tratamiento con clopidrogel (inhibidor de la agregación plaquetaria), ineficacia al tratamiento con omeprazol y concentraciones plasmáticas bajas de escitalopram (Ohlsson Rosenberg y cols, 2008; Zabalza y cols, 2011).

La presencia del alelo *CYP2C19**17 se ha visto asociada con la disminución de la concentración plasmática de citalopram y con intervalos QTc más cortos en los electrocardiogramas, con respecto a los PM y a los metabolizadores intermedios (IM). Se ha observado que ni la dosis ni la concentración plasmática parecen estar relacionadas significativamente con el intervalo QTc y que los pacientes PM presentan intervalos QTc más largos (de Vos y cols, 2011; Kumar y cols, 2014).

Algunos estudios no han encontrado asociación entre el fenotipo metabolizador de *CYP2C19* y la respuesta terapéutica de citalopram y escitalopram (Chee y cols, 2013; Ji y cols, 2014, Peters y cols, 2016). Sin embargo, en la población china donde el fenotipo PM es bastante frecuente, se ha visto una asociación entre la presencia de este fenotipo y la aparición de efectos adversos en pacientes tratados con citalopram (Jin y cols, 2010).

Tabla 4. Predicción de fenotipos metabolizadores a partir de los genotipos para los genes CYP2C19 Y CYP2D6. Se señalan las características de los genotipos en los individuos para que les sea asignado su fenotipo respondedor. Se ejemplifican algunos genotipos pertenecientes a los diferentes fenotipos, sin embargo, no son todos los posibles. Para CYP2D6 se adiciona la actividad o capacidad enzimática con la que cuenta cada fenotipo. Tomada y modificada de Hicks (2015).

Fenotipo respondedor	Actividad enzimática	Genotipos	Ejemplos de genotipos
CYP2C19			
Metabolizadores ultrarrápidos (UM 5-30%)		Individuos que portan dos alelos con función incrementada o un alelo de función normal y uno con función incrementada.	*17/*17, *1/*17
Metabolizadores extensivos (EM 35-50%)		Individuos que portan dos alelos con función normal.	*1/*1*
Metabolizadores intermedios (IM 18-45%)		Individuos que portan un alelo con función normal o incrementada y otro alelo de función nula.	*1/*2, *1/*3, *2/*17
Metabolizadores lentos (PM 2-15%)		Individuos con dos alelos nulos.	*2/*2, *2/*3, *3/*3
CYP2D6			
Metabolizadores ultrarrápidos (UM 1-2%)	>2.0	Individuos con multiplicaciones en alelos funcionales.	*1/*1xN, *1/*2xN, *2/*2xN
Metabolizadores extensivos (EM 77-92%)	1.0-2.0	Individuos con dos alelos normales o dos alelos con función disminuida o un alelo normal y un alelo nulo, o un alelo normal y un alelo con función disminuida.	*1/*1, *1/*2, *1/*4, *1/*5, *1/*9, *1/*41, *2/*2, *41/*41
Metabolizadores intermedios (IM 2-11%)	0.5	Individuos con un alelo con función disminuida y un alelo nulo.	*4/*10, *4/*41, *5/*17*
Metabolizadores lentos (PM 5-10%)	0	Individuos que portan dos alelos nulos.	*3/*4, *4/*4, *5/*5, *5/*6*

Otros estudios indican que no existe un impacto significativo de la presencia del alelo *CYP2C19*17* en el metabolismo de citalopram; sin embargo, el alelo *CYP2C19*2* sí se ha asociado significativamente con diferencias en las concentraciones plasmáticas (Uckun y cols, 2015).

Otros estudios han encontrado que el genotipo de *CYP2C19* parece tener un impacto en el metabolismo del S-citalopram pero no del R-citalopram (Akil, 2016), lo cual puede significar que el impacto del fenotipo sea mayor en pacientes que toman escitalopram que en aquellos que toman citalopram.

Es importante señalar que las frecuencias alélicas de los principales alelos en población mestizo mexicana son de 9% para los alelos *CYP2C19*2* y *CYP2C19*17*; y de 0% para el alelo *CYP2C19*3* (Ortega-Vázquez y cols, 2015).

2.5.4 CYP2D6.

CYP2D6 es una enzima no inducible por el consumo de tabaco, alcohol o de actividad variable debida al género (Kimura y cols, 1989). Sin embargo, el contenido hepático y el funcionamiento de CYP2D6 varía drásticamente de persona a persona debido a los polimorfismos genéticos (Zanger y cols, 2001).

Aunque CYP2D6 presenta una expresión relativamente baja en el hígado, un gran número de fármacos es metabolizado por esta enzima. Entre ellos se encuentran algunos antiarrítmicos (propafenona, mexiletina, flecainida), antidepresivos tricíclicos y de segunda generación (amitriptilina, paroxetina, venlafaxina), antipsicóticos (aripripazol, risperidona), β -bloqueadores (bufuralol, metoprolol), antineoplásicos (tamoxifeno), analgésicos opioides (codeína, tramadol), entre otros (Stingl, 2012).

El gen *CYP2D6* pertenece a la subfamilia *CYP2D* y se encuentra en el cromosoma 22q13.1 (Kimura y cols, 1989). Los polimorfismos del gen *CYP2D6* han sido los más estudiados a través de los años. Estos polimorfismos son los que tienen el mayor impacto dentro de todas las isoenzimas CYP. *CYP2D6* presenta alelos nulos (por

ejemplo *CYP2D6**4 y *5) que derivan en fenotipos PM, alelos de actividad reducida (*CYP2D6**10 y *17) en fenotipos IM y se pueden presentar múltiples copias de alelos funcionales que se expresen fenotípicamente como UM (Griese y cols, 1998). Se conocen 109 alelos hasta ahora. La predicción de estos fenotipos metabolizadores a partir del genotipo de *CYP2D6* se realiza conforme a la Tabla 4.

Entre los alelos con mayor frecuencia a nivel mundial se encuentran *CYP2D6**2 (2850C>T; rs16947), *CYP2D6**3 (2549delA; rs35742686), *CYP2D6**4 (100C>T; rs1065852 y 1846G>A; rs3892097), *CYP2D6**5 (delección del gen), *CYP2D6**6 (1707delT; rs5030655), *CYP2D6**10 (100C>T; rs1065852), *CYP2D6**17 (1023C>T; rs28371706 y 2850C>T; rs16947), *CYP2D6**35 (31G>A; rs769258) y *CYP2D6**41 (2850C>T; rs16947 y 2988G>A; rs38371725). El más frecuente es el alelo *CYP2D6**2, sin embargo, su actividad es aproximadamente igual en 80% con respecto al alelo silvestre. El alelo *CYP2D6**35 también posee actividad normal (Griese y cols, 1998; Pietarinen y cols, 2016).

Los alelos *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5 y *CYP2D6**6 son de actividad nula. Siendo el alelo *CYP2D6**4 el más frecuente (hasta un 25% en caucásicos), el alelo *CYP2D6**5 está presente en un 3-5% de la población en general, mientras que los alelos *CYP2D6**3 y *CYP2D6**6 se encuentran en un 1-3% de la población caucásica (Griese y cols, 1998). En población mestiza mexicana el alelo *CYP2D6**3 tiene una frecuencia de 1.44%, el alelo *CYP2D6**4 de 11.21% y el alelo *CYP2D6**5 de 2.67% (López y cols, 2005).

Los principales alelos de actividad reducida son *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17. El alelo *CYP2D6**10 prevalece en el este de Asia y el alelo *CYP2D6**17 en población africana (Griese y cols, 1998). Su frecuencia en población mexicana es de 12.45% y 1.65%, respectivamente (López y cols, 2005).

Debido a la amplia variación en este gen, el impacto que tienen las variantes de *CYP2D6* en el metabolismo de los fármacos que son sus sustratos es, por lo general, muy importante.

El fenotipo metabolizador de CYP2D6 se ha visto asociado de manera significativa con los niveles plasmáticos de citalopram y N,N-desmetilcitalopram (de Vos y cols, 2013). Sin embargo, estudios han asociado al alelo *CYP2D6*10* con variaciones en las concentraciones plasmáticas en pacientes de origen chino (Chen y cols, 2013).

Estudios *in vitro* en células de insectos han logrado detectar una variación entre el 38–129% en la concentración de desmetilcitalopram y 13–138% de citalopram N-oxido, principales metabolitos de citalopram, dependiendo de 24 variantes genéticas de *CYP2D6* que expresan estas células comparadas con el genotipo silvestre (Hua y cols, 2016).

En dos estudios se reportó una asociación entre el genotipo *CYP2D6* y las concentraciones plasmáticas de escitalopram y sus metabolitos, así como, la aparición de efectos adversos menores como boca seca. Sin embargo, no se ha podido encontrar una asociación entre la concentración plasmática y la aparición de efectos adversos mayores (Ji y cols, 2014; Huafröid y cols, 2013).

2.5.5 Glicoproteína-P

La glicoproteína-P (P-gp) está conformada por 280 aminoácidos y pertenece a una familia conocida como *ATP-binding cassette*. El transportador ABCB1, como también se le conoce, es el más estudiado de la familia ABC y es codificado por el gen *ABCB1* (Dean y cols, 2011). La P-gp utiliza energía mediante la hidrólisis de ATP para llevar a cabo el transporte activo de xenobióticos, el cual se realiza en contra de un gradiente de concentración (Lin y cols, 2003). La P-gp es abundante en los enterocitos de las vellosidades del yeyuno y el colon, en el endotelio capilar de la barrera hematoencefálica, barrera hematotesticular, glándula adrenal, túbulo renal proximal, células pancreáticas y placenta (Thiebaut, 1978).

Algunos factores que pueden afectar el funcionamiento de la P-gp son sustratos, inhibidores e inductores, el género y los polimorfismos genéticos.

Se han reportado alrededor de 4453 SNP's en *ABCB1* pero solo 124 presentan una frecuencia mayor al 5% en población caucásica (Hodges y cols, 2011). Dentro de todos estos polimorfismos existen tres que han sido ampliamente estudiados por su frecuencia, consecuencias funcionales e implicaciones clínicas. Estos polimorfismos son 3435C>T, 2677G>T/A y 1236C>T (Bruhn, 2014). El primero de ellos es una mutación silenciosa, que modifica la expresión del gen y la actividad de la proteína; además se ha visto asociado a cambios en la biodisponibilidad de digoxina, concentraciones intracelulares de ciclosporinas, respuesta terapéutica a antiepilépticos y efectos adversos en terapia con opioides (Bruhn, 2014; Johne, 2002).

El polimorfismo 2677G>T/A produce una proteína con actividad modificada que se ha visto asociada con la respuesta a imanitib y con la aparición de efectos adversos en terapia con opioides (Dulucq, 2008). El polimorfismo 1236C>T es una mutación silenciosa, y también se ha asociado con la respuesta a imatinib y efectos adversos a opioides (Bruhn, 2014; Dulucq, 2008).

El polimorfismo 3435T>C (rs1045642) tiene una frecuencia en población mestiza mexicana de 49% y para el polimorfismo 1236C>T (rs1128503) del 50%. El polimorfismo 2677G>T/A (rs2032583) es trialélico, en el mismo estudio la frecuencia fue de 42% para la variante T y 7% para la variante A (Ortega-Vázquez y cols, 2015).

Los genes que codifican para enzimas CYP no han sido los únicos estudiados dentro de la farmacogenética de citalopram y escitalopram, estudios sugieren que el genotipo de *ABCB1* (2677G>T/A (rs2032583) y 1236C>T (rs1128503)) puede estar involucrado en la variación en la respuesta terapéutica a ISRS's, así como en la aparición de efectos adversos. Aunque no se han observado alteraciones en la concentración plasmática de citalopram y escitalopram (Huang y cols, 2013).

2.5.6 Otros factores que producen variabilidad interindividual en el funcionamiento de CYPs involucrados en el metabolismo de citalopram y escitalopram.

Diversos estudios han dilucidado que tanto la funcionalidad de las enzimas CYP, como la expresión génica, presentan una gran variabilidad interindividual, debido a factores como: polimorfismos genéticos, la influencia epigenética, la politerapia con inhibidores e inductores enzimáticos, y factores intrínsecos del paciente como la masa corporal, la distribución de la grasa en el cuerpo, el flujo sanguíneo en el hígado, así como la expresión de las enzimas metabolizadoras y los transportadores (Zanger y cols, 2013).

2.5.7 Inductores e inhibidores.

Las diversas isoenzimas del CYP son fácilmente inducibles, lo que posee implicaciones clínicas importantes, puesto que constituye un mecanismo bioquímico de interacción farmacológica (Lin y Lu, 1998). La inducción también se puede dar por un incremento de la transcripción génica o mecanismos post-transcripcionales como la estabilización de mRNA. El efecto de los inductores permanece poco tiempo después de retirarlos (Whitlock, 1999).

