

00574
910



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**ANALISIS DE LOS FACTORES GENETICOS EN LA
RESPUESTA INDIVIDUAL A LOS FARMACOS**

**TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A**

BLIZABETH LOPEZ DE CARDBNAS HBRNANDEZ



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

MEXICO. D. F.

2003



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.

2

→ a la Dirección General de Bibliotecas •
UNAM a difundir en formato electrónico e impres..
contenido de mi trabajo, recepción:

NOMBRE: Elizabeth López de
Cárdenas Hernández
FECHA: 03 / junio / 2003
FIRMA: [Firma]

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Helgi Helen Jung Cook
Vocal	Prof. Marisol López López
Secretario	Prof. Alicia Cervantes Peredo
1er suplente	Prof. Leda Carolina Torres Maldonado
2do suplente	Prof. José Manuel Morales Hernández

Sitio donde se desarrolló el tema:
Bibliotecas de las Facultades de Química y Medicina e Instituto de
Investigaciones Biomédicas de la UNAM y del Sector Salud

Asesor del Tema

Sustentante

[Firma]
Dra. Marisol López López

[Firma]
Elizabeth López de Cárdenas Hernández

TRABAJO APOYADO POR CONACYT
PROYECTO 37103 - M

A ti Virgen María y a tu hijo por dar brillo a mi vida, por hacer que el tiempo exista, por darme esperanza y el deseo de seguir adelante.

A la Dra. Marisol López por el apoyo recibido, por su paciencia, tiempo y conocimientos. Gracias por ofrecerme también tu amistad.

A mis padres por su amor incondicional por sus esfuerzos y sus desvelos, por la seguridad en horas de angustia, por darme lo mejor de ustedes.

A mi esposo por haberme apoyado a seguir adelante y poder cumplir ahora con una de las metas más importantes de mi vida. Te amo.

A mis hijas por ser los tesoros más grandes de mi vida y motivarme a ser mejor cada día y luchar por las cosas que quiero

A Lilita gracias por ser mi hermana, porque los hermanos son como los ángeles sin alas, bendiciendo nuestras vidas.

A Luz y Javier por ser incondicionales en todo momento y por compartir tristezas, alegrías y los momentos más especiales de toda mi vida. Gracias por ser mis hermanos.

A Isabel por todas las cosas que hemos compartido y porque eres esa amiga especial. Gracias por tu valiosa amistad.

"El éxito en la vida no se mide por lo que has logrado, sino por los obstáculos que has tenido que enfrentar en el camino"

INDICE

I.	Introducción	1
II.	Objetivos	4
III.1	Farmacogenética	
III.1.1	Antecedentes históricos de la farmacogenética	5
III.1.2	La palabra farmacogenética	7
III.1.3	Glucosa -6-fosfato deshidrogenasa	7
III.1.4	N ₇ acetil transferasas	8
III.1.5	Butirilcolinesterasa	9
III.1.6	Hipertermia maligna	11
III.2	Variación interindividual en la respuesta a los fármacos	
III.2.1	Variación genética en el metabolismo de los fármacos	13
III.2.2	Funciones vitales de las enzimas metabolizadoras de fármacos (DME)	14
III.2.3	Variaciones interétnicas de la respuesta a los fármacos	16
III.2.4	Reacciones adversas a los fármacos (ADR)	20
III.2.5	Tiopurina metil transferasa (TPMT)	23
III.3	Interacciones asociadas al citocromo P450	
III.3.1	El sistema citocromo P450	25
III.3.2	Ejemplos de los principales citocromos	29
III.4	Genoma Humano	
III.4.1	El Proyecto del Genoma Humano	33
III.4.2	Antecedentes	33
III.4.3	Avances principales	35
III.5	La farmacogenómica, una promesa de la medicina personalizada	
III.5.1	Farmacogenómica	39
III.5.2	Beneficios potenciales de la farmacogenómica	40
III.5.3	El futuro de la farmacogenómica	42
III.6	Variación polimórfica en el genoma humano	
III.6.1	Polimorfismo de nucleótido sencillo (SNP)	43

	III.6.2 Descubrimiento de los SNP	44
	III.6.3 Los SNP en la farmacogenómica	46
III.7	Aplicaciones actuales y futuras de la farmacogenómica	
	III.7.1 La farmacogenómica en la práctica clínica	48
	III.7.2 La farmacogenómica en la reducción de reacciones adversas a los fármacos	48
	III.7.3 Farmacogenómica en la terapia de la enfermedad de Alzheimer	51
	III.7.4 La farmacogenómica en depresión	52
	III.7.5 La farmacogenómica en enfermedades neuropsiquiátricas	54
	III.7.6 La farmacogenómica en la cardiología	55
	III.7.7 La farmacogenómica en la terapia antineoplásica	56
	III.7.8 La farmacogenómica en la terapia del asma	58
III.8	La industria farmacéutica en la era genómica	
	III.8.1 Industria farmacéutica	61
	III.8.2 Descubrimiento y desarrollo de fármacos	61
III.9	Nuevas técnicas para el estudio del genoma humano	
	III.9.1 Genómica funcional	65
	III.9.2 Chips de DNA o microarreglos	65
	III.9.3 Bioinformática	68
III.10	Implicaciones éticas y legales de la farmacogenómica	
	III.10.1 El programa ELSI	69
	III.10.1 Resultados regulatorios y éticos	72
	III.10.3 Ética y privacidad	72
	III.10.4 Cuestiones sociales	77
IV	Discusión	79
V	Conclusiones	82
VI	Bibliografía	83
	Índice de figuras	100
	Índice de tablas	101

I INTRODUCCION

Paul Erlich originalmente aportó el término *bala mágica* a partir de su investigación con un agente antisifilítico (compuesto 606 conocido como salvarsán). El símbolo *bala mágica* es ahora apropiado para cualquier agente terapéutico, de acuerdo a esto el fármaco debe tener una acción terapéutica adecuada y específica sin reacciones adversas. Sin embargo, la interacción entre el fármaco y los organismos se manifiesta en una gran variedad de efectos. Los individuos varían grandemente en su habilidad para metabolizar fármacos. ⁽¹⁾ En 1931, Archival Garrod indicó que las sustancias que contienen en particular los alimentos, ciertos fármacos, y las exhalaciones de animales o plantas provocan en algunas personas respuestas completamente fuera de proporción con respecto al promedio de los individuos. La variabilidad en la respuesta a los fármacos es variable desde leve y temporalmente incomoda hasta reacciones adversas severas o fatales, sentando las bases de la farmacogenética. ⁽²⁾

La farmacogenética ha abordado el estudio de los genes implicados en la respuesta individual a los fármacos, cubriendo una vasta área, que incluye la investigación básica en el descubrimiento de fármacos, las bases genéticas que influyen en farmacocinética y la farmacodinamia, de las pruebas genéticas a los pacientes y el manejo clínico de éstos, siendo la meta de la farmacogenética predecir la respuesta genética del individuo a un fármaco específico para poder prescribir un tratamiento médico personalizado. ⁽³⁾ Las diferencias entre los individuos en el metabolismo de los fármacos se asocian con formas particulares de polimorfismos de las enzimas implicadas en el metabolismo de los fármacos. ⁽⁴⁾ Durante las últimas décadas se han estudiado las variantes genéticas en isoenzimas específicas tales como los citocromos P450 para explicar las diferencias del metabolismo de los fármacos. ⁽⁵⁾ Muchas de estas variaciones genéticas ocurren con una frecuencia muy variable en los diferentes grupos étnicos. ⁽⁶⁾ Las reacciones adversas a los fármacos representan un grave problema de salud pública, así como una carga económica significativa en el sistema de salud pública. ⁽⁷⁾

Las diferencias que presentan los sujetos con respecto a la eficacia y seguridad de un gran número de agentes terapéuticos se debe principalmente a los polimorfismos genéticamente controlados de las enzimas metabolizadoras de fármacos (DME, por sus siglas en inglés *drug metabolizing enzymes*) y en menor medida a los que codifican para proteínas receptoras y transportadoras de fármacos. Desde la década de los cincuenta la farmacogenética ha estudiado las variaciones hereditarias que influyen en la variabilidad de las respuestas a los fármacos y, a pesar de que no es una ciencia nueva, en la actualidad está teniendo un repunte espectacular gracias a la enorme cantidad de datos que el Proyecto que el Genoma Humano le está aportando. ⁽⁸⁾

Los avances en la investigación el genoma humano han abierto la puerta a un nuevo paradigma para la práctica médica que promete una transformación en el cuidado de la salud. ⁽⁹⁾ Las nuevas tecnologías que ayudan a comprender el papel de los genes en las enfermedades están revolucionando los procesos de descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos, ofreciendo considerables oportunidades a la industria para reducir tiempos, costos y riesgos. Estamos a punto de asistir al nacimiento de los "medicamentos personalizados" para distintos estratos de pacientes según sus características genéticas. El descubrimiento de las variantes genéticas que influyen en el efecto de los fármacos permitirá el desarrollo de novedosos procedimientos diagnósticos y productos terapéuticos que se prescribirán selectivamente a los pacientes con garantía de seguridad y efectividad. ⁽¹⁰⁾

La farmacogenómica, que surge de la farmacogenética, es un término amplio usado para describir la aplicación comercial de la tecnología genómica en el desarrollo de fármacos para una terapia individualizada.

La farmacogenómica podrá validar nuevos blancos como sitios apropiados de intervención terapéutica. Después los científicos identificarán o diseñarán agentes terapéuticos que interaccionarán con estos blancos con el fin de obtener una mínima toxicidad. ⁽¹¹⁾

Las tecnologías basadas en *biochips* pueden hacer por la genética lo que los microprocesadores hicieron por la informática. La miniaturización alcanzada permitirá que el diagnóstico salga de los laboratorios centrales y llegue hasta la consulta del médico, del mismo modo que las computadoras pasaron sólo de estar en los centros de cálculo a la ubicuidad actual. ⁽¹²⁾ El empleo de los *biochips* en el tamizaje y toxicología de drogas permite analizar los cambios de expresión génica, que existen durante la

administración de un fármaco de forma rápida, así como la localización de nuevos blancos terapéuticos posibles y los efectos toxicológicos asociados.

La práctica médica se verá radicalmente alterada cuando se combine la información genética con las nuevas tecnologías clínicas basadas en el diagnóstico de DNA. Se desarrollarán nuevas técnicas diagnósticas, más rápidas y fiables que facilitarán la prevención de enfermedades. La predisposición genética está implicada en el desarrollo de enfermedades, cardíacas, neurológicas, varios tipos de neoplasias, asma, y diabetes, entre otras. La identificación de estos genes y sus proteínas darán lugar a terapias más eficientes y nuevas medidas de prevención. ⁽¹³⁾

La práctica de la medicina continuará evolucionando basada en mejores diagnósticos, medicinas seguras y efectivas, reduciendo las necesidades médicas desconocidas, uso de tecnologías apropiadas e incrementando la sensibilidad para los intereses individuales y privacidad de los datos. ⁽¹⁴⁾

Para finalizar es importante señalar la necesidad de debates sociales informados sobre el impacto de la nueva medicina individualizada, que forzosamente tendrá que reparar en aspectos relacionados con la exactitud de estas técnicas, con la seguridad y privacidad de la información generada y con la necesidad de incrementar el conocimiento genético de los pacientes, para que puedan entender el uso que se hace de sus datos. Por otro lado, los profesionales de la salud deben dar el consejo genético adecuado e interpretar correctamente las pruebas genéticas. Además, se deben realizar esfuerzos legislativos encaminados a impedir la discriminación de origen genético y el mal uso de la información por parte de la sociedad. ⁽¹²⁾

De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo aborda la temática asociada a los factores genéticos que intervienen en la respuesta individual a los fármacos, en particular a aquéllos relacionados con las enzimas metabolizadoras de fármacos.

II OBJETIVOS

- Señalar los aspectos más relevantes de las funciones vitales de las enzimas metabolizadoras de fármacos así como de las reacciones adversas a los fármacos.
- Describir las características más destacadas de la familia de los citocromos P450
- Conocer los avances principales en el Proyecto del Genoma Humano, así como el papel de los polimorfismos genéticos en la predicción de la respuesta a los fármacos y su utilidad dentro de la farmacogenómica.
- Describir los beneficios potenciales de la farmacogenómica y sus aplicaciones dentro de la práctica clínica.
- Mencionar los principales adelantos en el descubrimiento y desarrollo de un fármaco.
- Conocer los nuevos enfoques tecnológicos para el análisis de la información genética.
- Señalar los aspectos éticos, legales y sociales implicados en las pruebas farmacogenéticas.