Los inhibidores interactúan directamente con la enzima, ya sea en el sitio catalítico o en un sitio alostérico. Existen inhibidores potentes, moderados y débiles. Al ser retirados los inhibidores que no son irreversibles (por ejemplo, la naringina, en el jugo de toronja, para CYP3A4), permiten que la enzima realice su función con normalidad.

En la Tabla 3 se señalan algunos de los inductores e inhibidores de las enzimas más importantes en el metabolismo de citalopram y escitalopram.

2.5.8 Factores no genéticos propios de cada individuo.

El género de los pacientes es uno de los principales factores que tiene una influencia sobre la farmacocinética. El género impacta en la farmacocinética por diversos

factores como la masa corporal, la distribución del tejido adiposo, el flujo sanguíneo en el hígado, así como, la expresión de transportadores y enzimas (Zhang y cols, 2001). Se ha estudiado en modelos animales la expresión de enzimas de CYP específicas de género, y se ha encontrado que por lo general existe una mayor expresión en hembras. Por otro lado, la mayoría de los estudios clínicos indican que las mujeres metabolizan los fármacos más rápido que los hombres (Cotreau y cols, 2005).

La edad es otro factor que afecta la capacidad para metabolizar fármacos, principalmente en los extremos de la vida, en donde la capacidad metabólica es baja (Cotreau y cols, 2005).

Algunas enfermedades, principalmente aquellas que afectan al hígado como cirrosis, hígado graso o esteatohepatitis; afectan la capacidad metabólica. Asimismo, se ha reportado que los procesos infecciosos también afectan la capacidad metabólica (Elbekai, 2004).

2.5.9 Factores epigenéticos.

Algunos cambios heredables en la función génica no se basan en variaciones en la secuencia de DNA. Este tipo de cambios son producidos por factores epigenéticos, principalmente metilación de DNA y modificación de histonas. El primero involucrado en el control de la expresión génica y el segundo en la accesibilidad de la cromatina, así como, su actividad transcripcional. Muchos de estos procesos de regulación son llevados a cabo por miRNAs (micro ARNs) (Ingelman-Sundberg y Gomez, 2010).

Estos factores epigenéticos son afectados por los factores no genéticos de los individuos como género, edad y factores ambientales. Además, existen polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNP's) en los miRNAs y en los sitios de unión de los miRNAs, así como, variantes en el número de copias (CNVs) que afectan la expresión génica (Schmeier, 2011).

3. Planteamiento del problema.

El creciente número de casos de EA en el país, así como la perspectiva que se tiene a futuro de la misma enfermedad, lo hacen un problema de salud pública. En la práctica clínica se ha observado que la respuesta terapéutica de los pacientes con EA ante antidepresivos inhibidores de la recaptura de serotonina presenta una gran variación interindividual. Se sabe que la farmacogenética tiene un papel importante en estas variaciones y por lo tanto es necesario estudiar el impacto que tienen genes involucrados en la farmacocinética del citalopram y el escitalopram en la respuesta a dichos fármacos en pacientes mestizos mexicanos con EA .

4. Hipótesis

Variantes en los genes *CYP2C19*, *CYP2D6* y *ABCB1* impactan en la respuesta a citalopram y escitalopram, así como, en la aparición de efectos adversos en pacientes mestizos mexicanos con EA.

5. Objetivos

General:

- Evaluar el impacto de diferentes variantes en los genes *CYP2D6*, *CYP2C19* y *ABCB1* en la respuesta terapéutica a citalopram y escitalopram, así como, en la aparición de efectos adversos, en pacientes mestizos mexicanos diagnosticados con EA.

Particulares:

- Evaluar la asociación de los polimorfismos 3435T>C (rs1045642), 1236C>T (rs1128503) y 2677G>T/A (rs2032583) del gen *ABCB1* con la respuesta a citalopram y escitalopram en una muestra de pacientes mestizos mexicanos con EA con depresión.

- Evaluar la asociación de los alelos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* y *CYP2C19*17* del gen *CYP2C19* con la respuesta a citalopram y escitalopram en pacientes mestizos mexicanos con EA con depresión.
- Evaluar la asociación de los alelos *CYP2D6*2*, *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5*, *CYP2D6*6*, *CYP2D6*10* y *CYP2D6*17*, así como las posibles multiplicaciones de los mismos con la respuesta a citalopram y escitalopram en pacientes mestizos mexicanos con EA con depresión.
- Evaluar si existe algún factor no genético que afecte la respuesta a citalopram y escitalopram en pacientes mestizos mexicanos con EA con depresión.

6. Procedimiento experimental.

6.1 Población de estudio.

Se estudiaron 47 pacientes diagnosticados con EA, tratados con citalopram o escitalopram, atendidos en el Departamento de Neurogenética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN). Los 47 pacientes fueron seleccionados de un banco de muestras de más de 700 pacientes con demencia. Los pacientes fueron depurados de tal forma que los 47 pacientes que se estudiaron tuvieran diagnóstico de EA, trastorno depresivo mayor y estuvieran en tratamiento con citalopram o escitalopram.

Los pacientes fueron clasificados como respondedores y no respondedores a la terapia de acuerdo a la mejora en el estado de ánimo y en los síntomas depresivos; o en tolerante o hipersensible al medicamento en caso de que registraran alguna reacción adversa.

La respuesta terapéutica se determinó mediante los reportes médicos sobre la evolución en estado de ánimo de los pacientes, respetando el periodo de latencia para observar los efectos antidepresivos de los fármacos.

Las reacciones adversas de citalopram y escitalopram que se buscaron en los expedientes clínicos fueron: náusea, arritmia, cefalea, sudoración, convulsiones, agitación, insomnio, hipersomnia, fatiga, anorexia, calambres musculares, *rash* cutáneo, problemas respiratorios y alteraciones de la marcha.

De cada paciente se registró la siguiente información: edad, género, diagnóstico, inicio de EA, antecedentes heredofamiliares, tratamiento concomitante, comorbilidad, tiempo de tratamiento, peso, talla, dosis del medicamento y descripción de las reacciones adversas. 5 de los 47 pacientes padecen hipotiroidismo.

6.1.1 Criterios de inclusión

- Pacientes mestizos mexicanos con EA (casos esporádicos y casos familiares) y trastorno depresivo mayor, tratados con citalopram y escitalopram, que acudan a consulta externa en el INNNMVS cuyos familiares o cuidadores primarios acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento informado.

- Pacientes que hayan suspendido el tratamiento con estos fármacos por ineficacia o presencia de reacciones adversas.

6.1.2 Criterios de exclusión.

- Individuos con padres o abuelos extranjeros.

- Pacientes cuyos familiares no acepten participar en el estudio.

- Pacientes con falta de adherencia al tratamiento con fármacos modificadores de demencia e inhibidores de la recaptura de serotonina.

6.2 Extracción de ADN genómico a partir de sangre periférica.

La extracción de ADN de las muestras de sangre periférica tomadas de los pacientes se realizó siguiendo el método modificado de Miller (precipitación por sales modificada por el laboratorio).

1. Se colocaron 3 a 4 mL de sangre en un tubo cónico de 15 mL y se agregó tres veces el volumen de Solución de Lisis de Glóbulos Rojos (cloruro de amonio 0.155M, Bicarbonato de potasio 10 mM, EDTA 0.1 mM; pH 7.4).
2. Se homogenizaron las muestras por inversión y se centrifugaron a 3000 rpm durante 6 min.
3. Se descartó el sobrenadante, se adicionó 1 mL de Solución de Lisis de Glóbulos Rojos y se agitó hasta resuspender el botón. Posteriormente, se trasladó a un microtubo de 1.5 mL, se agitó hasta homogenizar, se centrifugó a 3000 rpm durante 2 min y se descartó el sobrenadante. Se repitió este procedimiento tres veces.
4. Para la lisis de glóbulos blancos se adicionaron en cada tubo 570 μ L de NaCl 5 μ M y se agitó durante 2 min. Posteriormente se agregaron 40 μ L de SDS 10% y se agitó durante 5 min. Por último, se agregaron 200 μ L de solución saturada de NaCl y se agitó durante 10 min. Se centrifugó a 11500 rpm durante 20 min a 4°C.
5. Se separó el sobrenadante en un tubo limpio de 1.5 mL y se agregaron 600 μ L de cloroformo: alcohol isoamílico (49:1). Se agitó y se centrifugó a 14000 rpm durante 15 min a 4°C.
6. Se obtuvo la fase acuosa, se colocó en un tubo de 1.5 mL con 800 μ L de etanol absoluto y se centrifugó a 14000 rpm durante 15 min. Se decantó y se lavó con 700 μ L de etanol al 70%. Se centrifugó de nuevo a 14000 rpm durante 15 min.

7. Se decantó el sobrenadante y se secó el botón al vacío en un concentrador (*Eppendorf Concentrator 5301*) durante 15 minutos.
8. Una vez seca la muestra, se le adicionaron 100-300 μL de agua estéril para resuspender el ADN. Las muestras se almacenaron a 4°C hasta su uso.

6.3 Cuantificación del ADN.

Se determinó la concentración de cada muestra, usando un espectrofotómetro UV-visible (NanoDrop 2000 Spectrophotometer), colocando 2 μL de muestra en el paso óptico del equipo para obtener la concentración de la muestra en unidades de $\text{ng}/\mu\text{L}$. También se determinó el cociente A_{260}/A_{280} para determinar la pureza del ADN de cada muestra.

Una vez cuantificadas las muestras, se prepararon diluciones a 100 $\text{ng}/\mu\text{L}$, para llevar a cabo las técnicas de XL-PCR, PCR-RFLP y q-PCR. Las diluciones fueron almacenadas a 4°C para su posterior uso.

6.4 Genotipificación de los polimorfismos 3435T>C (rs1045642), 1236C>T (rs1128503) y 2677G>T/A (rs2032583) del gen ABCB1.

La genotipificación de las muestras fue realizada por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (q-PCR) para detección de polimorfismos mediante el uso de sondas alelo-específicas tipo Taqman® (Tabla 5).

Para realizar la genotipificación se realizó una mezcla final de reacción cuyo contenido se muestra en la Tabla 6 y se usaron las condiciones de reacción de la Tabla 7.

Tabla 5. Sondas utilizadas para genotipar las variantes genéticas analizadas de los genes *ABCB1*, *CYP2C19* y *CYP2D6*. Se utilizan dos sondas para analizar la variante trialélica rs2032583.

Gen	Sonda	Cambio de nucleótido y posición	ref. NCBI
<i>ABCB1</i>	C_758662_10	c.1236T>C	rs1128503
	C_7586657_20	c.3435T>C	rs1045642
	C_11711720D_40	c.2677G>T	rs2032583
	C_11711720C_30	c.2677G>A	rs2032583
<i>CYP2C19</i>	C_469857_10	g.-806C>T	rs12248560
	C_25986767_70	c.681G>A	rs4244285
	C_27861809_10	c.636G>A	rs4986893
<i>CYP2D6</i>	C_32407232_50	c.775delA	rs35742686
	C_27102431_D0	c.506-1G>A	rs3892097
	Hs00010001_cn	Variación en número de copias	N/A

Tabla 6. Volumen de los reactivos utilizado para la mezcla de reacción usada para q-PCR.

El volumen indicado por reactivo es el necesario para realizar una reacción.

Reactivo	Volumen (µL)
TaqMan Fast Universal PCR Master Mix	2.50
Sonda TaqMan®	0.25
ADN (100 ng/ µL)	1.00
H ₂ O c.b.p 5 µL	1.25

Tabla 7. Condiciones de ciclado para la discriminación alélica por PCR tiempo real. El programa utilizado no cambió para las determinaciones en los diferentes genes que se evaluaron. El ciclado tiene una temperatura de activación necesaria para la polimerasa *hot-start*.

Paso		Temperatura (°C)	Tiempo
Activación de la hot-start DNA polymerase		95	20 segundos
40 ciclos	Desnaturalización	95	1 segundo
	Alineamiento y elongación	60	20 segundos
Elongación final		60	1 minuto

La reacción se llevó a cabo en el equipo Step One® System y se usó el programa Step One® v2.2.2 para observar los resultados.

Para la genotipificación de la variante 2677G>T/A (rs2032583) fue necesario el uso de dos sondas diferentes, debido a que este polimorfismo es trialélico.

El análisis de los resultados de la variante 2677G>T/A (rs2032583) se realizó como se indica en la Tabla 8.

6.5 Genotipificación de los polimorfismos 19154G>A (rs4244285), 17948G>A (rs4986893) y -806C>T (rs12248560) correspondientes a los alelos CYP2C19*2, CYP2C19*3 y CYP2C19*17, respectivamente, del gen CYP2C19.