III.1 FARMACOGENETICA

III.1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA FARMACOGENETICA

La variación individual que presentan los pacientes en la respuesta a los fármacos y las implicaciones importantes que esto acarrea han sido apreciadas durante siglos. Es probable que las primeras observaciones fueran realizadas por Pitágoras en el año 510 AC, quien reconoció el favismo describiéndolo como “ el peligro que corren algunos individuos, pero no otros, al comer habas”. En la actualidad se sabe que este trastorno es una anemia hemolítica que se presenta como consecuencia de la deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. ⁽¹⁵⁾

Sigmund Freud, en su monografía publicada en 1885 sobre los efectos farmacológicos de la cocaína (*Uher coca*), estableció: “Es bien conocido que animales de la misma especie difieren marcadamente uno de otro en las características químicas que determinan la susceptibilidad de cada organismo a las sustancias extrañas”. ⁽¹⁶⁾

Algunos autores sitúan el nacimiento de la farmacogenética a partir de los estudios de Snyder en 1932 publicados en la revista científica de Ohio. En este artículo se describe un estudio realizado a 800 familias en las que existieron marcadas diferencias en la respuesta a la administración de feniltiourea, obteniendo como resultado que 7 de cada 10 personas percibieron un intenso sabor amargo mientras que el resto no identificaron sabor alguno. Sin embargo, las bases moleculares para esta marcada diferencia fenotípica nunca fueron determinadas. ^(17, 18)

La siguiente observación farmacogenética se realizó cuando se les administró primaquina (agente antimalárico) a los soldados americanos de la II Guerra Mundial destacados en el sureste asiático y se observó que algunos desarrollaron crisis hemolíticas severas. ⁽¹⁹⁾ Posteriormente se determinó que el cuadro clínico se debía a los bajos niveles de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), que reduce los niveles de glutatión en los eritrocitos. ⁽²⁰⁾ A la fecha existen más de dos docenas de medicamentos prescritos comúnmente que deben evitarse en los pacientes con deficiencia en G6PD por la posibilidad de que provoquen crisis hemolíticas. Más de 400 millones de personas en el mundo presentan esta deficiencia incluyendo aproximadamente 10% de la población africo - americana en E.U. ^(21, 22)

El concepto de que la variación individual en la respuesta a los fármacos tiene bases genéticas fue concebido por Motulsky (1957) al sugerir que ciertas reacciones adversas a los medicamentos podrían ser causadas por variaciones, determinadas genéticamente, en la actividad de las enzimas responsables de su metabolismo a nivel hepático. Posteriormente, Vogel en 1959 acuñó el término farmacogenética para describir la relación entre la constitución genética de un individuo y la terapia farmacológica. (23) En 1962 apareció el primer libro de farmacogenética, el cual fue escrito por Kalow, y en él se incluían varios ejemplos en los que se afirmaba que las características hereditarias eran responsables de la marcada diferencia en la respuesta o en la toxicidad a un fármaco de ciertas poblaciones humanas. (16)

Esas características farmacogenéticas clásicas, que fueron históricamente descubiertas y caracterizadas con base en la observación de una marcada toxicidad o de una respuesta aberrante a los fármacos en un sub-grupo de la población, son resultado principalmente de defectos monogénicos en las enzimas que metabolizan a los fármacos. Algunos de estos ejemplos incluyen: la apnea prolongada observada después de la administración de succinilcolina para la relajación muscular en la anestesia general, (24) la incidencia aumentada de neuropatía periférica durante la terapia con isoniazida para la tuberculosis, (25) la hipotensión ortostática durante la terapia antihipertensiva con debrisoquina (26, 27) o la contracción uterina con el agente oxiótico esparteina. (28)

Más importante aún, la mayoría de las variaciones fenotípicas en la respuesta global a los fármacos es resultado de la interacción compleja entre los productos de genes polimórficos incluyendo a los implicados en la absorción, transporte, biotransformación y excreción de los fármacos. (29)

La observación de una respuesta clínica aberrante o toxicológica a un fármaco a menudo se manifiesta en un nivel de la población como una clara distribución bimodal o trimodal de la distribución de la respuesta sugiriendo un modelo mendeliano hereditario. Semejante observación podría conducir a experimentos apuntando a la identificación de la proteína responsable para mediar la respuesta normal, clonando al gen que lo codifica y finalmente el análisis de las mutaciones dentro del gen que producen la respuesta anormal en los individuos afectados. Así surgió como la disciplina de la farmacogenética para la identificación e investigación de los factores genéticos implicados en estos fenotipos. (16)

III.1.2 LA PALABRA FARMACOGENÉTICA

La amplia aplicación de los principios farmacogenéticos a todas las formas de vida (e.g. bacterias, insectos, mamíferos y plantas) se pierde por razones lingüísticas. Para los antiguos griegos la palabra *farmakon* significaba hechizo mágico, droga o veneno. De aquí que una traducción más significativa de la palabra podría ser "xenobiótico" para indicar un material biológicamente activo formado fuera del cuerpo del hospedero (en contraste con endobiótico, e.g. una hormona). Sin embargo, en la vida moderna el significado del prefijo *fármaco* es a menudo equivalente en un sentido estricto con medicina o droga. De aquí que los genetistas y otros científicos utilicen el término "ecogenética" para referirse a la respuesta variable a los factores químicos ambientales; otros términos usados son "toxicología genética" o "genética ambiental".⁽²⁹⁾ Los estudios realizados en gemelos aportaron la mejor indicación experimental de la importancia de los componentes genéticos en la eliminación de fármacos, (e.g. fenobarbital, bis-hidroxi-cumarina), aunque no se identificaron los componentes específicos de esta variabilidad. Sin embargo, se calcularon procesos de heredabilidad, que son claramente parte de la farmacogenética.^(27,30)

Actualmente, la farmacogenética se refiere a cualquier tipo de variación innata en cualquier grupo de individuos como respuesta a xenobióticos. Esta definición excluye la inducción de mutaciones por xenobióticos y la investigación de la industria moderna que utiliza secuencias de DNA de proteínas blanco para desarrollar nuevos fármacos.⁽²⁹⁾

Por lo tanto la farmacogenética es el estudio de la variabilidad genética individual en la respuesta a los fármacos, mientras que la ecogenética o genética ambiental representa el campo entero de las interacciones gen - ambiente. (e.g. radiación ionizante, metales pesados, herbicidas, alimentos, fármacos, alcohol). La *farmacoantropología* y la *enofarmacología* son términos sugeridos para el estudio de diferencias étnicas en la variabilidad de la respuesta a los fármacos.⁽²⁹⁾

III.1.3 GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA

Anteriormente se mencionó que la deficiencia de glucosa -6- fosfato deshidrogenasa (G6PD) produjo hemólisis en algunos individuos de raza negra tratados con primaquina.⁽¹⁹⁾ La explicación para esta diferencia interétnica es que esta variante enzimática confiere protección a la infección por *Plasmodium falciparum*, por

lo que se seleccionó en poblaciones africanas provenientes de países endémicos para paludismo. ⁽³¹⁾ La G6PD es una enzima citosólica casi ubicua, que cataliza el primer paso de la vía de las hexosas monofosfato. Su función principal es producir NADPH, el cual es requerido para mantener la concentración de glutatión reducido (GSH), durante el estrés oxidativo. El GSH, la catalasa y la glutatión peroxidasa representan la defensa contra el peróxido de hidrógeno, en particular en los eritrocitos. ⁽³²⁾

El gene *G6PD* codifica para G6PD y se localiza en Xq28, ⁽⁴⁵⁾ lo que significa que la deficiencia de glucosa -6- fosfato presenta un patrón de herencia recesivo ligado al X, por lo que la mayoría de los individuos afectados son varones. La G6PD es una de las proteínas humanas con más variantes genéticas. Algunas de ellas originan padecimientos severos en forma de anemia hemolítica crónica, que tienden a ser raras. Sin embargo, este no es el problema farmacogenético sino el hecho de que el peróxido de hidrógeno es un producto secundario de la oxidación de algunos fármacos, por lo que tienden a producir la destrucción de los glóbulos rojos, es decir, hemólisis. Estos polimorfismos de la enzima aparecen de manera frecuente en algunas poblaciones porque protegen contra paludismo. Los individuos portadores no presentan síntomas a menos que un fármaco o una infección rebase la función protectora de la enzima, por lo que las personas con estas variantes pueden vivir sin saber que tienen una variante de G6PD. Además de las variantes farmacogenéticas y de las mutaciones que ponen en riesgo la vida, también existen variantes neutrales. Los caucásicos generalmente tienen una forma de G6PD denominada B⁺, mientras que el alelo A⁺ es frecuente en África; aproximadamente una décima parte de la población mundial tiene una variante funcional de las más de 300 descritas. ⁽³³⁾

Por otro lado, el favismo es un episodio hemolítico que ocurre en algunas poblaciones mediterráneas después de la ingesta de habas. El favismo sólo se presenta en personas con deficiencia de G6PD, pero no en todos los individuos con esta deficiencia; por lo que su mecanismo es aún desconocido. Sin embargo, se ha sugerido una variación metabólica o inmunológica, para el destino del glicósido divicina, un componente de las habas. ⁽³³⁾

III.1.4 N-ACETILTRANSFERASAS (NAT1 y NAT2)

La introducción de isoniazida en la práctica médica de los años cincuenta constituyó un gran avance en la capacidad para curar la tuberculosis, sin embargo, se

observó que algunos individuos tratados con isoniazida presentaban problemas neurológicos.^(34,25) Estos efectos secundarios se debían a un metabolismo incorrecto de la isoniazida por la actividad deficiente de una N-acetiltransferasa, en individuos homocigotos.⁽³⁵⁾

Posteriormente se encontró que hay dos N- acetiltransferasas, NAT1 y NAT2. La isoniazida sólo es metabolizada por la NAT2 por lo que su variabilidad fue reconocida primero.⁽³⁶⁾ En 1991 Grant y colaboradores describieron 7 cambios nucleotídicos en el gene *NAT2*, dando como resultado 15 variantes alélicas; de éstas, 4 resultaron en fenotipos acetiladores rápidos y 9 en lentos, las 2 restantes no fueron determinadas. Los ensayos *in vitro* indicaron que la mayoría de las acetilaciones lentas eran debidas a la inestabilidad de la enzima y solo un caso mostró una Vmax disminuida. El alelo T³⁴¹C fue el responsable de la acetilación lenta en la mayoría de los individuos caucásicos y africanos estudiados. Estos autores también describieron 10 cambios nucleotídicos en el gen *NAT1* que resultaron en 8 variantes alélicas. Las actividades funcionales de la mayoría de estos alelos se desconocen, sin embargo, *NAT1*14* (Arg 187→Gln) tiene una afinidad reducida por el sustrato y *NAT1*15* (Arg 187→alto) tiene un codón de terminación que previene la formación de la enzima. Ambos alelos han sido encontrados con una frecuencia baja pero significativa, 0.01 y 0.03, respectivamente en poblaciones caucásicas. Otros fármacos diferentes de la isoniazida afectados por el polimorfismo de la NAT2 son: procainamida, hidralazina, dapsona y sulfonamidas.⁽³⁷⁾ Un sustrato selectivo para NAT1 es el ácido p - aminosalicílico (PAS) pero su variación genética nunca ha sido clínicamente importante, por lo que se ha prestado más atención al hecho de que varios reactivos químicos industriales con potencial carcinogénico, así como aminas heterocíclicas mutagénicas, son sustratos de ambas N- acetiltransferasas; lo que explica que la presencia o ausencia de la actividad de estas transferasas se haya asociado con la incidencia de varios tipos de neoplasias.⁽³³⁾

III.1.5 VARIACION DE BUTIRILCOLINESTERASA

La colinesterasa en plasma fue llamada originalmente pseudocolinesterasa, y recientemente se conoce como butirilcolinesterasa (BChE) y es codificada por el gen *BCHF*.^(38,39) El descubrimiento en la década de los cincuenta de las variantes genéticas de la colinesterasa en plasma es uno de los eventos que inician el desarrollo de la

farmacogenética, precedido por investigaciones de las propiedades de relajación muscular de la succinil colina y su normalmente breve duración de acción debido a la rápida hidrólisis por la colinesterasa en plasma. ^(40, 24, 41) Los estudios de toxicidad de procaína revelan que ésta se hidroliza por colinesterasa tanto en humanos como en otras especies de mamíferos. ⁽⁴²⁾ A continuación se muestran las reacciones de hidrólisis de la succinil colina y de la procaína:

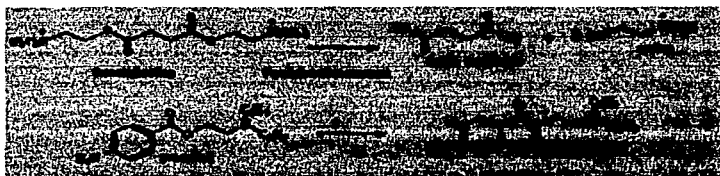


Fig. 1 Reacciones de hidrólisis de la succinilcolina y de la procaína. ⁽⁴³⁾

La BChE es una enzima que se encuentra en plasma y en muchos tejidos, incluyendo hígado y cerebro, ^(44, 45) la cual hidroliza ésteres que contienen un nitrógeno con carga positiva cercano a un grupo éster. Esta enzima es un tetrámero consistente en cuatro subunidades monoméricas idénticas con un centro activo por unidad. Cada subunidad tiene 574 aminoácidos y un alto peso molecular de 85,544 Da, incluyendo nueve cadenas de carbohidratos. Esta enzima está codificada por una copia de un único gen conteniendo cuatro exones y localizado en 3q26.1- 26.2. Esta región cromosómica incluye los genes para transferrina, BChE, ceruloplasmina y α 2HS glicoproteína. ⁽⁴⁶⁾ El valor médico de la succinilcolina es su habilidad para eliminar cualquier contracción indeseable del músculo esquelético por un corto tiempo, permitiendo al médico llevar a cabo de manera breve manipulaciones vitales para el paciente. ⁽⁴⁷⁾ Su uso principal es al inicio de la anestesia en cirugías mayores, cuando se facilita la canalización del paciente por vía aérea. Otro uso es durante la terapia electroconvulsiva en enfermedades mentales resistentes a los fármacos en las que la succinilcolina previene la estimulación del músculo por la corriente eléctrica. La presencia homocigota de *BCHE* atípica siempre lleva a un efecto prolongado de succinilcolina, pero sólo dos terceras partes de los casos pueden explicarse por una falla definida de BChE.