La genotipificación fue realizada mediante el uso de la técnica q-PCR para detección de polimorfismos con uso de sondas alelo-específicas tipo Taqman®. Las sondas empleadas para la genotipificación fueron C__25986767_70, C__27861809_10 y C__469857_10 (tabla 5), la preparación de la mezcla de reacción se muestra en la tabla 7. Las reacciones se llevaron a cabo en el equipo Step One® System y se usó el programa Step One® v2.2.2 para observar los resultados.

Tabla 8. Obtención del genotipo de la variante 2677G>T/A con base en los resultados del análisis realizado con las sondas C_11711720C_30 y C_11711720D_40. El genotipo de la variante 2677G>T/A se obtiene mediante los resultados de ambas sondas. El resultado indeterminado indica que ninguno de los alelos estudiados con esa sonda amplificó en el experimento.

Genotipo	Resultado para la sonda C_11711720C_30 C/A	Resultado para la sonda C_11711720D_40 C/T
C/C	<i>Wt</i>	<i>Wt</i>
C/T	<i>Wt</i>	<i>Ht</i>
A/T	<i>Hm</i>	<i>Hm</i>
A/A	<i>Hm</i>	Indeterminado
C/A	<i>Ht</i>	<i>Hm</i>
T/T	Indeterminado	<i>Hm</i>

Wt: alelo silvestre. Presencia homocigota del alelo silvestre en la muestra.

Ht: Heterocigoto. Presencia de ambos alelos en la muestra.

Hm: Homocigoto. Presencia homocigota del alelo mutado en la muestra.

Aquellas muestras que no tuvieron resultados positivos para alguna de estas variantes fueron consideradas como silvestres (*wt*), sin embargo, esto no elimina la posibilidad de que estas muestras tengan en su genotipo alguna variante alélica que no fue analizada.

6.6 Genotipificación de los alelos *CYP2D62, *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5, *CYP2D6**6, *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17, así como las posibles multiplicaciones de los mismos del gen *CYP2D6*.**

La genotipificación del gen *CYP2D6* se realizó siguiendo el esquema de la Figura 7. La genotipificación del alelo *CYP2D6**5 se realizó por medio de una reacción en cadena de la polimerasa larga (XL-PCR) en la cual se utilizaron los oligonucleótidos 5'2D6*5 y 3'2D6*5 (Tabla 9), y los oligonucleótidos DPkup y DPklow para la

amplificación del gen *CYP2D6* como control. La mezcla final de reacción se señala en la Tabla 10 y las condiciones de reacción se señalan en la Tabla 11.

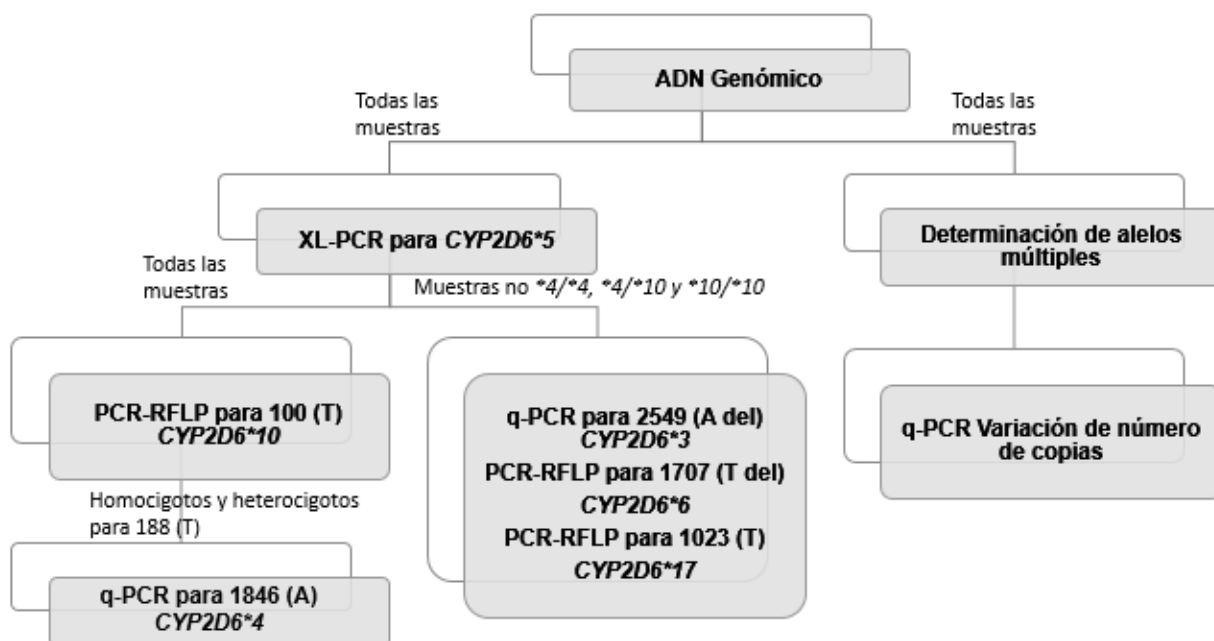


Figura 7. Diagrama de flujo para la genotipificación de *CYP2D6*. En el diagrama se muestran los pasos que se siguieron de manera ordenada para la genotipificación del gen *CYP2D6*.

La XL-PCR generó fragmentos de 5.1 kb, correspondiente al gen *CYP2D6*, y de 3.5 kb si se identificaba como positivo para el alelo *CYP2D6*5*. El análisis del producto de XL-PCR fue realizado por electroforesis en un gel de agarosa al 1%. En la Figura 8 se puede apreciar el patrón de bandas generado por el ensayo.

Tabla 9. Oligonucleótidos utilizados en las reacciones de PCR realizadas. Tomada y modificada de Dorado (2005) y Varela (2015).

Alelo o gen	Oligonucleótido	Secuencia (5'-3')	Tamaño del amplicón (pb)
*2	CYP2D6*2-Fw	5'-GCTGGGGCCTGAGACTT-3'	1029
2850C>T	CYP2D6*2-Rv	5'-GGCTATCACCAGGTGCTGGTGCT-3'	
*2 (alelos múltiples)	5'2D6dup	5'-GCCACCATGGTGTCTTTGCTTTCCTGG-3'	10,000
	3'2D6*1×N	5'-CCTGTCTCAAATGCGGCCAGGCGGTGGGGTA-3'	
*5	5'2D6*5	5'-CACCAGGCACCTGTACTCCTC-3'	Gen: 5100
	3'2D6*5	5'-CAGGCATGAGCTAAGGCACCCAGAC-3'	
CYP2D6 (gen completo)	DPKup	5'-GTTATCCCAGAAGGCTTTCAGGCTTCA-3'	*5: 3500
	DPKlow	5'-GCCGACTGAGCCCTGGGAGGTAGTA-3'	
*6	5'2D6*6	5'-TGCGCAACTTGGGCCTGGGCAAGAAGTCGCTGGACTAG-3'	385 o 384
1707delT	3'2D6*6	5'-CTCGGGAGCTCGCCTTGCAGAGACTC-3'	
*10	5'2D6*10	5'-CCTGATGCACCGGCGCCAACGCTGGGCTGCACAGTAC-3'	241
100C>T	3'2D6*10	5'-CAAACCTGCTTCCCCTTCTCAGCC-3'	
*17	5'2D6*17	5'-GGCGAGGACACCGCCGACCGCCCGCCTGTGCCAGTA-3'	206
1023C>T	3'2D6*17	5'-GGTTTCTTGGCCCGCTGTCCCCACTC-3'	

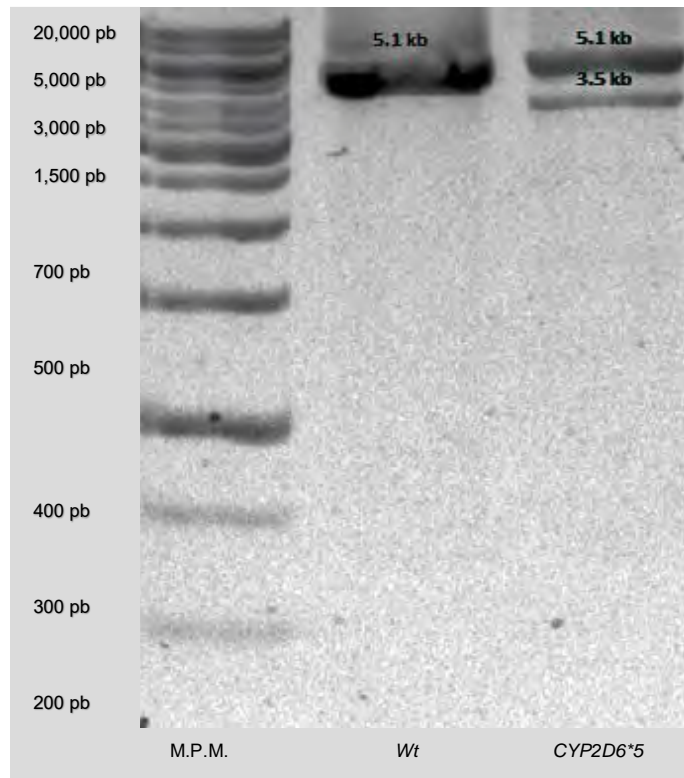


Figura 8. Patrones de bandas representativos de la genotipificación del alelo *CYP2D6*5* por XL-PCR. En el carril Wt se observa una muestra negativa para esta variante ya que solo se observa la banda correspondiente al gen *CYP2D6* (5.1 kb). En el carril *CYP2D6*5* se observa la banda correspondiente al gen y la banda de 3.5 kb que indica que la muestra es positiva para *CYP2D6*5* de manera heterocigota. M.P.M.= Marcador de peso molecular.

Tabla 10. Composición de la mezcla final de reacción para XL-PCR. Se utilizan 0.20 μ L de cada uno de los cuatro oligonucleótidos utilizados en las reacciones. 5'2D6*5, 3'2D6*5, DPkup y DPklow para la determinación del alelo *5.

Reactivo	Volumen (μ L)
Long-PCR Taq Enzyme	0.15
Buffer de reacción con $MgCl_2$	1.00
dNTP's 2 mM	1.00
Oligonucleótidos (cada uno)	0.20
ADN (100 ng/ μ L)	0.50
H ₂ O c.b.p 10 μ L	1.55

Tabla 11. Protocolo de ciclado para la XL-PCR usada para genotipar el alelo *CYP2D65.** La reacción consta de dos ciclos diferentes. En el segundo hay una gradiente de tiempo en la elongación en cual se incrementan cinco segundos por cada ciclo que transcurre.

Paso		Temperatura (°C)	Tiempo
Desnaturalización inicial		94	2 minutos
10 ciclos	Desnaturalización	95	20 segundos
	Alineamiento y elongación	68	4 segundos
20 ciclos	Desnaturalización	95	20 segundos
	Alineamiento y elongación	68	4 segundos (incrementando 5 segundos por ciclo)
Extensión final		68	7 minutos

Los alelos *CYP2D6**2, *6, *10 y *17 fueron determinados mediante la técnica PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Las condiciones de PCR se muestran en la Tabla 12 y los oligonucleótidos empleados para cada alelo en la Tabla 9. La mezcla final de reacción se realizó conforme a la Tabla 13. Para el alelo *CYP2D6**2 se utilizó ADN genómico (100 ng/μL) en vez del producto de XL-PCR como se usó para el resto de los alelos. Las reacciones se llevaron a cabo en el equipo Axygen™ MaxyGene™ II Thermal Cycler.

Tabla 12. Protocolo de ciclado para las reacciones de PCR necesarias para la genotipificación de *CYP2D6* por RFLP. Las condiciones de reacción mostradas en la tabla son válidas para las reacciones de los alelos *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17. En la PCR del alelo *CYP2D6**6 se modificó el número de ciclos a 15, mientras que la PCR del alelo *CYP2D6**2 necesitó de 25 ciclos, además la temperatura de alineamiento fue de 67°C.

Paso		Temperatura (°C)	Tiempo
Desnaturalización inicial		95	3 minutos
20 ciclos	Desnaturalización	95	10 segundos
	Alineamiento	65	15 segundos
	Elongación	72	5 segundos
Extensión final		72	1 minuto

Tabla 13. Composición de la mezcla final para las PCR realizadas en la genotipificación del gen CYP2D6. Las PCR realizadas se llevaron a cabo con el producto de la XL-PCR del alelo *5 con excepción del *2 para el cual se usó una dilución de ADN genómico (100 ng/μL).

Reactivo	Volumen (μL)
KAPA2G Fast Master Mix	10.0
Oligonucleotidos (cada uno)	1.5
ADN (100 ng/μL) o producto de XL-PCR	1.0
H ₂ O c.b.p. 20 μL	6.0

Para la reacción de restricción de ADN se utilizaron las enzimas de restricción *HhaI*, *SpeI*, *RsaI* y *ScaI* para los alelos *CYP2D6**2, *6, *10 y *17, respectivamente. La mezcla final para esta reacción se muestra en la Tabla 14. La incubación de las reacciones de restricción se llevó a cabo a 37°C por 15 minutos en el equipo Eppendorf Thermomixer Comfort. En la Tabla 15 se resumen las reacciones de restricción.