Existen una variedad de factores asociados con la anestesia (e.g dosis de anestesia) que pueden afectar el comportamiento de la succinilcolina. ^(48, 49)

Las mutaciones de *BC^{HE}* se presentan con una frecuencia alélica de 0.017 en caucásicos, 0.0046 en africanos y 0.0002 en orientales y pueden afectar su capacidad para unirse al sustrato, su velocidad de recambio o ambas. ⁽⁵⁰⁾ Algunas mutaciones son silenciosas son inactivas y otras representan mutaciones de corrimiento de fase con ausencia de actividad enzimática. Originalmente el interés clínico de la BChE estaba centrado en la acción prolongada de la normalmente corta actividad de la succinilcolina durante la anestesia. Sin embargo, ha habido un interés reciente en estudiar el papel de la BChE en el metabolismo de la cocaína, ya que la hidrólisis para formar metilecgonina. ^(51, 52) La velocidad de hidrólisis es muy lenta en comparación con muchos otros sustratos, por lo que se ha dado poca importancia al metabolismo de la cocaína por la BChE. Sin embargo, se sospecha que existe una asociación entre toxicidad de cocaína y actividad reducida de BChE. ⁽⁵³⁾ Algunos adictos a cocaína prolongan su efecto inhibiendo deliberadamente su BChE con insecticidas organofosforados. ⁽⁵³⁾ Por otro lado, se ha demostrado una actividad de la BChE particularmente baja en individuos que sobrevivieron a una intoxicación por cocaína que puso en riesgo su vida. ⁽⁵⁴⁾ Esto sugiere que aún cuando el metabolismo de cocaína es bajo, comparado con otros sustratos para BChE, es un factor determinante en la disposición de la cocaína en el humano. Otros sustratos de la BChE son la heroína y la aspirina, pero no existe información de una acción alterada de la heroína en presencia de variantes atípicas de BChE. ⁽⁵⁵⁾

III.1.6 HIPERTERMIA MALIGNA

La hipertermia maligna (HM) es una de las complicaciones más temidas durante la anestesia o periodos post - operatorios tempranos. Se presenta en aproximadamente 1:1500 niños y 1: 100,000 adultos; la susceptibilidad a este desorden se hereda con un patrón de herencia autosómico dominante. La prevalencia de varones con HM es 2.5:1. Se han descrito mutaciones en el gen *RYR1*, que codifica para el receptor de rianodina, ⁽⁵⁶⁾ en aproximadamente la mitad de las familias con hipertermia maligna. ⁽⁵⁷⁾ Sólo una de 35 familias humanas con susceptibilidad a HM tiene exactamente la misma mutación en el receptor de rianodina que está presente en cerdos con HM. ⁽⁵⁸⁾ El gen *RYR1* se localiza en el cromosoma 19, pero existen indicios

de variantes genéticas en los cromosomas 3⁽⁵⁹⁾, 7⁽⁶⁰⁾, y 17^(61, 62) asociados a HM. Este padecimiento no es uniforme, pero un parámetro común que se presenta es la elevación patológica de iones calcio en el sarcoplasma del músculo esquelético. Este nivel de calcio dispara la rigidez muscular, elevación de la temperatura corporal, acidosis, taquicardias y otros eventos secundarios.⁽⁶³⁾ Clínicamente, un ataque de HM se presenta más frecuentemente secundario a la administración de halotano y succinilcolina. El mecanismo parece estar relacionado a la inducción del halotano en la potenciación de la actividad de Ca^{++} en el retículo sarcoplásmico del músculo esquelético. En pacientes susceptibles, este tejido es hiperreactivo al calcio resultando en una aceleración de las reacciones bioquímicas inducidas por calcio, que causan contracciones musculares severas y un elevado nivel metabólico.⁽⁶⁴⁾ Para propósitos de diagnóstico se utilizan pruebas *in vitro* como contracción de biopsias de músculo expuestas a cafeína o halotano. El tratamiento de una crisis de HM es:

(1) Suspender el anestésico, (2) Suministrar 100% de oxígeno, (3) Administrar dantroleno de sodio (iniciar con 2.5mg/kg IV), (4) Enfriar al paciente, (5) Contrarrestar las anomalías (acidosis, hipercalcemia, falla renal, arritmias cardíacas), (6) Continuar con dantroleno de sodio pos- quirúrgicamente.⁽⁶⁵⁾

III.2 VARIACIÓN INTERINDIVIDUAL EN LA RESPUESTA A LOS FARMACOS

III.2.1 VARIACION GENETICA EN EL METABOLISMO DE LOS FARMACOS

Cuando un fármaco entra al cuerpo su destino es afectado por procesos de unión, distribución, transformación bioquímica (metabolismo) y excreción. Únicamente una pequeña fracción de la dosis total del fármaco es la responsable del efecto terapéutico, ya que el resto se metaboliza y excreta. La manera en que el hígado, principalmente, metaboliza los fármacos varía dependiendo del tipo de molécula de que se trate: algunas son llevadas hasta CO_2 y agua y son eliminadas por medio de la respiración, mientras que otras se excretan por la orina, la bilis o las heces. Otras modificaciones hacen al fármaco más soluble por lo que se excreta más fácilmente. ⁽⁶⁵⁾ En la figura 2 se muestra el tránsito de un fármaco o xenobiótico a través del cuerpo humano.

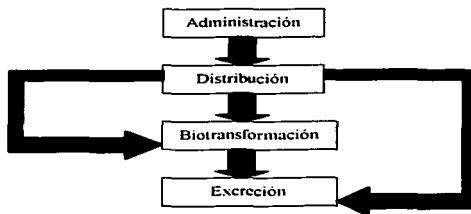
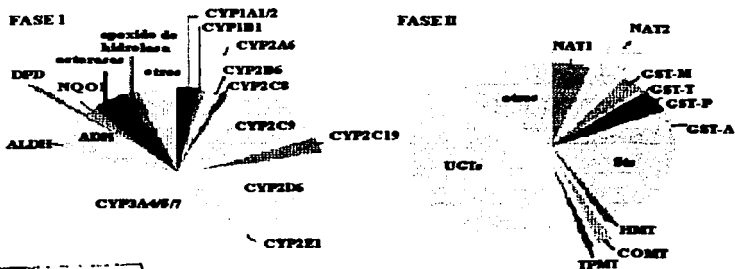


Fig.2 Tránsito de un fármaco a través del cuerpo humano. ⁽⁶⁵⁾

La mayoría de las diferencias farmacogenéticas caracterizadas a escala molecular se relacionan con la diversidad en los genes que codifican para las enzimas capaces de metabolizar fármacos (DME, *Drug Metabolizing Enzymes*) y, en menor grado, en los genes que codifican para sus receptores y transportadores. ^(66, 67, 68)

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Los fármacos son transportados dentro de la célula, mientras que los fármacos no metabolizados, los reactivos intermediarios, y los productos conjugados pueden ser transportados fuera de la célula. Los genes que codifican para las DME de fase I y fase II, y los receptores para DME, son conocidos por exhibir polimorfismos genéticos, y constituyen las bases de la variación genética en la respuesta a los fármacos. (68) En la figura 3 se muestran las principales DME de fase I y fase II.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Fig.3 Principales DME de fase I y fase II. (69)

También se espera que los genes implicados en la respuesta al estrés oxidativo y en la regulación del ciclo celular muestren polimorfismos, pero esto todavía es poco conocido. Por otro lado se han descrito polimorfismos en los genes transportadores de fármacos y, se anticipa que la variabilidad humana en estos genes tendrá un importante papel en el conjunto clínico de la respuesta individual a la terapia. (70)

III.2.2 FUNCIONES VITALES DE LAS ENZIMAS METABOLIZADORAS DE FÁRMACOS (DME)

En el ser humano, las enzimas metabolizadoras de fármacos (DME) pertenecen a varios tipos de enzimas que en conjunto son capaces de metabolizar casi cualquier compuesto químico al cual es expuesto el organismo. Las DME de fase I están

principalmente representadas por citocromos P450 (codificados por la familia de genes *CYP*) y participan en la detoxificación de sustratos reactivos, pero también frecuentemente están implicadas en la activación de protóxicos, promutágenos y procancerígenos inertes a intermediarios electrofílicos genotóxicos (que dañan al ADN).⁽²³⁾ Este metabolismo puede también conducir a un estado de estrés oxidativo subcelular, independientemente del daño al ADN. Las DME fase II (como las UDP-glucuronosil-transferasas, las glutatión-transferasas, las N-acetil-transferasas y las sulfotransferasas) conjugan varios sustratos e intermediarios reactivos a derivados solubles en agua, complementando el ciclo de detoxificación. Por lo tanto, las diferencias genéticas en la regulación, expresión y actividad de los genes que codifican para las DME fase I y II deben ser factores cruciales en la definición de la susceptibilidad al cáncer, así como también en la determinación del potencial tóxico o carcinogénico de las drogas y otros contaminantes ambientales.⁽²³⁾

Los fármacos podrían ser considerados como "señales endógenas" que son detectadas por las células por medio de receptores endógenos bien caracterizados o por mecanismos de recepción todavía no bien entendidos; estos fármacos/señales pueden desplazar a los ligandos endógenos naturales y actuar, ya sea como agonistas o antagonistas, para modificar la regulación de los genes de las DME de la fase I y fase II. Por ejemplo, la carbamazepina y la fenitoína son conocidas por afectar su propia regulación en el metabolismo de fase I, y el fenobarbital induce genes particulares tanto de fase I como de fase II.⁽⁷¹⁾

Después del metabolismo de fase I los intermediarios reactivos oxigenados, al igual que muchos fármacos no metabolizados, son capaces de causar toxicidad. Actualmente se asume que la toxicidad ocurre básicamente mediante dos mecanismos: (a) estrés oxidativo, llevando a una perturbación del ciclo celular, y (b) Formación de enlaces covalentes con proteínas celulares y ácidos nucleicos.⁽⁷⁰⁾

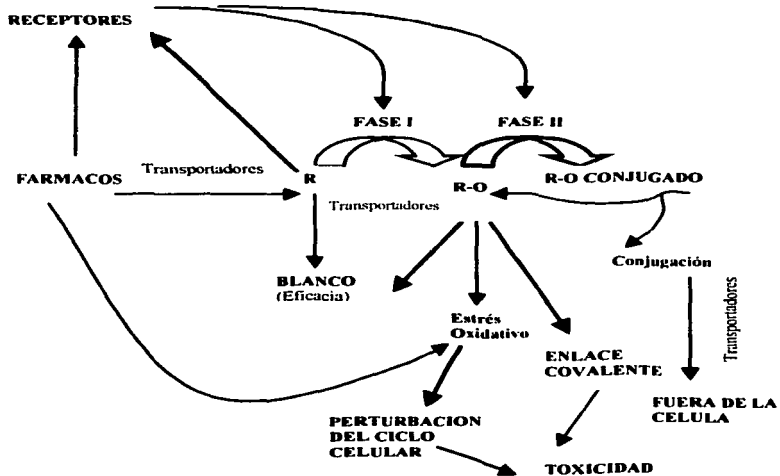


Fig. 4 Diagrama del destino de los fármacos que entran a la célula. (70)

III.2.3 VARIACIONES INTERÉTNICAS DE LA RESPUESTA A LOS FÁRMACOS

La evolución de la respuesta a los fármacos en diferentes poblaciones humanas ha mostrado que existen diferencias interétnicas importantes. En los primeros estudios farmacogenéticos era muy escaso el conocimiento de los genes responsables para

diferencias interétnicas o interindividuales y se desconocía si estas diferencias tenían una base cultural o genética. Además, muchas personas no creían que las diferencias poblacionales fueran genéticas, ya que no querían ser catalogados como racistas. Solo a partir de los métodos genéticos modernos quedaron claramente establecidas las bases genéticas de muchas diferencias interétnicas en farmacogenética. En resumen, las diferencias en respuesta a los fármacos entre las poblaciones humanas fueron identificadas hace 4 o 5 décadas; sin embargo, debido a los problemas metodológicos iniciales, la ciencia de la farmacogenética interétnica sólo tiene de 20 a 30 años de edad. ⁽³³⁾ En la tabla 1 se muestra la prevalencia de metabolizadores lentos y de variantes alélicas de DME en varias poblaciones humanas.