Tabla 14. Composición de la mezcla final para las reacciones de restricción de los RFLP. Los 8 μL señalados de producto de PCR se modificaron en algunos casos dependiendo del rendimiento de la PCR previa ajustando la cantidad de agua de modo que el volumen final fuera de 20 μL.

Reactivo	Volumen (μL)
Buffer Fast Digest	2.0
Enzima de restricción	1.0
Producto de PCR	8.0
H ₂ O c.b.p. 20 μL	9.0

La revisión de los productos digeridos se realizó por electroforesis en geles de agarosa al 3%. En la Figura 9 se pueden apreciar los patrones de bandeo que se observaron en los geles analizados. Con base en los resultados obtenidos se asignó el genotipo correspondiente a estos alelos conforme a la Tabla 4.

Tabla 15. Reacciones de restricción para la genotipificación de CYP2D6. En la tabla se observa el tamaño del amplicón de PCR, la endonucleasa utilizada en cada ensayo y los fragmentos generados después de que se llevó a cabo la reacción.

Alelo	Tamaño del amplicón (pb)	del Endonucleasa	Fragmentos producidos por la restricción (pb)
*2	1029	<i>HhaI</i>	Wt: 414 + 372; *2: 786
*6	385 o 384	<i>SpeI</i>	Wt: 351 + 34; *6: 384
*10	241	<i>RsaI</i>	Wt: 241; *10: 206 + 35
*17	206	<i>ScaI</i>	Wt: 170 + 36; *17: 206

La genotipificación de los alelos *CYP2D6**3 y *4 se realizó con la técnica de discriminación alélica por q-PCR, utilizando las sondas C__32407232_50 y C__27102431_D0 (Tabla 5), y una mezcla final de reacción conforme a la tabla 6.

La determinación de dosis génica se realizó mediante la técnica de variación de número de copias por q-PCR usando la sonda Hs00010001_cn (tabla 5) con una mezcla final de reacción conforme a la tabla 16. Las condiciones de reacción se especifican en la Tabla 17. Las muestras se ajustaron a una concentración de 20 ng/μL para el ensayo.

En cada ensayo realizado se analizaron controles de los cuales se conocía su dosis génica previamente. Cada muestra y control fue analizado cuatro veces por ensayo con el fin de obtener un resultado preciso.

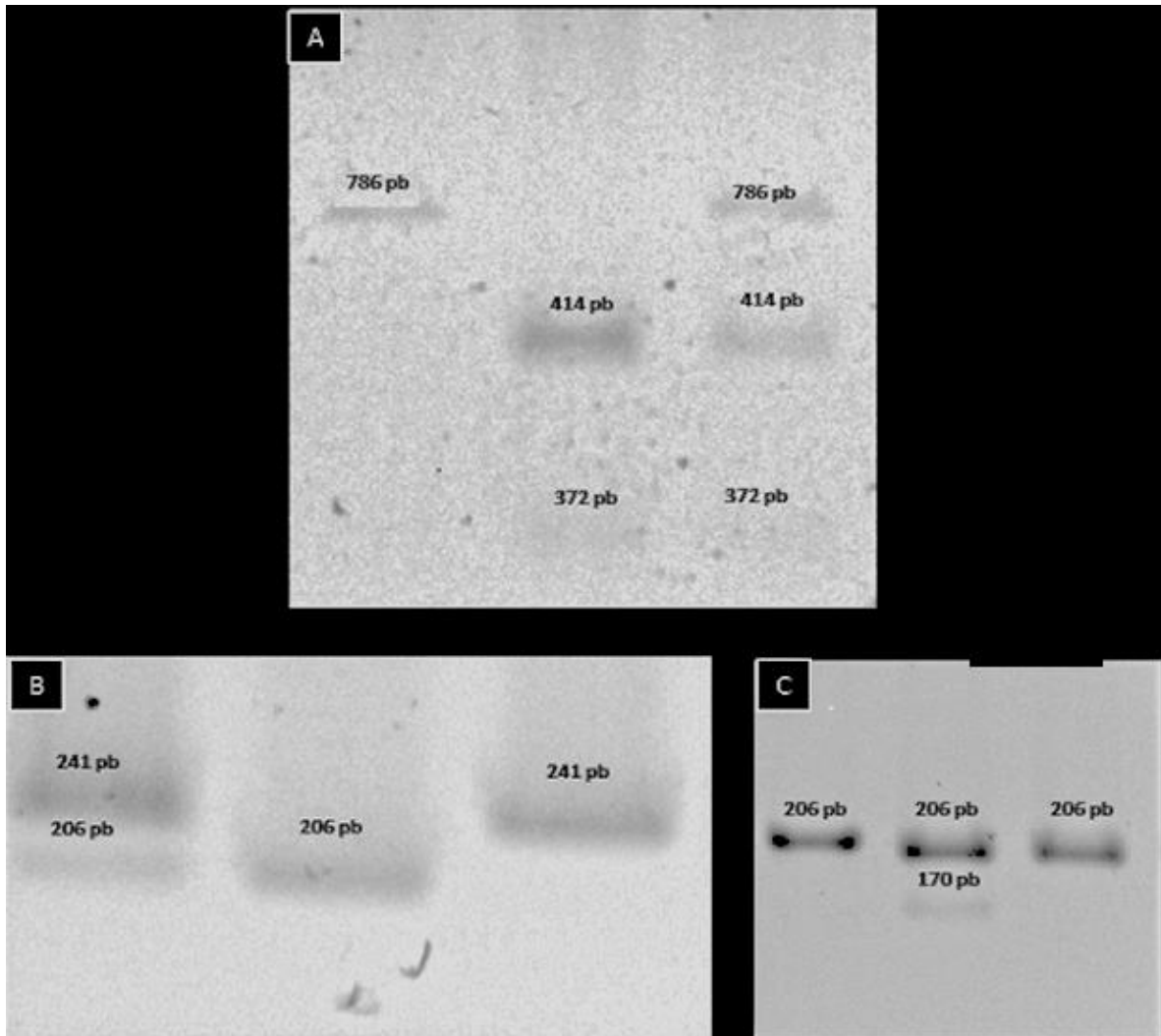


Figura 9. Patrones de bandeo representativos de las reacciones de PCR-RFLP para la genotipificación del gen *CYP2D6*. (A) Se observan los tres posibles patrones de bandeo en la genotipificación del alelo *2. El primer carril corresponde a una muestra homocigota, el segundo a una muestra heterocigota y el tercero a una silvestre. (B) se observan los patrones del alelo *10, el primer carril corresponde a una muestra heterocigota, mientras que el segundo y el tercero corresponden a un paciente homocigoto y uno silvestre, respectivamente. (C) se observan los patrones de bandeo del alelo *17, el primer y el tercer carril corresponde a muestras silvestres, mientras que el segundo carril corresponde a una muestra heterocigota.

Tabla 16. Composición de la mezcla final de reacción para la determinación en la variación del número de copias por q-PCR. La sonda Hs00010001_cn fue utilizada para determinar la dosis génica de *CYP2D6* mientras que el Copy Number Reference Assay funciona como control interno al detectar la dosis génica del gen *RPPH1* la cual es constante en todos los individuos. La reacción que se lleva a cabo es una PCR en tiempo real dúplex en la que cada sonda posee un fluoróforo diferente para su detección.

Reactivo	Volumen (µL)
TaqMan Universal PCR Master Mix	5.0
Copy Number Assay (Hs00010001_cn)	0.5
Copy Number Reference Assay	0.5
ADN (20 ng/µL)	1.0
H ₂ O c.b.p. 10 µL	3.0

Tabla 17. Protocolo de ciclado para el ensayo de variación en el número de copias por PCR tiempo real. La UNG (Uracil-N-Glicosilasa) es una enzima recombinante que es capaz de eliminar cualquier uracilo unido al ADN por lo que funciona para eliminar contaminaciones de la muestra.

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo	
Incubación de UNG	50	10 minutos	
Activación de la Ampli Taq Gold	95	10 minutos	
40 ciclos	Desnaturalización	95	15 segundos
	Alineamiento y elongación	60	1 minuto
Extensión final	72	10 minutos	

El análisis de los resultados se realizó con el programa Copy Caller 2.0 (Figura 10). Posteriormente, las muestras con alelos múltiples fueron genotipadas para determinar cuál de los alelos que se encontraba multiplicado. Para ello se realizó una XL-PCR usando los oligonucleótidos 5'2D6dup y 3'2Ddup (Tabla 9). El producto generado fue de 10 kb y se observó en un gel de agarosa al 1%. El producto sirvió como templado para la genotipificación mediante las reacciones de PCR-RFLP que se especifican en la Figura 7.

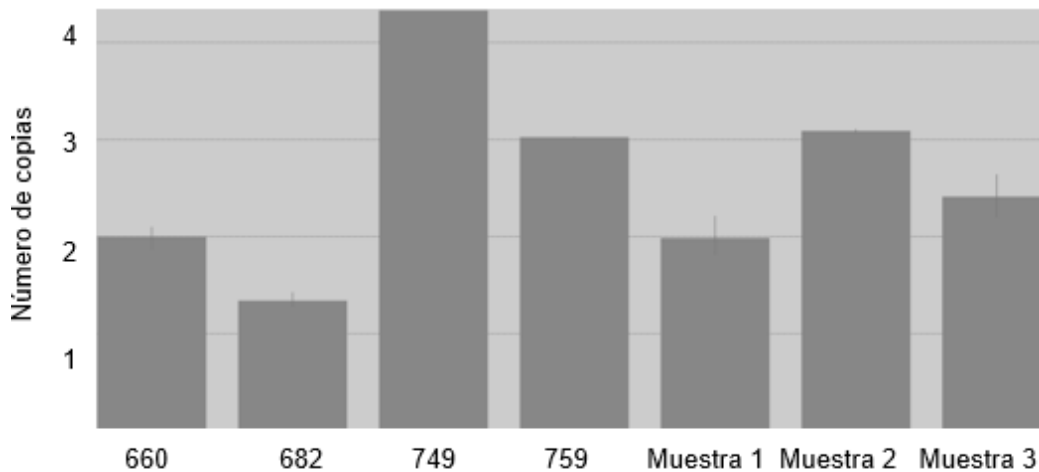


Figura 10. Gráfico representativo de la determinación de dosis génica en el software CopyCaller®. Las primeras cuatro barras corresponden a los controles con dosis génica previamente conocida que se utilizaron como calibradores en cada ensayo (660: dos copias, 682: una copia, 749: cuatro copias y 759: tres copias). En la gráfica se observa que las muestras 1 y 3 tienen dos copias., mientras que la muestra 2 tiene tres copias.

6.7 Electroforesis.

Para la electroforesis de los productos de PCR obtenidos se utilizaron 3 μ L de los mismos y se mezclaron con 1 μ L de amortiguador de carga DNA Gel Loading Dye (6X), previamente diluido 1:2 con agua. Como marcador de peso molecular se utilizó GeneRuler 1 kb DNA Ladder, con un rango de 250 hasta 10000 pb para los productos de PCR larga y el GeneRuler 100 pb DNA Ladder con un rango de 10 a 1000 pb para PCR-RFLP.

El corrimiento electroforético se realizó a 90 V por 45 minutos. La documentación de la imagen del gel se llevó a cabo en el equipo Gel Doc XR (BioRad).

En cada gel con productos de PCR larga se cargó un control positivo, previamente determinado, para facilitar la identificación de las muestras. En los geles de PCR-RFLP se cargaron las muestras sometidas a restricción y la misma muestra antes de la reacción de restricción.

Aquellas muestras que no tuvieron resultados positivos para alguna de estas variantes fueron consideradas como silvestres (*wt*), sin embargo, esto no elimina la posibilidad de que estas muestras tengan en su genotipo alguna variante alélica que no fue analizada.

6.8 Revisión de expedientes clínicos para evaluar respuesta terapéutica.

Los datos clínicos se evaluaron en dos ocasiones: al momento de incluirse en el protocolo de investigación y a las 6 semanas de iniciado el tratamiento, considerando el periodo de latencia de citalopram y escitalopram.

6.9 Análisis estadístico.

El estudio de asociación se realizó por medio de prueba de Chi-cuadrado con corrección de Yates con el programa Epi Info 7. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

7. Resultados

7.1 Determinación de frecuencias de las variantes estudiadas

7.1.1 Frecuencias de las variantes de *ABCB1* en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram

Se analizaron muestras de una total de 47 pacientes mestizos mexicanos con EA tratados con citalopram y escitalopram. Las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes 1236T>C (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032583) y 3435T>C (rs1045642) se observan en la Tabla 18. En todos los casos se encontró que la población estudiada está en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg ($p < 0.05$).

Tabla 18. Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes c.1236T>C, c.2677G>T/A y c.3435T>C del gen ABCB1 en los pacientes mestizos mexicanos con EA.

Polimorfismo	Genotipo	Pacientes (n=47)	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica
1236T>C	C/C	10	0.213	C: 0.511 T:0.489
	C/T	28	0.596	
	T/T	9	0.191	
2677G>T/A	G/G	17	0.362	G: 0.564 T: 0.404 A: 0.032
	G/T	16	0.340	
	G/A	3	0.064	
	T/T	11	0.234	
	T/A	0	0.000	
3435T>C	C/C	11	0.234	C: 0.457 T: 0.543
	C/T	21	0.447	
	T/T	15	0.319	

7.1.2 Frecuencias de las variantes y fenotipos metabolizadores de *CYP2C19* en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram

Con base en los genotipos observados en los pacientes se asignó el fenotipo metabolizador como se indica en la Tabla 4. En la Tabla 20 se observa el fenotipo predictivo de *CYP2C19* resultante de acuerdo a los genotipos encontrados en los pacientes.

Tabla 19. Frecuencias genotípicas y alélicas de los alelos *CYP2C192, *CYP2C19**3 y *CYP2C19**17 en los pacientes mestizos mexicanos con EA.**

Genotipo	Pacientes (n=47)	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica
wt/wt	31	0.660	Wt: 0.830 *2: 0.053
wt/*2	5	0.106	
wt/*3	0	0.000	
wt/*17	11	0.234	*3: 0.000 *17: 0.117
*2/*2	0	0.000	
*2/*3	0	0.000	
*2/*17	0	0.000	
*3/*3	0	0.000	*17: 0.117
*3/*17	0	0.000	
*17/*17	0	0.000	

Tabla 20. Predicción del fenotipo metabolizador de los pacientes con base en su genotipo resultante del análisis de los alelos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* y *CYP2C19*17* del gen *CYP2C19*.

UM: metabolizador ultra-rápido; EM: metabolizador extensivo; IM: metabolizador intermedio; PM: metabolizador lento. El fenotipo fue asignado como se indica en la Tabla 4.

Fenotipo metabolizador* de CYP2C19	Pacientes (n=47)
UM	11
EM	31
IM	5
PM	0

7.1.3 Frecuencias de las variantes y fenotipos metabolizadores de *CYP2D6* en pacientes con EA tratados con citalopram y escitalopram.

Se analizaron muestras de una total de 47 pacientes mestizos mexicanos con EA. Los resultados, así como, las frecuencias alélicas y genotípicas se observan en la Tabla 21. En todos los casos se encontró que la población estudiada está en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg ($p < 0.05$).

Una vez establecido el genotipo de los 47 pacientes, se determinó la dosis génica de *CYP2D6* mediante la técnica de variación de número de copias por PCR en tiempo real. Los resultados se muestran en la Tabla 22.

Al conocer el genotipo y la dosis génica de cada paciente se le asignó un fenotipo metabolizador con base en lo especificado en la Tabla 4. Los fenotipos predictivos de los pacientes se presentan en la Tabla 23.

Tabla 21. Frecuencias genotípicas y alélicas de los alelos *CYP2D6**2, *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5, *CYP2D6**6, *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17 del gen *CYP2D6* en los 47 pacientes mestizos mexicanos con EA.

Genotipo	Pacientes (n=47)	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica
wt/wt	17	0.362	Wt: 0.553
wt/*2	16	0.340	
wt/*3	0	0.000	
wt/*4	1	0.021	
wt/*5	0	0.000	*2: 0.330
wt/*6	0	0.000	
wt/*10	1	0.021	
wt/*17	0	0.000	
*2/*2	5	0.106	
*2/*3	0	0.000	
*2/*4	3	0.064	*3: 0.011
*2/*5	1	0.021	
*2/*6	0	0.000	
*2/*10	0	0.000	
*2/*17	1	0.021	
*3/*3	0	0.000	
*3/*4	1	0.021	*4: 0.064
*3/*5	0	0.000	
*3/*6	0	0.000	
*3/*10	0	0.000	
*3/*17	0	0.000	
*4/*4	0	0.000	
*4/*5	1	0.021	*5: 0.021
*4/*6	0	0.000	
*4/*10	0	0.000	
*4/*17	0	0.000	*6: 0.000
*5/*5	0	0.000	
*5/*6	0	0.000	
*5/*10	0	0.000	
*5/*17	0	0.000	*10: 0.011
*6/*6	0	0.000	
*6/*10	0	0.000	
*6/*17	0	0.000	
*10/*10	0	0.000	*17: 0.011
*10/*17	0	0.000	
*17/*17	0	0.000	

Tabla 22. Resultados de la determinación de dosis génica de los pacientes con EA. No se especificó el alelo multiplicado en los pacientes con 3 y 4 copias ya que al ser portadores de alelos de actividad reducida y normal, el fenotipo resultante es ultra metabolizador

Dosis génica	Número de pacientes	Genotipos observados
1	2	*2/*5, *4/*5
2	35	wt/wt, wt/*2, wt/*4, *2/*2, *2/*4, *3/*4
3	8	wt/wt, wt/*2, wt/*10, *2/*17
4	2	wt/wt, wt/*2

Tabla 23. Predicción del fenotipo metabolizador de los pacientes con base en su genotipo resultante del análisis de los alelos *CYP2D62, *CYP2D6**3, *CYP2D6**4, *CYP2D6**5, *CYP2D6**6, *CYP2D6**10 y *CYP2D6**17 del gen *CYP2D6*.** El fenotipo fue asignado como se indica en la tabla 4. UM: metabolizador ultra-rápido; EM: metabolizador extensivo; IM: metabolizador intermedio; PM: metabolizador lento.

Fenotipo metabolizador*	Pacientes (n=47)
UM	10
EM	31
IM	0
PM	2

7.2 Estudio del impacto de las variantes de *ABCB1*, *CYP2C19* y *CYP2D6* en la respuesta antidepressiva y reacciones adversas a citalopram y escitalopram en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

La evaluación de la respuesta terapéutica y reacciones adversas se realizó con la revisión de los expedientes clínicos de los 47 pacientes incluidos. El resumen de los datos obtenidos se observa en la Tabla 24.

Tabla 24. Clasificación de pacientes con EA de acuerdo a la respuesta terapéutica y la ocurrencia de reacciones adversas a citalopram y escitalopram.

	Respuesta terapéutica		Reacciones adversas a medicamentos (RAM)*	
	Respondedores	No respondedores	Presentan RAM	Sin RAM
Número de pacientes	26	21	9	38

*RAMs reportadas: cefalea, insomnio, somnolencia, hiperfagia, adinamia, arritmia, alteración de la marcha, rash cutáneo.

Se buscó una relación entre los genotipos encontrados en el análisis de los tres genes estudiados. En el caso de los polimorfismos del gen *ABCB1* se evaluó la asociación de los genotipos con la respuesta al tratamiento antidepresivo y con la ocurrencia de RAMs; mientras que para los genes *CYP2C19* y *CYP2D6* se utilizó el fenotipo metabolizador que se asignó previamente basándose en el genotipo encontrado para evaluar la asociación con la respuesta al tratamiento antidepresivo y con la aparición de RAMs. Los resultados de la asociación se resumen en la Tabla 25. Con este análisis se identificó que los pacientes con genotipo T/T para la variante 2677G>A tienen mayor probabilidad de presentar reacciones adversas a citalopram y escitalopram que los que portan alguno de los otros genotipos (G/G, G/T y G/A) ($p=0.036$, OR= 6.667, IC 1.376-32.291 95%).

Tabla 25. Estudio de asociación de genotipos y fenotipos con la respuesta terapéutica y la ocurrencia de RAMs a citalopram y escitalopram. Se observa que el genotipo T/T del polimorfismo c.2677G>T/A del gen *ABCB1* está asociado con la aparición de reacciones adversas en los pacientes con EA.

Gen	Polimorfismo	Genotipo o Fenotipo metabolizador	Pacientes (n=47)	Respuesta terapéutica		Reacciones adversas medicamentosas (RAM)		Valor de p	
				Sí	No	Sí	No	Respuesta	RAM
ABCB1	1236T>C	C/C	10	5	5	3	7	0.981	0.596
		C/T	28	16	12	5	23	0.995	0.916
		T/T	9	5	4	1	8	0.721	0.833
	2677G>T/A	G/G	17	9	8	2	15	0.953	0.560
		G/T	16	8	8	2	14	0.828	0.585
		G/A	3	3	0	0	3	0.313	0.910
		T/T	11	6	5	5	6	0.774	0.036 *
		T/A	0	0	0	0	0	NA	NA
	3435T>C	A/A	0	0	0	0	0	NA	NA
		C/C	11	7	4	2	9	0.774	0.730
C/T		21	12	9	5	16	0.945	0.721	
CYP2C19	N/A	T/T	15	7	8	2	13	0.615	0.767
		PM	0	0	0	0	0	NA	NA
		IM	5	1	4	0	5	0.228	0.582
		EM	31	19	12	5	26	0.403	0.733
CYP2D6	N/A	UM	11	6	5	4	7	0.774	0.222
		PM	2	1	1	1	1	0.546	0.830
		IM	0	0	0	0	0	NA	NA
		EM	31	19	16	5	30	0.926	0.771
CYP2D6	N/A	UM	10	6	4	3	7	0.982	0.596

8. Discusión

Las frecuencias alélicas de las variantes 1236T>C (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032583) y 3435T>C (rs1045642) del gen *ABCB1* que se presentan en la tabla 18 no presentaron una variación significativa al compararlas con las reportadas en población mestiza mexicana (Ortega-Vázquez y cols, 2015). Sin embargo, el genotipo CC de la variante 3435T>C (rs1045642) se encontró en un 32% mientras

que la frecuencia reportada en población mestizo mexicana es de 23% (Ortega-Vázquez y cols, 2015). Esta mayor frecuencia en el grupo de pacientes puede estar de acuerdo con la asociación que ya se ha descrito previamente entre el genotipo CC con un riesgo a padecer la EA (Fehér y cols, 2014). Asimismo, este polimorfismo también ha sido asociado con susceptibilidad a padecer un desorden depresivo mayor (Singh y cols; Ozbey y cols, 2014). Esto, en conjunto, podría explicar un incremento en la frecuencia de este alelo entre pacientes con EA y que además sufren de alteraciones en el estado de ánimo.

Asimismo, se sabe que la glicoproteína-P está involucrada en la eliminación del péptido β -amiloide a través de la barrera hematoencefálica, cuya acumulación en el sistema nervioso central está relacionada con la evolución de la EA, por lo tanto, polimorfismos en el gen que codifican para la glicoproteína-P (ABCB1) que afecten su actividad podrían impactar en el desarrollo de la EA (Wei y cols, 2016). Sin embargo, en un estudio previo a esta hipótesis no se encontró asociación entre la presencia de los polimorfismos 2677G>T/A (rs2032583) y 3435T>C (rs1045642) y el padecimiento de la EA (Kohen y cols, 2011). Aunque también es importante considerar la compleja regulación de la expresión del gen ABCB1, en especial en condiciones de estrés (Sukhai y cols, 2000).

Las frecuencias genotípicas de la variante 1236T>C (rs1128503) parecen no tener una diferencia importante entre las encontradas en el ensayo y las reportadas previamente (Ortega-Vázquez y cols, 2015). A pesar de que las frecuencias alélicas del SNP 2677G>T/A no fueron muy diferentes a las reportadas, las frecuencias fenotípicas si difieren ya que los genotipos G/G y T/T tuvieron una frecuencia mayor en el ensayo en comparación con los datos reportados, mientras que el genotipo G/T tuvo una frecuencia menor (Ortega-Vázquez y cols, 2015). Cabe señalar que estas variaciones pueden deberse a los diferentes tamaños de muestra ya que este ensayo consideró 47 pacientes mientras que el estudio poblacional contra el cual se llevó a cabo la comparación fue realizado en 300 sujetos de estudio.

Las frecuencias alélicas y genotípicas de *CYP2C19* fueron similares en comparación con las reportadas previamente (Ortega-Vázquez y cols, 2015). En ambos casos la frecuencia del alelo *CYP2C19*3* fue de 0%. Con respecto a los alelos *CYP2C19*2* y *CYP2C19*17* las frecuencias son muy similares a las reportadas, además solo se encontraron en estado heterocigoto con el alelo *CYP2C19*1* en ambos casos. Sin embargo, en la literatura se reportaron frecuencias iguales de ambos alelos (9%) y frecuencias genotípicas muy similares (17% para el genotipo *wt/*2* y 16% para el genotipo *wt/*17*) las cuales discrepan con las encontradas en el ensayo, principalmente para el alelo *CYP2C19*17* cuya frecuencia alélica asciende a 11% y la frecuencia del genotipo *wt/*17* a 23%. A pesar de que existe una pequeña diferencia esta podría atribuirse al tamaño de muestra que fue usado en el ensayo ya que estudios previos (Yamada y cols, 1998) han demostrado que no hay asociación entre los polimorfismos de *CYP2C19* y el desarrollo de la EA de tipo familiar.