Tabla. Variantes alélicas de enzimas metabolizadoras de fármacos implicadas en reacciones adversas a los fármacos. (72)

ENZIMAS	PREVALENCIA DE METABOLIZADORES LENTOS, RAZA, %	VARIANTES ALELICAN	PREVALENCIA DE VARIANTES ALELICAN, RAZA, %
CYP1A2	12% Caucaicos	CYP1A2*1C	No existen datos
CYP2C9	2-6%, Caucaicos	CYP2C9*2 CYP2C9*3	8-20% Caucaicos 6-9% Caucaicos
CYP2C18	No existen datos	CYP2C18*3	27% Japoneses
CYP2C19	2-6%, Caucaicos, 15-17% Chinos, 18-23% Japoneses	CYP2C19*2* CYP2C19*3A CYP2C19*4 CYP2C19*2II, 5A, 5II, 6, 7, 9	13% Caucaicos, 29% Jinos; 25% Americano- Africanos; 21% Coreanos; 14% Etiopios 0,3 % Caucaicos; 12% Japoneses; y 0,6% Caucaicos No existen datos
CYP2D6	3-10% Caucaicos; <2% Chinos, Japoneses, Africanos Americanos.	CYP2D6*2A CYP2D6*3A CYP2D6*3II CYP2D6*4A, B CYP2D6*5 CYP2D6*6A CYP2D6*7 CYP2D6*8 CYP2D6*9 CYP2D610 CYP2D6*10A, B CYP2D6*11 CYP2D6*12 CYP2D6*17 CYP2D6*36 CYP2D6*4,C,D,K,4X2,6 B,6C CYP2D6*13,14,15,16,18, 20,38	28-30% Caucaicos; 20% Chinos; 12% Japoneses 21% Caucaicos 2% Caucaicos 20-23% Caucaicos, 7-9% Americano- Africanos, 9% Africanos 2-5% Caucaicos, 10-13% Japoneses 2% Caucaicos <1-2% Caucaicos <1% Caucaicos 2% Caucaicos 3% Caucaicos, 50, Asiáticos 2-5% Caucaicos, 43-51% Chinos, 33-60% Japoneses <1% Caucaicos <1 % Caucaicos 0% Caucaicos; 26% Americano- Africanos, 9-34 % Africanos, 19 % Coreanos 9%, Coreanos, 31% Chinos y Japoneses No existen datos No existen datos
CYP2E1	No existen datos	CYP2E1*2	No existen datos
UGT2	No existen datos	UGT2II7	No existen datos
NAT2	50-59% Caucaicos, 41% Americanos Africanos, 20% Chinos, 8-10% Japoneses, 92% Egipcios Grupos alélicos	NAT2*5A NAT2*5B NAT2*5C NAT2*6A NAT2*7A NAT2*7B NAT2*13 NAT2*14A NAT2*14B NAT2*5A, B, C NAT2*6A, B NAT2*7A, B NAT2*14 A, B	1-4% Caucaicos 38-45% Caucaicos 1-4% Caucaicos 24-30% Caucaicos 1% Caucaicos 1% Caucaicos 2% Caucaicos < 0,6% Caucaicos No prevalecen datos 43-46% Caucaicos; 30% Americano - Africanos, 26-31% Caucaicos, 23% Americano- Africanos 1-2% Caucaicos, 5% Americano- Africanos, 21-24% Indios americanos, <1% Caucaicos, 8% Americano- Africanos

Por otro lado se deben señalar que existen factores ambientales capaces de contribuir a las diferencias en la respuesta a los fármacos entre las diversas poblaciones.

La desnutrición y las deficiencias proteicas pueden causar diferencias en el metabolismo de un fármaco y, por lo tanto, resultar en diferencias en la acción del mismo. Aún deficiencias alimenticias relativamente menores como las observadas en Berlín después de la Segunda Guerra Mundial, causaron algunas reacciones anormales e incluso la muerte después de la inyección de procaína, un anestésico local generalmente seguro.⁽³³⁾

La ingesta diferente de alimentos puede causar alteraciones o variaciones en la respuesta a los fármacos, o algunos alimentos pueden causar inducción enzimática,⁽³³⁾ mientras que otros pueden producir inhibición enzimática.⁽⁷³⁾ En la figura 5 se muestran las variaciones en la respuesta a los fármacos entre los pacientes debido a su constitución genética, medio ambiente y factores de desarrollo.

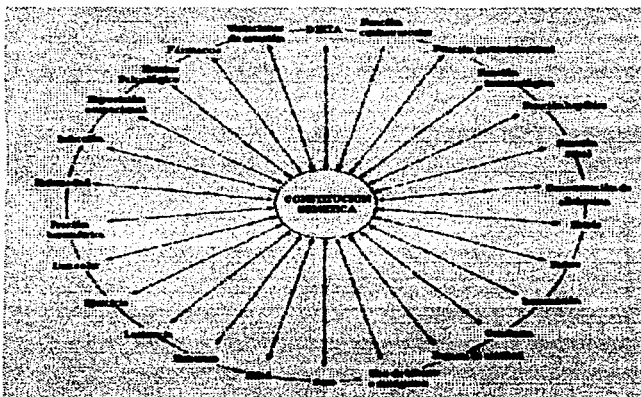


Fig. 5 Interacción entre factores genéticos, ambientales, y de desarrollo que causan variación individual en la respuesta a los fármacos.⁽⁷⁴⁾

III.2.4 REACCIONES ADVERSAS A LAS DROGAS

Las reacciones adversas a los fármacos (ADR, *Adverse Drug Reactions*) constituyen un gran problema clínico. De acuerdo a la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) una ADR es cualquier efecto nocivo, imprevisto e indeseable de un fármaco, que ocurre en la dosis usada en los humanos para profilaxis, diagnóstico o terapia. Esta definición excluye fallas terapéuticas, envenenamiento intencional o accidental (ej. sobredosis y abuso). Además, no incluye eventos adversos debidos a errores en la administración de fármacos o sin consentimiento médico (tomar más o menos de lo prescrito). Un evento adverso a los fármacos (ADE, *Adverse Drug Event*) se diferencia de una reacción adversa en que no presupone causalidad. Los reportes de los eventos adversos relatados por los pacientes al médico requieren un exhaustivo interrogatorio, con el objeto de obtener la mayor información posible que permita adjudicar causalidad y con ello decidir la responsabilidad de determinado medicamento o medicamentos causales del evento adverso. (75, 76, 77)

Desde un punto de vista clínico, las ADR se pueden clasificar en dos tipos, A y B; que se muestran en la tabla 2:

Tabla 2. Características de las ADR tipo A y tipo B. (76)

CARACTERÍSTICAS	TIPO A	TIPO B
Dependiente de dosis	Normalmente muestra una buena relación	No existe una relación simple
Predecible por estudios farmacológicos	Si	No frecuentemente.
Factores del hospedero	Los factores genéticos pueden ser importantes	Dependiente de factores del hospedero (generalmente no caracterizados)
Frecuencia	Común	Rara
Severidad	Variable pero generalmente leve	Variable, proporcionalmente más severa
Carga clínica	Alta morbilidad y baja mortalidad	Alta morbilidad y mortalidad
Proporción de reacciones adversas a las drogas	80%	20%
Detección primaria	Fase I-III	Generalmente fase IV y ocasionalmente fase III
Modelos animales	Generalmente reproducible en modelos animales	No existen modelos animales

No debe sorprender que las reacciones adversas a los fármacos sean frecuentes. Se estima que alrededor del 10% de los ingresos a los hospitales en algunos países son debidos a reacciones adversas a los fármacos. Entre el 15% y el 30% de los pacientes hospitalizados presenta como mínimo una reacción adversa a algún fármaco. Aunque muchas de estas reacciones son relativamente leves y desaparecen al suspender su administración o al modificar la dosis, otras son más graves y de mayor duración.

Un estudio reciente de meta-análisis sugirió que en 1994 en los Estados Unidos las ADR fueron responsables de más de 100 000 muertes y de más de 2 000, 000 de pacientes hospitalizados, lo que coloca a estas reacciones entre la cuarta y sexta causa de muerte en ese país ⁽⁷⁾. Aún cuando los números reportados en este trabajo ⁽⁷⁾ han sido criticados, enfatizan la importancia de las ADR en la práctica médica. ^(7b) Las ADR constituyen el 5% de todas las admisiones hospitalarias y prolongan la estadía en el hospital con un incremento en el costo ^(7c). En Estados Unidos se ha estimado que los costos de ADR, incluyendo en promedio 2 días de hospitalización prolongada y una reducción en la productividad, ascienden a 100 billones de dólares. ^(7d) Por otro lado, las ADR son una de las causas más comunes para retirar un medicamento del mercado, lo que tiene importantes repercusiones financieras para la industria farmacéutica. ⁽⁸⁾

En un análisis reciente de revisión de la literatura sobre ADR se observó que la mayoría de los estudios de reacciones adversas contenían muestras de menos de 1000 pacientes basados en datos de hospitales y utilizaban diseños de estudios no prospectivos e incluían tanto ADR como ADE. Estos estudios identificaron 131 fármacos específicos, 55 clases de fármacos y 19 categorías de fármacos terapéuticos asociados con ADR. Todos excepto 3 de los fármacos incluidos están entre los 200 fármacos más vendidos en los Estados Unidos y por lo tanto la reducción de estas ADR tendría un gran impacto. ⁽⁷²⁾ En la tabla 3 se muestran algunos fármacos comúnmente identificados en estudios de ADR.

Tabla 3. Fármacos comúnmente identificados en estudios de reacciones adversas.⁽⁷²⁾

Categoría terapéutica con clases de fármacos	Fármacos
CARDIOVASCULARES	
β- bloqueadores	Atenolol, metropolol
Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina	Lisinopril
Diuréticos	Furosemda, hidroclorotiazida
Bloqueadores de canales de calcio	Diltiazem, verapamil
Agentes inotrópicos	Digoxina
ANALGESICOS	
Fármacos anti-inflamatorios no- esteroides	Aspirina, piroxicam, ibuprofeno, naproxeno
PSIQUIATRICOS	
Antidepresivos triciclicos	Clorhidrato de imipramina, clorhidrato de nortriptilina,
Inhibidor de la reabsorción selectiva de serotonina	Fluoxetina
ANTIBIOTICOS	
Penicilina	Amoxicilina
Agentes tuberculosos	Isoniazida, rifampina
Macrólidos	Eritromicina
OTROS	
Anticoagulantes	Warfarina sódica
Corticosteroides	Prednisona
Anticonvulsivos	Carbamazepina, fenitoina
Agentes antidiabéticos	Insulina
Broncodilatadores	Tiofilina
Electrolitos	Potasio
Antieméticos o antihistamínicos	Clorhidrato de meclizina

Uno de los ejemplos más estudiados de ADR es el estudio de la enzima tiopurina metiltransferasa (TPMT) y su relación con la toxicidad severa observada en niños con leucemia linfoblástica aguda tratados con tiopurinas.

III.2.5 TIOPURINA METIL TRANSFERASA (TPMT)

La tiopurina metiltransferasa (TPMT) es una enzima citosólica que metila tioles usando 5-adenosin metionina como donadora del grupo metilo. ⁽⁸¹⁾

El gene *TPMT* está localizado en el cromosoma 6 y comprende 10 exones. El alelo mutado más frecuente es el TPMT *3A, el cual contiene dos mutaciones puntuales en los exones 7 (G46a; Ala 154 Thr) y 10 (A7 196; Tyr 240 Lys). Otros dos alelos mutantes contienen una mutación puntual, el primer SNP (TPMT*3B), y el segundo SNP (TPMT*3C). ⁽⁸²⁾

Las variantes alélicas del gen *TPMT* muestran diferentes frecuencias dependiendo del grupo étnico del que se trate. El alelo TPMT*3A representa aproximadamente el 85% de los alelos mutados y estaba ausente en una población coreana en la que el alelo más común fue TPMT*3C. ⁽⁸²⁾ La frecuencia de los alelos mutantes TPMT*3* y TPMT*2 en negros americanos fue de 17.4% y 8.7% respectivamente; además, en estos individuos se descubrió un nuevo alelo (TPMT*8), que contiene una mutación puntual de transición (G 644A) que resulta de un cambio de aminoácido (Arg→His) en el codón 215. ⁽⁸³⁾

Se ha calculado que en caucásicos aproximadamente uno de cada trescientos individuos es homocigoto para un alelo TPMT mutante, lo que conlleva a una actividad enzimática extremadamente baja, y 11% son heterocigotos con una actividad intermedia. ⁽⁸⁴⁾

La deficiencia en la actividad de la TPMT se ha asociado con toxicidad severa, y potencialmente fatal, a nivel de médula ósea (leucopenia aguda, anemia y pancitopenia) en niños con leucemia linfoblástica aguda tratados con dosis estándares de 6- mercaptopurina, tioguanina o azatioprina. Se ha calculado que en estos pacientes se debe reducir 15 veces la dosis de 6- mercaptopurina, para prevenir una hematotoxicidad fatal ^(69, 85, 86)

La azatioprina es un derivado imidazólico de la 6- mercaptopurina, a la cual se convierte por un mecanismo no enzimático. La 6- mercaptopurina es metabolizada por varias vías, una de las cuales es catalizada por la TPMT, produciendo metilmercaptopurina. Otra vía resulta en la producción de metabolitos activos de nucleótidos de tioguanina, los cuales pueden causar toxicidad (baja actividad de

TPMT) y altas concentraciones (alta actividad de TPMT) que pueden llevar a un riesgo alto de falta terapéutica. (35)

III.3 INTERACCIONES ASOCIADAS AL CITOCROMO P450

III.3.1 EL SISTEMA CITOCROMO P450

En el humano, el sistema de enzimas citocromo P450 mono oxigenasas es responsable de la mayor parte del metabolismo de fármacos. Sin embargo, aunque sirven para la detoxificación de xenobióticos, estas enzimas también son responsables principales de la activación de procarcinógenos y promutágenos en el cuerpo humano. Esta acción es particularmente importante para fármacos lipofílicos como aquellos que actúan en el sistema nervioso central, compuestos que generalmente deben ser lipofílicos para atravesar la barrera hemato-encefálica. Puesto que la excreción renal es mínima para estos compuestos, el metabolismo P450 provee la ruta primaria de eliminación. ⁽⁶⁷⁾

El sistema P450 es un complejo formado por dos proteínas: citocromo P450 (CYP) y la citocromo P450 reductasa, ambas embebidas en la membrana del retículo endoplásmico de muchos órganos, incluyendo el hígado. Este sistema enzimático es responsable de gran parte del metabolismo de fase I de compuestos extraños y en él se inactivan la mayoría, pero también pueden convertir compuestos inactivos a metabolitos activos o tóxicos. Existen muchas proteínas CYP pero la mayoría de las reacciones del metabolismo de los fármacos son catalizadas por relativamente pocas, (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 CYP2D6). Los compuestos extraños pueden tener dos efectos en el citocromo P450, inducción o inhibición. Como resultado, la actividad del citocromo P450 puede variar en los individuos debido a su química ambiental, la cual incluye administración, exposición ocupacional a sustancias químicas (e.g. compuestos orgánicos volátiles) y tabaquismo; dependiendo de su exposición, los individuos pueden tener diferentes actividades en su sistema enzimático de fase I. ⁽⁷⁸⁾

La designación de P450 se deriva de su absorbancia a 450 nm en su forma reducida. Por lo menos 30 isoenzimas han sido identificadas, y 11 han sido confirmadas como sitios potenciales de metabolismo de fármacos. Se ha estimado que el genoma humano contenga cientos de genes que codifiquen para diferentes DME; a la fecha se han identificado más de 58 genes, para citocromos P450 humanos ^(78, 88).

Para entender la importancia clínica de la interacción entre los fármacos y el sistema enzimático CYP es necesario analizar los sustratos, los inhibidores y los

inductores de estas isoenzimas. El término sustrato se refiere a un compuesto que se sabe será metabolizado por la isoenzima. El término inhibidor denota un agente que se conoce que interfiere o compite con la isoenzima, e inductor describe a un agente que acelera el metabolismo de un sustrato. Un sustrato P450 es cualquier fármaco cuyo metabolismo está catalizado por una enzima de la familia P450. La definición de un inhibidor P450 es cualquier compuesto que inhibe el metabolismo de otro fármaco mediante una enzima de la familia P450. Como la mayoría de las inhibiciones enzimáticas, este efecto es competitivo y reversible. Una vez que el inhibidor P450 es eliminado del sistema la inhibición finaliza y la enzima queda libre para efectuar su función normal. En general, la inhibición enzimática es rápida y típicamente ocurre después de la primera dosis de un inhibidor. Produciéndose una alteración en la eliminación de un sustrato. La inhibición metabólica es específica para una enzima determinada, y el efecto máximo es usualmente observado a la 24 horas o cuando el inhibidor alcanza el estado estacionario (de 4 -5 vidas medias). En la tabla 4 se muestran algunos inhibidores e inductores de los CYP450 como cimetidina, ketoconazol (agente antimicótico) y desipramina (agente antidepresivo).⁽⁴³⁾

Tabla 4. Inhibidores e inductores de los CYP 450. (43)

INHIBIDORES	INDUCTORES
Enoxacin	Aminoglucetimida
Eritromicina	Barbituratos
Etanol	Carbamazepina
Fluconazol	Humo del cigarro
Fluoxetina	Glucocorticoides
Fluvoxamina	Glutetimida
Isoniazida	Rifampina
Itraconazol	Fenitoina
ketoconazol.	Primidona
Alopurinol	Troglitazona)
Amiodarona	
Cloranfenicol	
Cimetidina	
Ciprofloxacina	
Clarithromicina	
Diltiazem	
Diritromicina	
Disulfiram	
Metronidazol	
Miconazol	
Monoamina oxidasa	
Nefazodona	
Omeprazol	
Propoxifeno	
Quinidina	
TMP/SMX *	
* (Trimetoprim/Sulfa metoxazol)	
Troleandomicina	
Verapamil	

Por otro lado, la inducción enzimática usualmente ocurre después de que el agente responsable estimula la función mixta de enzimas oxidasas en el hígado o enzimas metabolizantes. (49) Se debe alcanzar un nuevo estado estacionario antes de que el inductor presente su efecto máximo. Debido a que la vida media del recambio de la enzima citocromo varía de 1 a 6 días y las vidas medias de inductores comunes están en un rango de 2 a 100 horas, el tiempo de inducción es difícil de predecir y puede tomar cerca de una semana para que ocurran los efectos máximos. Por ejemplo, un inductor muy potente como la rifampicina tiene una vida media de aproximadamente 2 a 3 horas, por lo que el estado estacionario se alcanzará rápidamente; mientras que un inductor enzimático como el fenobarbital, con una vida media de 50 horas, requiere cerca de una semana para acumularse. Por lo tanto, las interacciones fármaco - fármaco resultan significativas cuando, por ejemplo, los

barbitúricos se administran junto con la warfarina por lo que esta combinación debe evitarse. ^(90, 91) Los anticonvulsivos como el fenobarbital y la fenitoína, inducen al CYP3A4, un de los citocromos P450 más prevalentes e importantes en el metabolismo de los fármacos.

El etanol induce el CYP2E1 el cual metaboliza solventes orgánicos, por lo que consumidores regulares de etanol presentan niveles altos de esta enzima. Esta enzima sólo metaboliza acetaminofén. Algunos hidrocarburos aromáticos polinucleares que se encuentran comúnmente en el humo del cigarro y en la combustión del diesel inducen el CYP 1A2 el cual activa pro- carcinógenos a carcinógenos. ⁽⁴³⁾

La nomenclatura para la superfamilia de genes P450 fue sugerida por Bobby Baum (Bethesda, MD) y ha sido adoptada por el Comité de Mapeo de Genes Humanos (*Committee of Human Gene Mapping*) y el Comité de Nomenclatura Genética Estandarizada para el Ratón (*Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice*). Estas organizaciones sugieren el uso de *CYP* en humanos y *Cyp* en el ratón, denotando al citocromo P450 como la raíz del símbolo para el nombre del *locus* cromosómico, lo que es consistente con el nombramiento de los *loci* cromosómicos en otros organismos. Además, se sugirió que se siguiera la nomenclatura de los *loci* en el humano. Por ejemplo los genes para las familias del P450 XVII, P450XIX, y P450 XXI, son nombrados *CYP17*, *CYP19* y *CYP21*. ⁽⁹²⁾

Los *loci* de la levadura L1 y L11 se nombraron CYP51 y CYP52, respectivamente. Cuando se identifican subfamilias, la letra de la subfamilia es incluida e.g. *CYP2A* y *CYP2B* o *CYP11A* y *CYP11B* en el humano; *Cyp2a* y *Cyp2b*, o *Cyp11a* y *Cyp11b* en el ratón. Para los pseudogenes, se incluye al final "P"; e.g. *CYP21P* en humanos y *Cyp21p* en ratones. Estas sugerencias son consistentes con la nomenclatura de otras familias de genes tales como las de genes de colágena en humanos, los genes homeóticos en el ratón y los genes de citocromo en levaduras, e.g. *COL1A2*, *Hox-2* y *CYC7*, respectivamente. ⁽⁹³⁾

La familia de genes CYP ha sido extensamente estudiada y entre sus numerosos miembros, *CYP1A2*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP3A4*, y *CYP2D6*, tienen las funciones críticas más importantes que determinan la respuesta genética a la mayoría de los fármacos prescritos actualmente ^(70, 92).

III.3.2 EJEMPLOS DE LOS PRINCIPALES CITOCROMOS P450

CITOCROMO P4501A2 (CYP1A2)

La enzima CYP1A2 metaboliza teofilina, cafeína, propranolol, acetaminofén y warfarina entre otros fármacos. Esta enzima no exhibe diferencias importantes en cuanto al sexo, a menos que la mujer esté embarazada. Durante el segundo y tercer trimestre de embarazo su actividad se reduce significativamente, también la vida media de la cafeína se incrementa en un 200%. Como resultado, las mujeres pueden ser más sensibles a la cafeína durante el embarazo. ⁽⁴³⁾

CITOCROMO P450 2C9 (CYP2C9)

Otro ejemplo de polimorfismo genético en el metabolismo de fármacos es la observación reciente de que variantes alélicas de CYP2C9 están asociadas con requerimientos de dosis más bajas de warfarina. En un estudio retrospectivo en una población clínica con tratamiento anticoagulante, se encontró que los alelos CYP2C9 (*2,*3) asociados con una actividad enzimática disminuida estaban sobre-representados en los pacientes estabilizados con bajas dosis de warfarina. Estos pacientes presentaron una incidencia alta de hemorragias leves y severas. ⁽⁹⁴⁾

Los individuos homocigotos para alelos mutantes de CYP2C9 son raros (0.2-1.0% de la población). Sin embargo, este genotipo se asocia con un riesgo mayor de reacciones adversas a warfarina y con un metabolismo pobre de talbutamida, glipicida y fenitoína. ⁽⁹⁵⁾

CITOCROMO P450 2C19 (CYP 2C19)

En un estudio realizado en 1979 sobre el metabolismo estereoselectivo de la mefenitoína, un agente anticonvulsivante, se observó que un individuo experimentó una sedación extrema después de 5 días de ingestión de este fármaco (300mg/día) ⁽⁹⁶⁾. En este sujeto el perfil metabólico urinario de la mefenitoína R y S reveló una deficiencia en la 4'-hidroxilación de la S- mefenitoína. ^(97, 98) La mefenitoína es un fármaco cuyo enantiómero R es generalmente demetilado a baja velocidad, mientras que el enantiómero S es hidroxilado muy rápidamente por unas personas y muy lentamente por otras.