Las frecuencias alélicas del gen *CYP2D6* encontradas en el ensayo varían un poco con relación a las reportadas en la población mestiza mexicana (López y cols 2005). Las frecuencias encontradas fueron de 33, 1, 6, 2, 0, 1 y 1% para los alelos *CYP2D6*2*, *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5*, *CYP2D6*6*, *CYP2D6*10* y *CYP2D6*17*, respectivamente. Las cuales varían con las reportadas en la literatura de 19.34, 1.44, 11.21, 2.67, 12.45, y 1.65%, siguiendo el mismo orden, el alelo *CYP2D6*6* no está reportado (López y cols 2005). Las frecuencias de los alelos *CYP2D6*2* y *CYP2D6*10* presentan una gran variación la cual puede atribuirse al tamaño de muestra ya que en estudios previos (Yamada y cols, 1998) se ha descartado la asociación de *CYP2D6* con el desarrollo de la EA.

Una vez establecidas las frecuencias alélicas y genotípicas para los tres genes, y también fenotípicas en el caso de los genes *CYP2C19* y *CYP2D6*, se realizó el análisis estadístico con el fin de asociar algún genotipo (*ABCB1*) o fenotipo metabolizador (*CYP2C19* y *CYP2D6*) con la respuesta terapéutica o la presencia de reacciones adversas.

Respecto a las variantes de *ABCB1* se encontró que el genotipo TT de la variante 2677G>T/A se asoció significativamente con la aparición de reacciones adversas (cefalea, insomnio, somnolencia, hiperfagia, adinamia, arritmia, alteración de la marcha, *rash* cutáneo) en la terapia con citalopram y escitalopram. Esto es interesante, ya que así como, la glicoproteína-P está encargada de depurar el cerebro del péptido β -amiloide (Wei y cols, 2016), también se encarga de permitir el paso del citalopram desde la circulación sanguínea hacia el sistema nervioso central a través de la barrera hematoencefálica (Hodges y cols, 2011, por lo tanto se esperaría que polimorfismos en el gen *ABCB1* que comprometían la actividad de la proteína impacten en la biodisponibilidad del citalopram y por lo tanto en su respuesta terapéutica. Sin embargo, en el ensayo realizado solamente el genotipo TT de la variante 2677G>T/A se encontró asociado con la aparición de reacciones adversas (cefalea, insomnio, somnolencia, hiperfagia, adinamia, arritmia, alteración de la marcha, *rash* cutáneo).

Este estudio es el primero en el cual se relaciona este polimorfismo con la susceptibilidad a padecer reacciones adversas a citalopram. Previamente la presencia del alelo T en este polimorfismo se asoció a una mejor respuesta terapéutica con respecto al genotipo GG en pacientes con depresión (Nikisch y cols, 2008); y también se realizó un estudio en un modelo animal (ratón) en el cual se observó que entre los ratones con genotipo TT había más respondedores en comparación con el resto de los ratones (Uhr y cols, 2008). En contraste, en un ensayo con un número de sujetos de estudio mayor (n=91) no se encontró asociación alguna entre los polimorfismos del gen *ABCB1*, incluido el SNP c.2677G>T/A, con la respuesta terapéutica a citalopram o con la susceptibilidad a padecer reacciones adversas (Peters y cols, 2008).

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios parecen contradictorios entre sí, sin embargo, es importante señalar que el número de pacientes incluidos en las investigaciones es diferente así como el origen étnico de los individuos. Sin embargo, el estudio con una n de 91 sujetos de diferentes etnias, incluyendo latinos

y no encontró una asociación entre la respuesta a citalopram y variantes de *ABCB1* (Peters y cols, 2008).

Adicionalmente, la terapia concomitante, las diferencias en las dosis y el impacto de otros genes, entre ellos *CYP2C19* y *CYP2D6*, que puedan compensar deficiencias en la actividad de la glicoproteína-P pudieran enmascarar el efecto de los polimorfismos de *ABCB1*. Además, es importante señalar que, a diferencia del presente estudio, las investigaciones previas fueron llevadas a cabo en pacientes con trastorno depresivo mayor como única patología, mientras que en este ensayo el padecimiento principal es la EA a la cual se asocian problemas en el estado de ánimo por lo cual existe la posibilidad de que la respuesta terapéutica pueda verse afectada por efectos de la enfermedad primaria.

En concordancia con este estudio, los otros dos polimorfismos de *ABCB1* 1236T>C y 3435T>C tampoco han sido asociados con respuesta terapéutica o susceptibilidad a reacciones adversas durante el tratamiento con citalopram o escitalopram (Nikisch y cols, 2008; Peters y cols, 2008; Uhr y cols, 2008; Ozbey y cols, 2014; Schatzberg y cols, 2015).

A pesar de que se sabe que el genotipo del gen *CYP2C19* impacta en la respuesta terapéutica de citalopram y escitalopram, y que inclusive se sugiere que se hagan la genotipificación del gen antes de prescribir el fármaco a un paciente (FDA, 2012), en los resultados de este estudio no se obtuvo una asociación significativa entre los fenotipos metabolizadores de los pacientes con la respuesta terapéutica o con la susceptibilidad a padecer efectos adversos. Sin embargo, se pueden observar tendencias cuando se analizan los resultados de los pacientes de manera particular ya que existen factores externos que enmascaran el impacto del fenotipo metabolizador de *CYP2C19*. Por ejemplo, un paciente con fenotipo IM para *CYP2C19* se pensaría que tendría problemas para eliminar al citalopram o escitalopram, sin embargo, si el mismo paciente tuviera un fenotipo metabolizador UM para *CYP2D6* tal vez podría compensar la deficiencia de *CYP2C19* canalizando el metabolismo del fármaco hacia una vía, que si bien no es la primaria como

CYP2C19, sí es parte de las rutas metabólicas alternas; o bien alguna otra enzima metabólica inducible como CYP3A4 que de igual manera sea capaz de compensar la deficiencia de CYP2C19.

El impacto del fenotipo no es exclusivamente afectado por factores intrínsecos, la exposición ambiental a otras sustancias también podría impactar la eficiencia de la ruta metabólica. Por ejemplo, el metabolismo de los fármacos puede verse afectado por el tratamiento concomitante, ya que uno o más de los demás fármacos prescritos pueden ser inhibidores o inductores enzimáticos, o bien pueden ser metabolizados por la misma enzima lo cual podría derivar en una competición por el sitio activo de la enzima saturando la ruta. Esto se puede ver en el paciente ALZ-481 (tabla 26), a quien se le fue asignado un fenotipo metabolizador UM para CYP2C19 y CYP2D6, y el cual era tratado con una dosis de citalopram de 20 mg (dosis recomendada) y con donepecilo (inhibidor de la acetilcolinesterasa), fármaco que se metaboliza por CYP2D6. Tomando en cuenta estos datos se esperaría que el paciente no fuera respondedor al tratamiento ni presentara efectos adversos debido a una rápida eliminación del fármaco, sin embargo, los datos clínicos del paciente indicaban una mejora en el estado de ánimo del paciente y también la aparición de una arritmia a causa del tratamiento, es decir, que el paciente fue respondedor y presentó efectos adversos. La respuesta al tratamiento antidepresivo podría explicarse por la saturación de la vía enzimática que estaría causando donepecilo en CYP2D6 (Barner y Gray, 1998), el cual es metabolizado principalmente por esta enzima y podría estar evitando que el citalopram se eliminara rápidamente. Por su parte, el paciente también era portador del genotipo TT del polimorfismo 3435T>C de *ABCB1*, siendo este el dato que puede explicar la presencia de reacciones adversas considerando la hipótesis de que este polimorfismo en *ABCB1* modifica la actividad de la glicoproteína-P y su eficiencia para retirar el fármaco del cerebro se ve afectada.

Caso contrario al anterior es el paciente ALZ-616 (Tabla 26) que tiene un fenotipo metabolizador UM para CYP2C19 y al observar sus datos clínicos no se encontró una mejora terapéutica ni efectos adversos. Esto se puede explicar por la actividad

acelerada de la enzima CYP2C19 que elimina rápidamente el fármaco del organismo y no permite que realice su actividad terapéutica. El resultado cobra una mayor relevancia al observar la dosis de citalopram que el paciente ingería al día, de 40 mg, la cual se encuentra en el límite de lo recomendado (FDA, 2012) y a pesar de esto el paciente no responde al tratamiento. El impacto de los demás genes es irrelevante en este caso ya que los polimorfismos de *ABCB1* tienen un genotipo heterocigoto y el fenotipo metabolizador de CYP2D6 es EM, además, el resto de los fármacos que toma el paciente no son metabolizados por CYP2C19 por lo que no se altera el flujo de la ruta metabólica.

De manera general al observar los resultados del ensayo y los datos de cada paciente en conjunto se encontró información interesante que denota la necesidad de estudiar de manera integral las variantes genéticas en conjunto con otros factores no genéticos. En algunos pacientes con fenotipo ultrametabolizador para CYP2C19 se observó que aún con una dosis elevada de citalopram no se obtenía una respuesta antidepresiva o que esta sólo se lograba aumentando la dosis del fármaco hasta la máxima recomendada. En otros pacientes se encontró que estaban bajo tratamiento concomitante con fármacos que también son sustratos de CYP2C19 como ácido valpróico, y en ellos se reportó la presencia de reacciones adversas probablemente por una interacción farmacológica.

Por otro lado, en ciertos pacientes parecía que existía un mayor impacto por parte de los genotipos de *CYP2D6* y *ABCB1* en la respuesta a citalopram y escitalopram, A pesar de que no se encontró una asociación significativa entre las variantes estudiadas y la respuesta a citalopram y escitalopram, los ejemplos anteriores nos demuestran que un estudio integral e individualizado puede proporcionar información importante en la farmacoterapia de los pacientes con EA.

La literatura en cuanto al impacto del fenotipo metabolizador de CYP2C19 en la terapia con citalopram y escitalopram es bastante controversial. Existen estudios que lo relacionan con respuesta y niveles plasmáticos de manera significativa (Jin y cols, 2010; de Vos y cols, 2011), en otro se reporta una tendencia entre el fenotipo

y el riesgo de presentar reacciones adversas (Kumar y cols, 2014), mientras que en otro estudio se encontró una diferencia significativa con concentraciones plasmáticas de citalopram pero no en respuesta (Hodgson y cols, 2014; Uckun y cols, 2015), y otros más en los que no se encuentra ninguna asociación (Chee y cols, 2013; Ji y cols, 2014, Peters y cols, 2016). Inclusive se han encontrado diferencias en la depuración entre los dos enantiómeros S y R del citalopram (Akil, 2016). Tomando en cuenta los resultados controversiales es muy complicado establecer si hay una asociación o no entre el fenotipo de CYP2C19 y la respuesta terapéutica, sin embargo, si la hay pareciera que el impacto no es de mayor importancia ya que algunos factores, ya sean intrínsecos o extrínsecos, tienen un impacto mayor en la respuesta terapéutica. Otro factor a considerar es que los estudios realizados han sido en poblaciones con diferente origen étnico (europeo, americano y asiático) lo cual puede significar que el impacto del fenotipo de CYP2C19 varíe dependiendo el origen étnico de los pacientes.

Tabla 26. Casos desglosados de algunos pacientes con EA analizados de manera individual en el estudio.

Paciente	CYP2C19	CYP2D6	1236T>C	2677G>T/A	3435T>C	Otros fármacos	Dosis	Respuesta	Reacciones adversas
ALZ-481	UM	UM	C/T	T/T	T/T	Donepecilo	Citalopram 20 mg	Sí	Sí
ALZ-509	IM	UM	C/T	G/G	C/C	Memantina	Citalopram 20 mg	No	No
ALZ-510	EM	PM	C/T	G/T	C/T	Memantina	Citalopram 20 mg	No	Sí
ALZ-616	UM	EM	C/T	G/T	C/T	Memantina Donepecilo	Citalopram 40 mg	No	No

En cuanto a variaciones en los datos entre citalopram y escitalopram no se encontró alguna tendencia que marcara alguna diferencia entre ellos.