A partir de esta observación inicial se realizaron numerosos estudios que definieron el patrón de herencia autosómico recesivo de esta deficiencia enzimática. El citocromo P450 CYP 2C19 fue identificado como la enzima responsable de esta deficiencia metabólica, ^(99, 100, 101) y se han descrito 8 alelos del gen *CYP2C19*. ⁽¹⁰²⁾ La expresión de los alelos de *CYP2C19* muestra una marcada diferencia racial: 2.8% en varias poblaciones caucásicas y 20% a 30% en asiáticos. ⁽³³⁾

Otros sustratos que han causado alteraciones clínicas en personas con alelos *CYP2C19* deficientes incluyen omeprazol, pioguanilo, y citalopram. Entre los sustratos adicionales están la clompramina, imipramina, diazepam y propranolol. ⁽³³⁾ La relevancia clínica y toxicológica de la variación genética de *CYP2C19* es actualmente limitada. Se están desarrollando modelos tridimensionales del sitio activo de la enzima para automatizar y aumentar la velocidad a la cual se identifican los sustratos de esta enzima. ⁽¹⁰²⁾

CITOCROMO P450 3A4 (CYP3A4)

Se estima que el citocromo CYP3A4 es el responsable del metabolismo oxidativo del 50% de fármacos y hormonas, más que cualquier otra subfamilia CYP. ^(268, 45, 15) Es el principal CYP en el hígado y, además, está presente en el intestino, donde puede metabolizar fármacos a medida que son absorbidos a través de este órgano. Las diferencias individuales en la actividad de esta isoenzima son generalmente el resultado de la exposición a fármacos que alteran su actividad. Por ejemplo, los anticonceptivos orales como los etinil esteroides inactivan esta enzima. Los sustratos para CYP3A4 incluyen un gran número de medicamentos, como esteroides, ciclosporinas, omeprazol y bloqueadores de canales de calcio. ⁽⁴³⁾

CITOCROMO P450 2D6 (CYP2D6)

En un estudio realizado a mediados de los setentas por investigadores británicos sobre la farmacocinética del agente antihipertensivo debrisoquina, se observó un episodio de hipotensión severo en algunos individuos. ^(26, 27) Se comprobó que estos efectos secundarios estaban relacionados con la dosis del fármaco y eran resultado de la incapacidad del paciente para eliminar la debrisoquina mediante la conversión a su metabolito hidroxilado inactivo. ⁽¹⁰³⁾ Posteriormente, los estudios familiares y poblacionales verificaron la naturaleza genética de este defecto metabólico y

establecieron su naturaleza polimórfica al observar que 5-10% de la población caucásica era metabolizador pobre (PM o metabolizador pobre) en relación con el resto (EM o metabolizador rápido). En la misma época, investigaciones independientes sobre la variación de la respuesta al agente antiarrítmico y oxitóxico, esparteína, descubrieron que una proporción similar de sujetos en Alemania eran incapaces de convertir enzimáticamente a la esparteína en sus metabolitos 2- y 5 - dehidroesparteína. ^(104, 105)

La enzima CYP2D6 pertenece a la superfamilia de los citocromos P450 y metaboliza aproximadamente 25% de los fármacos que están actualmente en el mercado. Los polimorfismos del gen *CYP2D6* han sido considerados como uno de los factores críticos que causan susceptibilidades individuales diferentes en la respuesta a los fármacos. ⁽¹⁰⁶⁾ El gen *CYP2D6* se localiza en el cromosoma 22q13.1 y es parte de un grupo que incluye dos o tres pseudogenes relacionados. ⁽¹⁰⁷⁾ sin embargo, sólo un alelo de este gen codifica para una enzima funcional y los homocigotos presentan un fenotipo EM. En contraste, los individuos PM son homocigotos para alguno de los más de 60 alelos mutantes de *CYP2D6* conocidos. ⁽¹⁰⁸⁾

Los estudios basados en la proporción entre el fármaco y su metabolito (MR, *metabolic ratio*) utilizando como fármacos de prueba a la debrisoquina, a la esparteína y al dextrometorfán, han demostrado gran variabilidad entre los diferentes sujetos. La diferencia fenotípica observada en los valores MR ha permitido clasificar a los individuos como metabolizadores pobres o lentos (PM), rápidos o extensos (EM) y ultra rápidos (UM). El fenotipo PM se clasifica en sujetos con MR debrisoquina > 12.6 ^(104, 109), MR esparteína >20 ⁽¹¹⁰⁾ o MR dextrometorfán >0.3. ⁽¹¹¹⁾ El fenotipo UM se define en sujetos con MR debrisoquina > 0.20 o MR esparteína > 0.15. ⁽¹¹²⁾ El fenotipo EM corresponde a valores de MR entre ambos rangos.

La identificación de individuos UM tiene un gran valor potencial clínico, ya que cuando los pacientes no responden a las dosis estándar y tienen concentraciones plasmáticas más bajas de lo esperado, en relación a la dosis, es importante distinguir entre la capacidad elevada de metabolizar y la falta de respuesta al medicamento. Los UM de *CYP2D6* frecuentemente resultan de la herencia de alelos duplicados o genes *CYP2D6* funcionalmente amplificadas. ^(113, 114)

Las distribuciones desiguales de los fenotipos UM, EM y PM entre las diferentes poblaciones mundiales conducen a diferencias metabólicas inter raciales, además de las variaciones inter individuales. Los PM constituyen 5-10% de la población caucásica, 2% en negros americanos y 1% en orientales. Además, se han observado diferencias en las frecuencias de los alelos mutados dependiendo del origen étnico de la población. Por ejemplo, las duplicaciones de *CYP2D6* varían de 29% etiopes, ⁽¹¹⁵⁾ 20% en árabes sauditas, ⁽¹¹⁶⁾ 1-7% en caucásicos ^(78, 117) y 1-2% en orientales. ^(104, 105, 106)

Como se dijo anteriormente, el polimorfismo del gen *CYP2D6* inicialmente se descubrió como resultado de investigaciones sobre las marcadas variaciones en las respuestas terapéuticas a la debrisoquina y a la esparteina. Posteriormente, se observó que la enzima *CYP2D6* interviene en el metabolismo de numerosos fármacos antiarrítmicos, bloqueadores de receptores β -adrenérgicos, neurolépticos, antidepressivos y otros. Entre los neurolépticos metabolizados por esta enzima están haloperidol, perfenacina, risperidona, sertindole, tioridazina y zuclopentixol y entre los antidepressivos están amiflamina, amitriptilina, brofaromina, citalopram, clomipramina, desipramina, fluoxetina, ifoxetina, imipramina, maprotilina, mianserina, nortriptilina, paroxetina, selegilina y tomoxetina. Estos compuestos son importantes en la farmacoterapia de las enfermedades neuropsiquiátricas, la cual ha reducido la morbilidad y ha mejorado el pronóstico de millones de pacientes en el mundo. ^(8, 55)

III.4 GENOMA HUMANO

III.4.1 EL PROYECTO DEL GENOMA HUMANO

El término genoma designa a un juego completo de cromosomas que contiene todos los genes de un organismo. El genoma humano se encuentra distribuido en 24 cromosomas diferentes, 22 autosomas y 2 cromosomas sexuales (X, Y); conteniendo, de acuerdo a estimaciones recientes, entre 26,000 y 39,000 genes ordenados en secuencias específicas como parte de los aproximadamente 3,000 millones de pb del ADN. El mapeo genético consiste en conocer la posición de los genes, su relación con otros genes y con marcadores genéticos sobre el mismo cromosoma. ⁽¹¹⁹⁾

III.4.2 ANTECEDENTES

El Proyecto del Genoma Humano (HGP) parece haber tenido múltiples orígenes. Uno de ellos fue la reunión en Alta, Utah, en 1984, cuando un grupo de científicos (en su mayoría biólogos moleculares), pensó en la posibilidad de secuenciar todo el genoma humano. Curiosamente, el objetivo inicial de dicha reunión ni siquiera era éste, pues habían sido convocados por el Departamento de Energía de los Estados Unidos (DOE), el cual tenía la intención de monitorear los daños hereditarios causados por la exposición a bajas dosis de radiaciones y otros factores ambientales. Las herramientas biotecnológicas disponibles en ese momento eran escasas, por lo que el trabajo se antojaba titánico. ^(119, 120)

Otro antecedente importante del Proyecto del Genoma Humano lo constituye el encuentro organizado por Robert Sinheimer en Santa Cruz (California, E.U.A.) en 1985 y Renato Dulbecco en 1986. Los esfuerzos anteriores se conjugaron en la reunión de "La biología molecular del *Homo sapiens* llevada a cabo en Cold Spring Harbor, Nueva York, en 1986, donde el concepto de cooperación multicéntrica y multinacional del HGP, tal como se conoce ahora, recibió su mayor impulso. Sin embargo, todavía faltaba mucho para que se hiciera realidad, principalmente porque para el DOE este plan tenía poca prioridad, por lo que se invitó a participar a los Institutos Nacionales de Salud (NIH), en donde también hubo inicialmente poco interés. Debido a la controversia que surgió, se designó un comité especial del Consejo Nacional de Investigación (NRC) para decidir qué se debería hacer, ya que existían dudas entre los

integrantes de la comunidad científica acerca de la conveniencia y/o factibilidad del proyecto. Finalmente, en octubre de 1988 los NIH y el DOE firmaron un acuerdo en el cual se comprometían a trabajar en forma conjunta. (121, 122)

La mayor parte del proyecto inicial se llevó a cabo en los Estados Unidos, donde participaron una serie de instituciones como el DOE, el Departamento de Salud y los Servicios Humanos de los Estados Unidos a través de sus filiales NIH, el Servicio de Salud Pública, el Centro Nacional para el Estudio del Genoma Humano (NCHGR), el Departamento de Agricultura (USDA), la Fundación Nacional de Ciencias (NSF), y la fundación privada Instituto Médico Howard Hughes (HHMI). Entre otras naciones participantes destaca el aporte de Gran Bretaña, con un programa definido presentado por Walter Bodmer, Sydney Brenner y otros en 1989, con un presupuesto de 20 millones de dólares para los 3 primeros años. Así mismo Francia y los países restantes de la Comunidad Económica Europea, Australia y Canadá, han mostrado interés en este proyecto. En Francia se encuentra el Centro para el Estudio de los Polimorfismos Humanos (CEPH) creado por Jean Dausset con dinero proveniente del Premio Nobel que recibió en 1981. El CEPH en unión con la Asociación Francesa contra la miopía (AFM) crearon una organización llamada Génethon que con maquinaria de alta tecnología sirve de apoyo a proyectos desarrollados en Francia y otros países. Actualmente dicho centro es una pieza fundamental para secuenciar el genoma humano y conjuntamente con el NIH han construido un mapa constituido por más de 1,400 *loci* distribuidos aproximadamente en el 95% del genoma humano. Finalmente, a partir de 1992, con el Proyecto Francés de Genoma, apoyado por el ministerio de la investigación (GREG, *Groupement d' Etudes et de Recherches sur les Génomes*), toda esta área de la investigación ha tenido un gran avance. Por su parte, Italia, Holanda, Alemania y los países escandinavos están haciendo un excelente trabajo.

Por otro lado, en 1988, un grupo de prominentes científicos (biólogos moleculares y genetistas humanos) fundó la Organización del Genoma Humano (HUGO, *Human Genome Organization*). Esta organización busca asegurar la colaboración internacional y que la información generada por el proyecto sea accesible libremente a los científicos de todo el mundo. (122, 123)

Iniciado formalmente en 1990, el Proyecto del Genoma Humano se planteó las siguientes metas:

- Identificar los aproximadamente 35,000 genes en el DNA humano.
- Determinar la secuencia de los 3×10^9 pares de bases (pb) que constituyen el genoma humano haploide.
- Almacenar esta información en bases de datos.
- Desarrollar herramientas para el análisis de los datos obtenidos.
- Enfrentar los aspectos éticos, legales y sociales derivados del proyecto.

El HGP originalmente debía ser completado en el 2005 pero gracias al avance de las innovaciones tecnológicas la fecha fue cambiada para el 2003. ^(124, 125)

III.4.3 AVANCES PRINCIPALES

Los acontecimientos más importantes que ha logrado el HGP se resumen a continuación:

En julio de 1995 Craig Venter, Claire Fraser y Hamilton Smith publicaron la primera secuencia completa del genoma de un organismo vivo *Haemophilus influenzae*. ⁽¹²⁶⁾ El 1 de Diciembre de 1999, investigadores británicos, japoneses y estadounidenses completaron la secuencia del primer cromosoma humano, el cromosoma 22. ⁽¹²⁷⁾ Este cromosoma es el segundo más pequeño de los autosomas y comprende del 1.6 al 1.8% del total del DNA genómico. Es uno de los cinco cromosomas acrocéntricos humanos, cada uno de los cuales comparte gran similitud en su secuencia del brazo corto en el que contienen genes repetidos para RNA ribosomal y otras secuencias repetitivas. No existe evidencia de la presencia de genes que codifiquen para proteínas en el brazo corto del cromosoma 22 (22p). En contraste, el brazo largo de este cromosoma (22q) es rico en genes comparados con otros cromosomas. La secuencia de la región eucromática de 22q obtenida consiste de 12 segmentos "contigs" que abarcan 33.4 Mb y que contienen al menos 545 genes y 134 pseudogenes. ^(124, 128) Entre los genes más importantes está el gen *BCR* que está implicado en la leucemia mieloide crónica, esquizofrenia y en la trisomía 22. ^(129, 130)

El cromosoma 21 del humano es el más pequeño y su secuencia se completó el 10 de abril del 2000. ⁽¹³¹⁾ Cuando están presentes 3 copias de este autosoma ocasionan

síndrome de Down, el desorden genético más frecuente asociado con retardo mental. Por esta razón, el cromosoma 21 se ganó una posición prominente en la investigación biomédica; de hecho cinco años antes en la creación del HGP internacional, se había formado un consorcio académico de Alemania y Japón para mapear este cromosoma. El cromosoma 21 contiene 33,546,361 pb de DNA y el análisis de su secuencia reveló 127 genes conocidos, 98 genes predecidos y 59 pseudogenes. El logro de la secuencia del cromosoma 21 provee una fuente única para entender la patofisiología molecular del síndrome de Down así como también de otros desórdenes monogénicos y complejos que se localizan en este cromosoma. ^(125, 131)

El 13 de abril del 2000 el Secretario de Energía de los Estados Unidos, Bill Richardson, anunció que el Instituto del Genoma en Walnut Creek, California, había secuenciado en forma de borrador la información genética en los cromosomas humanos 5, 16 y 19. Estos 3 cromosomas contienen más de 300 millones de pb lo cual se estima que constituye el 11% del genoma humano.

El cromosoma 5 contiene 194,000 pb siendo éste el 6% del genoma humano. Las enfermedades ligadas a los genes en este cromosoma incluyen cáncer colorectal, carcinoma de célula basal, leucemia mielógena aguda, hipertensión y algunos tipos de enanismo. Algunos de sus genes más importantes es el *SRD51A* (esteroide 5-alfa reductasa 1) implicado en la calvicie y en el acné, el gen *CSA* del síndrome de Cockayne y el gen *DTD* implicado en la displasia distrófica, una malformación de las articulaciones. El cromosoma 16 contiene cerca de 98,000,000 pb, siendo éste el 3% del genoma; entre los genes localizados en este cromosoma están los responsables de desarrollar cáncer de mama y de próstata, enfermedad de Crohn y enfermedad del riñón poliquístico en el adulto. El cromosoma 19 contiene 60,000,000 pb, siendo éste el 2% del genoma humano, contiene genes implicados en la reparación del daño al DNA y también genes asociados a diabetes mellitus y aterosclerosis. ⁽¹³²⁾

En Junio del 2000 se logró la secuencia del primer borrador que comprendió el 97 % del genoma humano y en Febrero del 2001 se completó este borrador cuya secuencia se publicó de manera conjunta en las revistas *Nature* y *Science*, el 15 de febrero y 16 de febrero del 2001, respectivamente. Los artículos de *Nature* ⁽¹³³⁾ contienen el análisis de la secuencia inicial generada por el Proyecto del Genoma Humano con financiamiento público, en contraste la publicación de *Science* ⁽¹³⁴⁾ está basada en la secuencia obtenida en la compañía privada Celera Genomics. El genoma

humano está compuesto aproximadamente por 26,383 pb y 39,114 genes, es prácticamente idéntico en todas las razas y tan sólo 2 veces mayor que el de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*).⁽¹³⁵⁾

La secuencia con una precisión media que se calcula en un 99.96%, aparece codificada en color para distinguir las funciones de dos tercios de todos los genes identificados y revela un código sorprendentemente común en todos los grupos étnicos. Existen vastas extensiones de regiones casi desérticas en el genoma, donde la secuencia génica contiene relativamente pocos o ningún gen codificador de proteína. Por lo tanto, alrededor de una cuarta parte del genoma se puede considerar que está desierta, con grandes segmentos vacíos de genes. La densidad de los genes es máxima en los cromosomas 17, 19 y 22, mientras que los cromosomas 4,13,18, X y Y están comparativamente vacíos. Los genes existen en su mayoría en islas o conglomerados separados por grandes desiertos de millones de pares de bases (pb) de longitud que tienen pocos o ningún gen. Más de un tercio del genoma (el 35.3%) contiene secuencias repetitivas, lo que corresponde al llamado DNA "basura". De hecho el cromosoma 19 es repetitivo en un 57%.⁽¹¹⁸⁾ Sólo el 1.1% del genoma está constituido por exones, el 24% por intrones y el 75% corresponde al DNA intergénico. Los análisis genómicos comparativos con vertebrados indican expansiones en los genes asociados con funciones neuronales, con la regulación del desarrollo tejido - específico, con la hemostasia y con el sistema inmune.⁽¹³⁴⁾

A fines de diciembre del 2001, se completó la secuencia del cromosoma 20 humano, el primero que se terminó desde la publicación del borrador del cromosoma humano en febrero del 2001. Entre los genes localizados en el cromosoma 20 están los implicados en la enfermedad de Creutzfeldt - Jacob, en la inmunodeficiencia severa combinada, en la diabetes tipo 2, en la obesidad, en cataratas y en eczema. La secuencia completa de este cromosoma comprende 59,187,298, pb y representa 99% del DNA eucromático.⁽¹³⁶⁾

La Figura 6 resume de manera cronológica los principales avances en el conocimiento del genoma humano. El HGP es un enorme desafío desde varios puntos de vista: científico, tecnológico, organizacional, internacional y sociológico.

Los métodos y recursos desarrollados bajo este programa están influyendo y apresurando otros proyectos de investigación, ya que representa el filo de la ciencia: una inversión a largo plazo para el desarrollo de nuevas tecnologías con costos

reducidos que resultan en una extraordinaria promesa de entendimiento de la salud y de la enfermedad en el humano. Como consecuencia de las pruebas y recursos desarrollados bajo el HGP, la genética humana tendrá un papel central en el estudio de la biología humana. (122)

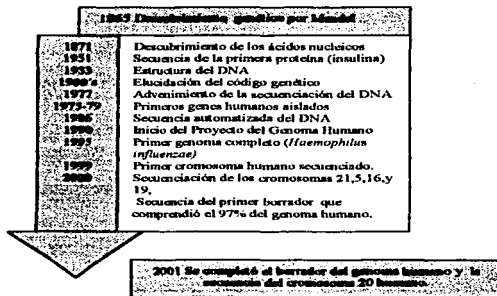


FIG. 6 Línea del tiempo con los principales avances en el conocimiento del genoma humano. Modificada de (136)

III.5 LA FARMACOGENÓMICA, UNA PROMESA DE LA MEDICINA PERSONALIZADA

III.5.1 FARMACOGENÓMICA

La farmacogenómica se puede definir como la ciencia que utiliza la biología molecular y las herramientas genéticas para estudiar los factores genéticos implicados en la respuesta a los fármacos. El objetivo de esta amplia disciplina es identificar los factores genéticos que afectan la respuesta a compuestos terapéuticos y desarrollar las aplicaciones clínicas apropiadas a este conocimiento. ⁽¹³⁷⁾

Mientras que la farmacogenética se enfoca a la influencia de la variabilidad genética en la respuesta terapéutica o en el riesgo de reacciones adversas a los fármacos, la farmacogenómica involucra el uso de estrategias moleculares para identificar nuevos blancos potenciales para el desarrollo de fármacos. ⁽¹³⁸⁾

La farmacogenómica va más allá de la farmacogenética para incluir las variaciones genómicas en los blancos genéticos de los fármacos o en las diferencias de expresión genética en los estudios de salud y enfermedad, sin embargo, la distinción entre farmacogenética y farmacogenómica se considera actualmente arbitraria y, por lo tanto ambos términos se han usado indistintamente. ⁽¹³⁹⁾

Desde el punto de vista médico, existen 3 aspectos principales que hacen diferente a la farmacogenómica de la farmacogenética

1. - Los métodos fenotípicos, los cuales gobernaron hasta hace poco la mayor parte de la farmacogenética, estarán cada vez más subordinados a los procedimientos genotípicos. La genotipificación seguirá siendo importante como un método para evaluar el significado médico de la variación genética.
2. - El análisis del genoma en comparación con genes únicos, mejora la probabilidad de encontrar variantes que promuevan la aparición de enfermedades comunes, tales como esquizofrenia, asma o hipertensión. Esto a su vez promoverá el descubrimiento de nuevos blancos para fármacos, los genes o proteínas.
3. - Históricamente la farmacogenética estaba más enfocada a la seguridad terapéutica. Aún cuando la seguridad terapéutica permanezca como una preocupación,

el efecto principal de las promesas farmacogenómicas es el mejoramiento de la eficiencia terapéutica.

El término farmacogenómica es tan nuevo que no está aún considerado en la mayoría de los textos de farmacología y genética, ni en los diccionarios científicos. Las tecnologías implicadas en esta nueva disciplina nos permiten no sólo analizar la variabilidad genética en todo el genoma y medir la expresión de un gen, sino también medir la expresión celular de miles de genes. No obstante, las nuevas técnicas por sí mismas no conllevarán a los avances científicos deseados. Los farmacólogos clínicos deben aprender cómo aplicar el conocimiento metodológico y los resultados derivados del Proyecto del Genoma Humano en el desarrollo de nuevos fármacos; por lo tanto; deberán aprender a incluir el tamizaje farmacogenético y la determinación de la expresión génica (ARNs mensajeros y proteínas) en los ensayos clínicos. ⁽¹⁴⁰⁾

El uso de la estrategia genómica incluyendo microarreglos y proteómica, para identificar cambios tempranos en la expresión genética debe ayudar para producir y entender los efectos deseables de los fármacos, los efectos concomitantes y los efectos adversos de tal manera que la posibilidad de que la fármaco terapia basada en las diferencias individuales y en la expresión genética no constituyan una utopía. ⁽¹⁴¹⁾

El entendimiento, la explotación y la implementación de la farmacogenómica tendrá tres impactos principales en el futuro de la medicina:

- 1.- Centrar las prescripciones médicas en aquellos individuos que respondan a la terapia específicamente debido a su predisposición genética.
- 2.- Facilitar la rapidez y reducir los costos de los ensayos clínicos.
- 3.- Aumentar el número de blancos moleculares terapéuticos y diseñar nuevos fármacos candidatos para la mayoría de las enfermedades. ⁽¹⁴²⁾

III.5.2 BENEFICIOS POTENCIALES DE LA FARMACOGENÓMICA.

Los beneficios anticipados de la farmacogenómica se resumen a continuación:
MEDICAMENTOS MÁS PODEROSOS

Las compañías farmacéuticas serán capaces de crear fármacos basados en proteínas, enzimas y moléculas de RNA asociadas con genes y enfermedades. Esto facilitará el descubrimiento de fármacos y permitirá la producción de fármacos para la terapia de enfermedades específicas. Esta precisión no sólo aumentará los efectos terapéuticos si no que disminuirá el daño de células saludables cercanas. ⁽¹⁴³⁾

FÁRMACOS SEGUROS DESDE LA PRIMERA VEZ

En lugar del método estándar ensayo – error de los pacientes con el fármaco correcto, los médicos serán capaces de analizar el perfil genético del paciente y prescribir el mejor fármaco disponible desde el principio. Esto no sólo permitirá encontrar el fármaco correcto, si no también ahorrará tiempo y aumentará la seguridad, por lo que probablemente las reacciones adversas se eliminarán. ⁽¹⁴¹⁾

MÉTODOS MÁS PRECISOS PARA DETERMINAR UNA DOSIFICACIÓN A DOSIS ADECUADAS

Los métodos actuales de dosificación basados en el peso y en la edad serán remplazados por una posología basada en el perfil genético de la persona que tanto el cuerpo procesa el medicamento y el tiempo que tarda en metabolizarlo. Esto aumentará el valor de la terapia y disminuirá la probabilidad de sobredosis. ⁽¹⁴¹⁾

DETERMINACIONES PREVIAS DE LAS ENFERMEDADES

El conocimiento del perfil genético de una persona permitirá que lleve un estilo de vida más adecuado y que realice cambios ambientales en una edad temprana para evitar o atenuar una enfermedad genética. ⁽¹⁴¹⁾

MEJORES VACUNAS

Las vacunas constituidas de material genético DNA o RNA, prometen todos los beneficios de las vacunas actuales sin ningún riesgo, ya que activarán el sistema inmune pero serán incapaces de causar infecciones, además, serán baratos, estables, fáciles de almacenar y capaces de portar varias cepas de un patógeno al mismo tiempo.