El fenotipo metabolizador de CYP2D6 arrojó resultados muy similares a los CYP2C19. Al observarlos es difícil encontrar alguna tendencia ya que son muy

heterogéneos, sin embargo, a diferencia de CYP2C19, se sabe que CYP2D6 no es la ruta primaria en el metabolismo de citalopram y escitalopram, pero sí una ruta alterna en caso de una disminución en la actividad de CYP2C19 o CYP3A4. A pesar de que estudios han encontrado asociación entre variaciones en la concentración plasmática de los citalopram y escitalopram, y sus metabolitos con el genotipo de *CYP2D6* (Chen y cols, 2013), no hay registros previos de que se haya encontrado una asociación entre el fenotipo metabolizador y la respuesta terapéutica a citalopram y escitalopram (Ji y cols, 2014; Huafróid y cols, 2013). En nuestro estudio se observa una posible relación entre el fenotipo metabolizador de CYP2D6 y la respuesta. Por ejemplo, el paciente ALZ-510 (tabla 26) tiene un fenotipo PM para CYP2D6, es tratado con una dosis de 20 mg al día de citalopram y reportó diferentes reacciones adversas que incluían: fatiga, irritabilidad, hiperfagia, nerviosismo, adinamia y confusión. La actividad metabólica disminuida de CYP2D6 podría haber estado ocasionando la ocurrencia de estas reacciones adversas, ya que el fenotipo de CYP2C19 es EM, y los genotipos de los polimorfismos de *ABCB1* son todos heterocigotos. Sin embargo, existía un factor no genético que pudo influir más en la disminución de la actividad de CYP2D6 que es la toma de memantina, un inhibidor del receptor NMDA que se usa en la terapia de EA, el cual se sabe que es un inhibidor fuerte de la enzima CYP2D6 (Cacabelos y cols, 2016), lo cual sumado al fenotipo PM, podría estar generando los síntomas en el paciente.

Sin embargo, en la mayoría de los pacientes fue imposible establecer una relación entre el fenotipo metabolizador y la respuesta terapéutica o la ocurrencia de reacciones adversas. El paciente ALZ-689 (Tabla 26), por ejemplo, resultó con un fenotipo metabolizador UM y tomaba citalopram a un dosis de 20 mg por día. Además, tenía un fenotipo EM para CYP2C19 y un genotipo heterocigoto para los genotipos de *ABCB1*. Sin embargo, el paciente tuvo una evolución terapéutica favorable lo cual podría explicarse por la toma de memantina, que al ser un inhibidor de CYP2D6 pudo haber compensado la deficiencia de la enzima, además, de que la enzima principal (CYP2C19) tenía una actividad normal.

Es bien sabido que las frecuencias de las variantes de *CYP2D6* y *CYP2C19* presentan variabilidad interétnica, y los alelos asociados con una actividad disminuida de ambas enzimas no son tan frecuentes entre los mestizos mexicanos como en otras poblaciones. Es por ello que tal vez no fue posible encontrar una asociación contundente entre las variantes de *CYP2D6* y *CYP2C19* con la respuesta a citalopram y escitalopram en la muestra de pacientes incluida en el estudio. Por ejemplo, los alelos *CYP2C19*2* y *CYP2C19*17* son los más frecuentes entre nuestra población, sin embargo, es baja la frecuencia de individuos homocigotos para la variante *2 y por tanto con fenotipo metabolizador PM, el resto tienen una frecuencia muy baja en la población. Por su parte, existe una mayor cantidad de alelos de *CYP2D6* que son relativamente frecuentes en la población mestiza mexicana, sin embargo, el fenotipo más frecuente es EM. Por ejemplo, solo se encontraron dos individuos con fenotipo PM y no se encontró ninguno con fenotipo IM, lo cual dificulta el análisis ya que los grupos extremos que podrían presentar mayores diferencias no se pudieron comparar.

Se ha señalado constantemente que el número total de pacientes es pequeño y que puede afectar los resultados. Sin embargo, esto corresponde a la prevalencia de la enfermedad. En el país existen más de 800 mil personas con demencia, de los cuales entre el 60 y el 70% son diagnosticados como EA. Esto representaría un aproximado de entre 480 mil y 560 mil pacientes con EA (Instituto Nacional de Geriátrica, 2014). En México, la población adulta mayor de 60 años representa el 10.9% (INEGI, 2015), lo que significa que para poder contar con 109 sujetos de estudio con diagnóstico de EA es necesario tamizar a 1000 personas mayores de 60 años. En el estudio se contó con 47 pacientes, al hacer una relación de manera proporcional se determinó que se necesitaría contar con 431 personas mayores de 60 años para encontrar, entre ellos, a los 47 pacientes con EA, lo cual representa la dificultad de encontrar sujetos de estudio. Además es importante considerar que no todos los pacientes con EA presentan síntomas conductuales, como depresión, además de que no todos los pacientes con EA y depresión son tratados con citalopram o escitalopram, lo cual limita en parte este estudio.

Un dato importante resaltar entre los resultados obtenidos es una frecuencia elevada de pacientes con hipotiroidismo entre los sujetos de estudio. 5 de los 47 pacientes (10.6%) están diagnosticados con esta condición, las 5 pacientes son mujeres. La incidencia de la enfermedad es de 2.0% en mujeres de edad avanzada y de 0.1 a 0.2% en hombres. Previamente se ha reportado una predisposición de mujeres con hipotiroidismo a padecer depresión (Zavareh y cols, 2016), así como, una relación entre el hipotiroidismo y una disminución de las capacidades cognitivas en modelo animal (Salazar y cols, 2017).

9. Conclusiones

El genotipo TT de la variante 2677 G>T/A se identificó como un potencial biomarcador farmacogenético para la ocurrencia de reacciones adversas a citalopram y escitalopram en pacientes mestizos mexicanos con EA.

Ninguna de las otras variantes de *ABCB1*, *CYP2C19* y *CYP2D6* se encontró asociada significativamente con la respuesta terapéutica y la ocurrencia de reacciones adversas a citalopram o escitalopram.

Se observó que el estudio integral de las variantes genéticas, los fenotipos metabolizadores y el tratamiento concomitante puede proporcionar la explicación de la eficacia y seguridad a citalopram o escitalopram.

Este reporte representa la primera investigación de este tipo en la población mestizo mexicana.

10. Referencias

- Akil A, Bies R, Pollock B, et al. (2016). A population pharmacokinetic model for R- and S-citalopram and desmethylcitalopram in Alzheimer's disease patients with agitation. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 43:99–109.
- Albert P, Benkelfat C, Descarries L, (2001). The neurobiology of depression—revisiting the serotonin hypothesis. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 367, 2378–2381.

- Altman RB, Klein TE. (2002). Challenges for biomedical informatics and pharmacogenomics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 42: 113-33.
- Álvarez M, Pedroso I, de la Fe A, Padrón A, Álvarez M, Álvarez L. (2008) Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer. *Revista Mexicana de Neurociencia.* 9(3): 196-201.
- Alzheimer's Association. (2014). Alzheimer's Disease Facts and Figures, Alzheimer's & Dementia, Volume 10, Issue 2.
- Alzheimer's Association. (2015). Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia* 2015;11(3)332.
- Alzheimer's Disease International. (2013). The Global Voice on Dementia. Policy brief for Heads of Government The Global Impact of Dementia 2013–2050.
- Alzheimer's Disease International. (2009) World Alzheimer's Report.
- American Psychiatric Association. (2004). Practice guidelines for the Treatment of Alzheimer Disease and Other Dementias of Late Life.
- Arribas I. (2010). Farmacogenética y variabilidad interindividual en la respuesta a medicamentos. Academia de Farmacia del Reino de Aragón. Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. Cometa, S.A. 13-67.
- .Barner EL, Gray SL (1998) Donepezil use in Alzheimer disease. *Ann Pharmacother* 32:70–77.
- Brøsen, K. (2004) Some aspects of genetic polymorphism in the biotransformation of antidepressants. *Therapie.* 59, 5–12.
- Brøsen K, Naranjo CA. (2001) Review of pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction studies with citalopram. *Eur Neuropsychopharmacol.* 11(4):275-83.
- Bruhn O., Cascorbi I. (2014). Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 10(10).
- Bu, H. Z. (2006) A literature review of enzyme kinetic parameters for CYP3A4-mediated metabolic reactions of 113 drugs in human liver microsomes: structure–kinetics relationship assessment. *Curr Drug Metab.* 7, 231–249.

- Cacabelos R, Torrellas C, Teijido O, Carril JC (2016). Pharmacogenetic considerations in the treatment of Alzheimer's Disease. 17 (9):1041-74.
- Chee N, Sarris J, Singh A, Bousman C, Byron K, Peh L, Smith D, Tan C, Schweitzer I. (2013). Pharmacogenetic polymorphisms and response to escitalopram and venlafaxine over 8 weeks in major depression. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp.* 28: 516–522.
- Chen B, Xu Y, Jiang T, et al. (2013). Estimation of CYP2D6*10 genotypes on citalopram disposition in Chinese subjects by population pharmacokinetic assay. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics.* 38, 504–511.
- Coppen, A. (1967). The biochemistry of affective disorders. *Br. J. Psychiatry* 113, 1237–1264.
- Cotreau, M. M., Von Moltke, L. L., & Greenblatt, D. J. (2005). The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3A substrates. *Clin Pharmacokinet.* 44, 33–60.
- Cowen P, (2008). Serotonin and depression: pathophysiological mechanism or marketing myth? *Cell press.* 29(9):433-6.
- de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem.* 3; 269 (22):15419-22.
- de Vos A., van der Weide J., Looovers H. M. (2011). Association between CYP2C19*17 and metabolism of amitriptyline, citalopram and clomipramine in Dutch hospitalized patients. *The Pharmacogenomics Journal.* 11, 359–367.
- Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. (2011). The human ATP-cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res.* 11: 1156-1166.
- Dorado P, Cáceres M, Pozo-Guisado E, Wong M, Licinio J, Llerena A. (2005). Development of a PCR-based strategy for CYP2D6 genotyping including gene multiplication of worldwide potential. *BioTechniques* 39:571-574.
- Drye L, Ismail Z, Porsteinsson A, Rosenberg P, Weintraub D, Christopher Marano, Pelton G, Frangakis C, Rabins P, Munro C, Meinert C, Devanand D, Yesavage J, Mintzer J, Schneider L, Pollock B, Lyketsos, C. (2012).

Citalopram for agitation in Alzheimer's disease: Design and methods. 8(2):121–130.

- Dulucq S, Bouchet S, Turcq B. (2008). Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 112:2024-7.
- Elbekai, R. H., Korashy, H. M., & El-Kadi, A. O. S. (2004). The effect of liver cirrhosis on the regulation and expression of drug metabolizing enzymes. *Curr Drug Metab*. 5, 157–167.
- Fehér A, Juhász A, Pákási M, Kálmán J, Janka Z. (2014). ABCB1 C3435T Polymorphism Influences the Risk for Alzheimer's Disease. *J Mol Neurosci*. 54:826–829.
- Ferguson JM (2001). SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 3(1): 22–27.
- Furuta, T., Shirai, N., Kodaira, M., Sugimoto, M., Nogaki, A., Kuriyama, S. (2007). Pharmacogenomics-based tailored versus standard therapeutic regimen for eradication of *H. pylori*. *Clin Pharmacol Ther*. 81, 521–528.
- Garcia-Blanco MA, Baraniak AP, Lasda EL (2004). Alternative splicing in disease and therapy. *Nat Biotechnol*. 22(5):535-46.
- Green RC, Cupples LA, Kurz A, Auerbach S, Go R, Sadovnick D. (2003) Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE study. *Arch Neurol*. 60:753–759.
- Griese, E. U., Zanger, U. M., Brudermanns, U., Gaedigk, A., Mikus, G., Mörike, K. (1998). Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics*. 8, 15–26.
- Haufroid V, Hantson P. (2015). CYP2D6 genetic polymorphisms and their relevance for poisoning due to amfetamines, opioid analgesics and antidepressants. *Clinical Toxicology*. 53, 501-510.
- Hiratsuka M (2016). Genetic Polymorphisms and in Vitro Functional Characterization of CYP2C8, CYP2C9, and CYP2C19 Allelic Variants. *Biol. Pharm. Bull*. 39, 1748–1759.

- Hodges L, Markova S, Chinn L, Gow J, Kroetz D, Klein T, Altman R (2011). Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenet Genomics*. 21(3): 152–161.
- Hodgson K, Tansey K, Dernovšek M, Hauser J, Henigsberg N, Maier W, Ole Mors O, Placentino A, Rietschel M, Souery D, Smith R, Craig I, Farmer A, Aitchison K, Belsy S, Davis O, Uher R, McGuffin P. (2014). Genetic differences in cytochrome P450 enzymes and antidepressant treatment response. *Journal of Psychopharmacology*. 28(2) 133–141.
- Hoffman BJ, Hansson SR, Mezey E, Palkovits M: Localization and dynamic regulation of biogenic amine transporters in the mammalian central nervous system. *Front Neuroendocrinol* 1998; 19:187-231.
- <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00215>
- Hua X, Yuana L, Fanga P, et al. (2016). Effect of CYP2D6 genetic polymorphism on the metabolism of citalopram in vitro. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 31,133–138.
- Huang X, Yu T, Li X, et al. (2013). ABCB6, ABCB1 and ABCG1 genetic polymorphisms and antidepressant response of SSRIs in Chinese depressive patients. *Pharmacogenomics*. 14(14):1723-30.
- Inga M, Antonsdottir B, Jessica Smith BSb, Melanie Keltz BAb & Anton P Porsteinsson. (2011). Advancements in the treatment of agitation in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 7(9):1649-1656.
- Ingelman-Sundberg, M., & Gomez, A. (2010). The past, present and future of pharmacoepigenomics. *Pharmacogenomics*. 11, 625–627.
- Instituto Nacional de Geriátría (2014). Plan de acción Alzheimer y otras demencias. Primera edición, México.
- Jang, J. -S., Cho, K. -I., Jin, H. -Y., Seo, J. -S., Yang, T. -H., Kim, D. -K. (2012). Meta-analysis of cytochrome P450 2C19 polymorphism and risk of adverse clinical outcomes among coronary artery disease patients of different ethnic groups treated with clopidogrel. *Am J Cardiol*. 110, 502–508

- Ji Y, Schaid D, Desta Z, Kubo M, Batzler A, Snyder K, Mushiroda T, Kamatani N, Ogburn E, Hall-Flavin D, Flockhart D, Nakamura Y, Mrazek D, Weinshilboum R. (2014). Citalopram and escitalopram plasma drug and metabolite concentrations: genomewide associations. *British Journal of Clinical Pharmacology* / 78:2 / 373–383.
- Ji Y., et. al. (2014). Citalopram and escitalopram plasma drug and metabolite concentrations: genomewide associations. *Br J Clin Pharmacol*. 78:2, 373–383.
- Jin Y, Pollock B, Frank E, et al. (2010). Effect of Age, Weight, and CYP2C19 Genotype on Escitalopram Exposure. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 50, 62-72.
- John A, Kopke K, Gerloff T. (2002). Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin Pharmacol Ther* 72:584-94.
- Karlsson L, Carlsson B, Hiemke C, Ahlner J, Bengtsson F, Schmitt U, Kugelberg FC (2013). Altered brain concentrations of citalopram and escitalopram in P-glycoprotein deficient mice after acute and chronic treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 23:1636–1644.
- Kimura, S., Umeno, M., Skoda, R. C., Meyer, U. A., & Gonzalez, F. J. (1989). The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet*. 45, 889–904.
- Kirsch, I. et al. (2008) Initial severity and antidepressant benefits: a meta-analysis of data submitted to the food and drug administration. *PLoS Med*. 5(2) e45.
- Kohen R, Shofer JB, Korvatska O, Petrie EC, Wang LY, Schellenberg GD, Peskind ER, Wilkinson CW. (2011). ABCB1 genotype and CSF beta-amyloid in Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 24(2):63-6.
- Kovács T. (2009) Therapy of Alzheimer disease. *Neuropsychopharmacol Hung*. 11:27-33.

- Kumar Y, Kung S, Shinozaki G. CYP2C19 variation, not citalopram dose nor serum level, is associated with QTc prolongation. (2014). *Journal of Psychopharmacology*. 28(12) 1143–1148.
- Lara E, Haro J. M., Tang M., Manly J, Stern Y. (2016). Exploring the excess mortality due to depressive symptoms in a community-based sample: The role of Alzheimer's Disease. *Journal of Affective Disorders*. 22, 163–170.
- Lee, S. J. (2013). Clinical application of CYP2C19 pharmacogenetics toward more personalized medicine. *Front Genet*. 1;3:318.
- Lin J, Lu A. (1998) Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinetic*. 35: 361-90.
- Lin J, Yamazaki M. (2003). Role of P-glycoprotein: clinical implications. *Clin Pharmacokinetic*. 42: 58-98.
- López, M. Guerrero, J. Jung–Cook, H. Alonso, M. (2005). CYP2D6 genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. *Eur J Clin Pharmacol* 61: 749–754.
- Nelson, D. R. Cytochrome P450 nomenclature. (2004). *Methods Mol Biol*. 320, 1–10.
- Ohlsson Rosenborg, S., Mwinyi, J., Andersson, M., Baldwin, R. M., Pedersen, R. S., Sim, S. (2008). Kinetics of omeprazole and escitalopram in relation to the CYP2C19*17 allele in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 64, 1175–1179.
- Organización Mundial de la Salud. (2013) Demencia una prioridad de salud pública.
- Ortega-Vázquez A, Dorado P, Fricke-Galindo I, Jung-Cook H, Monroy-Jaramillo N, Martínez-Juárez I. E, Familiar-López I, Peñas-Lledó E, Llerena A, López-López M. (2015). CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 genetic polymorphisms and phenytoin plasma concentrations in Mexican-Mestizo patients with epilepsy. *The Pharmacogenomics Journal* 16(3):286-92.
- Paulzena M, Lammertza S, Gründera G, Veselinovica T, Hiemke C, Tauber S. (2016) Measuring citalopram in blood and central nervous system:

revealing a distribution pattern that differs from other antidepressants. *International Clinical Psychopharmacology*. 31:119–126.

- Penno, M. B., Dvorchik, B. H., & Vesell, E. S. (1981). Genetic variation in rates of antipyrine metabolite formation: a study in uninduced twins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 78, 5193–5196
- Perera, M. A. (2010). The missing linkage: what pharmacogenetic associations are left to find in CYP3A? *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 6, 17–28.
- Peters M, Vaidya V, Drye L, Devanand D, Mintzer J, Pollock B, Porsteinsson A, et al. (2016). Citalopram for the Treatment of Agitation in Alzheimer Dementia: Genetic Influences. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. 29(2) 59-64.
- Pietarinen P, Tornio A, Niemi M (2016). High Frequency of CYP2D6 Ultrarapid Metabolizer Genotype in the Finnish Population. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 19(3):291-6.
- Porsteinsson A, Drye L, Pollock B, Devanand D, Frangakis C, Ismail Z, Marano C, Meinert C, Mintzer J, Munro C, Pelton G, Rabins P, Rosenberg P, Schneider L, Shade D, Weintraub D, Yesavage J, Lyketsos, C (2014). Effect of Citalopram on Agitation in Alzheimer Disease The CitAD Randomized Clinical Trial MHS; for the CitAD Research Group. *JAMA*. 311(7):682-691.
- Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. (2013). The global prevalence of dementia: a systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement*. 9(1):63-75.
- Quick M.W, (2003). Regulating the conducting states of a mammalian serotonin transporter. *Neuron* 40:537-549.
- Revett TJ, Baker GB, Jhamandas J, Kar S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J Psychiatry Neurosci*. 38(1):6-23.
- Rochat B, Amey M, Gillet M, Meyer UA, Baumann P (1997). Identification of three cytochrome P450 isozymes involved in N-demethylation of citalopram enantiomers in human liver microsomes. *Pharmacogenetics*. 7:1–10.

- Salazar P, Cisternas P, Codocedo JF, Inestrosa N. (2017). Induction of hypothyroidism during early postnatal stages triggers a decrease in cognitive performance by decreasing hippocampal synaptic plasticity. *Biochim Biophys Acta*. S0925-4439(17)30006-6.
- Sánchez C (2006). The pharmacology of citalopram enantiomers: the antagonism by R-citalopram on the effect of S-citalopram. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 99:91–95.
- Schmeier, S., Schaefer, U., MacPherson, C. R., & Bajic, V. B. (2011). dPORE-miRNA: polymorphic regulation of microRNA genes. *PLoS One* 6, e16657.
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. (2011) Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 1:a006189.
- Sangkuhla K, Klein T, Altmana R (2011). PharmGKB summary: citalopram pharmacokinetics pathway. *Pharmacogenet Genomics*. 21(11): 769–772.
- Sibbing D, Werner Koch W, Gebhard D, Schuster T, Braun S, Stegherr J, Morath T, Schömig A, von Beckerath N, Kastrati A (2010). Cytochrome 2C19*17 Allelic Variant, Platelet Aggregation, Bleeding Events, and Stent Thrombosis in Clopidogrel-Treated Patients With Coronary Stent Placement. *Circulation* 121(4):512-8.
- Simons CJ, Jacobs N, Derom C, Thiery E, Jolles J, van Os J, Krabbendam L. (2009) Cognition as predictor of current and follow-up depressive symptoms in the general population. *Acta Psychiatr Scand*. 120(1):45-52.
- Stingl, J. C., Brockmüller, J., & Viviani, R. (2012). Genetic variability of drugmetabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Mol Psychiatry*. 18(3):273-87.
- Struder HK, Weicker H. (2001). Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part I. *Int J Sports Med*. 22:467-481.
- Sukhai M, Piquette-Miller M. (2000) Regulation of the multidrug resistance genes by stress signals. *J Pharm Pharm Sci*. 3(2):268–280.

- Thiebaut F, Tsurou T. (1978). Cellular localization of the multidrug resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 7735-7738.
- Uckun Z, Baskak B, Ozel-Kizil E, Ozdemir H, Devrimci Ozguven H, Suzen H. (2015) The impact of CYP2C19 polymorphisms on citalopram metabolism in patients with major depressive disorder. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics.* 40: 672–679.
- Uhr M, Grauer MT (2003) abcb1ab P-glycoprotein is involved in the uptake of citalopram and trimipramine into the brain of mice. *Journal of Psychiatric Research* 37: 179–185. (transporte de citalopram por ABCB1).
- Varela N, Quiñones L, Stojanova J, Garay J, Cáceres D, Cespedes S, Sasso J, Miranda C. (2015). Characterization of the CYP2D6 drug metabolizing phenotypes of the Chilean mestizo population through polymorphism analyses. *Pharmacological Research.* 101:124–129.
- Vidal R, Valdizan EM, Mostany R, Pazos A, Castro E. (2009) Long-term treatment with fluoxetine induces desensitization of 5-HT receptor-dependent signalling and functionality in rat brain. *J Neurochem* 110(3):1120-7.
- Wang, D, Guo, Y, Wrighton, S A, Cooke, G E, & Sadee, W. (2011). Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics* J.11, 274–286.
- Wang S, Pae C. (2013) How much to worry about the FDA warning in the use of citalopram? *Expert Rev. Neurother.* 13(8), 883–886.
- Wei W, Bodles-Brakhop A, Barger S. (2016). A Role for P-Glycoprotein in Clearance of Alzheimer Amyloid- β Peptide from the brain. *Curr Alzheimer Res.* 13(6): 615–620
- Whitlock J. Induction of cytochrome P4501A1. (1999) *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 39: 103-25.
- Williams, J. A., Ring, B. J., Cantrell, V. E., Jones, D. R., Eckstein, J., Ruterbories, K. (2002) Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7. *Drug Metab Dispos.* 30, 883–891.

- Yamada H, Dahl ML, Viitanen M, Winblad B, Sjöqvist F, Lannfelt L. (1998). No association between familial Alzheimer disease and cytochrome P450 polymorphisms. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 12(3):204-7.
- Zabalza, M., Subirana, I., Sala, J., Lluís-Ganella, C., Lucas, G., Tomás, M. (2011). Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss- and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel. *Heart.* 98, 100–108
- Zanger U. M, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. (2013) *Pharmacology & Therapeutics.* 138: 103-141.
- Zanger, U. M., Fischer, J., Raimundo, S., Stüven, T., Evert, B. O., Schwab, M. (2001). Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics.* 11, 573–585.
- Zavareh AT, Jomhouri R, Bejestani HS, Arshad M, Daneshmand M, Ziaei H, Babadi N, Amiri M. (2016). Depression and Hypothyroidism in a Population-Based Study of Iranian Women. *Rom J Intern Med.* 1;54(4):217-221.
- Zhang, Y., Klein, K., Sugathan, A., Nassery, N., Dombkowski, A., Zanger, U. M. (2001) Transcriptional profiling of human liver identifies sex-biased genes associated with polygenic dyslipidemia and coronary artery disease. *PLoS One* 6, e23506.
- Zhao QF, Tan L, Wang HF, Jiang T, Tan MS, Tan L, Xu W, Li JQ, Wang J, Lai TJ, Yu JT. (2016) The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 15; 190: 264-71.
- Zhou M, Engel K, Wang J. (2007). Evidence for significant contribution of a newly identified transporter (PMAT) to serotonin uptake in the human brain. *Biochem Pharmacol.* 73:147-154.

- Zúñiga T, Trujillo Z, Cortés G, Acosta I, Sosa A. (2014). Impacto de los programas de estimulación en adultos mayores con demencia que asisten a un centro de día. Arch Neurocién (Mex). 19 (4), 192-198.