MEJORAMIENTO EN EL DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS Y APROBACIÓN DEL PROCESO

Las compañías farmacéutica serán capaces de descubrir terapias potenciales más fácilmente utilizando blancos en el genoma. Los costos y riesgos de los ensayos clínicos se reducirán seleccionando sólo aquellas personas capaces de responder al fármaco. ⁽¹⁴¹⁾

DISMINUCIÓN EN LOS COSTOS DEL CUIDADO DE LA SALUD

La disminución en el número de reacciones adversas, el número de ensayos clínicos fracasados, el tiempo que tarda en ser aprobado un fármaco, el lapso en que los pacientes sean medicados, el número de pacientes medicados para encontrar que una terapia sea efectiva, los efectos de una enfermedad y un incremento en el rango de

posibles blancos para los fármacos, resultarán en una disminución neta en el costo del cuidado para la salud. ⁽¹⁴¹⁾

III.5.3 EL FUTURO DE LA FARMACOGENÓMICA

El desafío inmediato para la investigación de bioinformática en el área de la farmacogenómica es elucidar la relación entre genotipo y fenotipo, entendiéndose que esta relación tendrá indudablemente un profundo impacto, especialmente en el desarrollo de fármacos. ⁽¹⁴²⁾

El legado del Proyecto del Genoma Humano traerá una abundancia de secuencias de genes novedosos, identificando blancos para nuevos fármacos en los cuales la ciencia de la farmacogenómica puede ser aplicada. Sin embargo, en el presente el 70% o más de los productos de nuevos genes identificados no tienen una función conocida. La mayoría de las proteínas que hasta el momento han sido usadas como blancos para fármacos tienen genes caracterizados. En algunos casos, los genes que codifican proteínas en las mismas rutas como las proteínas blanco también están caracterizados. Una basta industria farmacéutica ha sido construida en torno a fármacos cuyos efectos son ejercidos a través de estas proteínas, los blancos de fármacos implicados en enfermedades cardiovasculares son solo un ejemplo. Después de muchas décadas, estos blancos han sido utilizados para el desarrollo de nuevos fármacos con un costo de 25 billones de dólares dentro de un total de 25 billones de dólares en el mercado para fármacos hipertensivos. ⁽¹⁴²⁾

III.6 VARIACION POLIMORFICA EN EL GENOMA HUMANO

III.6.1 POLIMORFISMOS DE NUCLEOTIDO SENCILLO (SNP)

El DNA genómico de las personas puede diferir en su secuencia en cualquier posición del mismo. Muchas de estas diferencias resultan en una variación normal que crean una característica distintiva del individuo o de una población. No obstante, algunas de estas variaciones en la secuencia del DNA han sido también asociadas con un incremento en el riesgo de desarrollar enfermedades específicas con respuestas variables a ciertas fármacoterapias. ^(143, 144)

Un polimorfismo genético se define, de manera arbitraria, cuando una variante alélica se presenta con una frecuencia mayor al 1% en una población mientras que las variantes raras pueden ser producto de nuevas mutaciones. La tasa de mutación espontánea es de uno por cada $10^6 - 10^8$ gameto/mutación por lo que deben existir factores selectivos (e.g clima o dieta) que mantienen las variantes polimórficas en una población. ^(143, 144)

Se ha estimado que la variabilidad genética a nivel de DNA ocurre en aproximadamente 1 en 500 a 1 en 1000 bases de DNA codificante y 1 en 300 a 1 en 500 bases de DNA no codificante, conocida como SNP (*Single - Nucleotide Polymorphism*). La gran mayoría de esta variación se debe a sustituciones de una base en un sitio específico. Muchos de los SNP no producen cambios físicos en las personas, sin embargo, los científicos en genética están deseosos de identificar tantos SNP como puedan, distribuidos en los 23 cromosomas por dos razones principales:

- Aún los SNP que no cambian la expresión de una proteína y que no causen enfermedad pueden localizarse en el cromosoma adyacente a mutaciones deletéreas. Por esta razón, los SNP pueden ser compartidos entre personas con mutaciones dañinas pero desconocidas y servir de marcadores genéticos para localizarlas
- El análisis de cambios en los SNP entre diferentes grupos de personas, ayudará a los genetistas de poblaciones a trazar la evolución de la raza humana a través del tiempo y a revelar las conexiones entre grupos étnicos dispersos y razas. ⁽¹⁴⁵⁾

Los polimorfismos han sido conservados a través de la evolución y son comunes en el DNA humano. Actualmente se han detectado más de 1.4 millones de variaciones de un solo nucleótido (SNP) lo que resulta en una densidad promedio de un SNP cada 1,9Kb. ⁽¹⁴⁶⁾ Se estima que 60,000 SNP caen dentro de los exones y que el 85% de los exones están a 5 Kb del SNP más cercano. La diversidad nucleotídica varía de manera importante a través del genoma, en una forma ampliamente consistente con un modelo genético de población estándar de la historia de la humanidad. Este mapa de alta densidad de SNP provee una base de datos públicos para definir la variación de los haplotipos a través del genoma, lo que contribuiría a identificar genes de importancia biomédica para el diagnóstico y la terapia. ^(124, 125, 145) Los polimorfismos que se localizan en las secuencias codificadoras de proteínas son algunas veces llamados cSNP y es más probable que afecten funciones biológicas y que jueguen un papel en la enfermedad. ⁽¹⁴⁵⁾

Los genes que codifican para las DME pueden contener SNP que afectan la función o la cantidad de esa enzima y por lo tanto su respuesta a ciertos fármacos. En estudios de farmacogenética estos alelos polimórficos son genotipificados para identificar el fenotipo individual para el metabolismo de un fármaco ⁽¹⁴⁷⁾. Por esta razón la farmacogenética se ha propuesto tres procesos con respecto a los SNP:

1) El descubrimiento de los SNP: la identificación y clasificación de SNP dentro del genoma humano, algunos de los cuales se espera que afecten la respuesta o toxicidad a los fármacos.

2) La correlación de SNP: el diseño y la ejecución de ensayos clínicos que incluyen análisis genéticos para correlacionar los SNP identificados con las variaciones clínicas documentadas en respuesta a los fármacos, y 3) Diagnóstico de SNP: uso de pruebas diagnósticas basadas en SNP para determinar si un paciente posee o no un perfil genético que lo predispone a responder a un fármaco en particular de manera adecuada. ⁽¹⁴⁶⁾

III.6.2 DESCUBRIMIENTO DE SNP

Una de las aplicaciones inmediatas importantes de la determinación de SNP en un genoma es que proveerá un mapa altamente detallado para facilitar la clonación posicional, mediante un mapa de desequilibrio de unión, de genes implicados de manera importante en el proceso de una enfermedad. Más allá de esta aplicación en el

descubrimiento de genes blancos causantes de enfermedad. la industria farmacéutica sólo reconoce los beneficios comerciales potenciales que un mapa amplio de SNP podría tener para el desarrollo de fármacos y para individualizar la farmacoterapia. ⁽¹⁴⁵⁾

Aunque la creación de mapas de SNP han sido útiles, la meta de compañías biotecnológicas tales como Incyte (Palo Alto, CA, USA), Genset (Paris, Francia), Celera (Rockville, MD, USA), y CuraGen (New Haven, CT, USA) en los últimos dos años, y el reciente anuncio del Consorcio del SNP (TSC) ha acelerado el interés en esta área. El TSC (*The Single Nucleotide Polymorphism Consortium*) es una fusión de Wellcome Trust con diez compañías farmacéuticas principales, otros socios corporativos y varios centros de secuenciación de DNA, tal como se muestra en la tabla 5:

Tabla 5 El TSC. ⁽¹⁴⁶⁾

Astra Zeneca PLC
Aventis
Amersham Pharmacia Biotech
Bayer AG
Bristol - Myers Squibb Co.
Hoffman - La Roche
Glaxo Wellcome PLC
IBM
Novartis
Pfizer Inc
Searle
Smithkline Beecham PLC
Wellcome Trust

La más completa base de datos privado de SNP disponible ha sido construida por Genetest, la cual consiste en aproximadamente de 60000 sitios y la base de datos actual de Cura Gen es de 120000 SNP.

Las últimas colecciones están disponibles a los investigadores pero a un costo. Basados en datos obtenidos hasta hoy, se ha estimado que los humanos varían de una persona a otra aproximadamente en una en cada 300 a 1000 bases de nucleótidos, esto significa que podría haber sobre 3 a 10 millones de sitios de variación de nucleótidos en los 3 billones de bases en el genoma humano. ⁽¹⁶⁾

III.6.3 LOS SNP EN FARMACOGENÓMICA

La farmacogenómica utilizará los SNP para el descubrimiento de nuevos fármacos. Por ejemplo, muchos de los nuevos fármacos prometedores desarrollados por compañías farmacéuticas, nunca lograron pasar los ensayos clínicos debido a los efectos adversos de origen genético que causan en un pequeño número de pacientes. Alternativamente, pacientes con variaciones en su condición inducidas por SNP, en enfermedades tales como hipertensión, pueden ser genotificados para prescribirles el fármaco mas apropiado de acuerdo a su variación genética. ⁽¹⁴⁵⁾

Si un fármaco se desarrolla con el conocimiento de que la eficacia o seguridad está correlacionada con un grupo específico de SNP el uso de un fármaco puede estar ligado a una prueba diagnóstica para ese perfil genético. Esto representa el último paso en el proceso farmacogenético y uno que puede revolucionar la forma en que los fármacos se utilizarán en un futuro. En contraste, puede discutirse que la mayor utilidad de la farmacogenética será la exclusión del desarrollo de fármacos dirigidos a blancos altamente polimórficos, o que despliegan una variabilidad farmacocinética variable en plasma debido a las rutas polimórficas de absorción, distribución, biotransformación o excreción. Si este es el caso, entonces el perfil de SNP como diagnóstico post – comercial, sería innecesario porque el desarrollo de fármacos con variabilidad farmacogenéticamente sería simplemente evitado desde el principio. ⁽¹⁶⁾

Por otro lado un compuesto para el cual existe información médica competente y económicamente racional para su desarrollo a pesar de las variaciones genéticas en su acción, pasará a través de un proceso de desarrollo guiado por este conocimiento, y llegará al mercado acompañado por una prueba genética como requisito para su prescripción. ⁽¹⁶⁾

La situación cambia un poco para los fármacos que están actualmente en el mercado. En este caso uno puede considerar el desarrollo de una prueba diagnóstica de SNP que predecirá la seguridad o la eficacia de un compuesto cuyo uso no está

determinado por su toxicidad o falta de eficacia, permitiendo quitar el medicamento para aquellos que no responderán de manera adecuada. Esto podría tener una consecuencia de expansión significativa en el mercado para fármacos en problemas; ya que podrían incrementar la confianza del médico en prescribirlos sólo a los pacientes para los cuales son adecuados reduciendo la incidencia de toxicidad de dichos fármacos en "dificultad" por que podría incrementarse la confianza completa o total de los clínicos en la prescripción de un fármaco al paciente para quien es apropiado y podría incrementar de una manera insignificante la incidencia de toxicidad para el paciente.⁽¹⁴⁶⁾

Los SNP proveerán una nueva poderosa prueba para el análisis genético, facilitando los estudios básicos de población, enfermedades ligadas al descubrimiento de genes, diseño de fármacos y pruebas de identificación así como para iniciar estrategias preventivas. Los SNP podrán ser una técnica invaluable para identificación de mecanismos bacterianos de resistencia a los antibióticos. En los años próximos, los SNP podrán ser la llave para la cerradura de las bases genéticas de enfermedades complejas tales como cardiovasculares, neurológicas, autoinmunes, diabetes y desórdenes psiquiátricos. Estas enfermedades resultan de polimorfismos en más de un gen y de la interacción en múltiples genes y factores ambientales.

Cuando esté disponible un mapa detallado de los polimorfismos del genoma humano, los científicos podrán comparar modelos de SNP de DNA de individuos con o sin la enfermedad y enfocarse a los genes causantes de la enfermedad. Al identificar los efectos de las variaciones genéticas individuales, los médicos pueden prescribir un fármaco para aquellos pacientes que tienen más probabilidad de responder, así como también a los que son menos probables de experimentar toxicidad específica.⁽¹⁴⁵⁾

Una gran variedad de estrategias se han desarrollado para descubrir nuevos SNP y para determinar su prevalencia en la población. El campo de la farmacogenética implica genotipificación de poblaciones para identificar SNP que afectan metabolismo de los fármacos. La meta de la farmacogenómica es explotar todas las variaciones importantes de SNP para mejorar el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad.⁽¹⁴⁵⁾

III.7 APLICACIONES ACTUALES Y FUTURAS DE LA FARMACOGENÓMICA

III.7.1 LA FARMACOGENÓMICA EN LA PRACTICA CLINICA.

Desde una perspectiva clínica, existen beneficios obvios al individualizar la terapia de fármacos, sin embargo, existen varios aspectos que deben ser tomados en cuenta. ⁽⁷²⁾ Actualmente, las aplicaciones clínicas han comenzado a emerger de manera muy lenta, pese a la tecnología disponible. Por ejemplo, se ha desarrollado una prueba clínica para la enzima CYP2D6 que estará disponible en la consulta médica en probablemente los próximos años. ⁽¹⁴⁹⁾ Sin embargo, actualmente la genotipificación para enzimas sólo es utilizada en un número limitado de centros principalmente académicos; por ejemplo la genotipificación para la enzima CYP2D6 ayuda a seleccionar la dosis individual para fármacos que se usan en padecimientos psiquiátricos, ⁽¹⁵⁰⁾ la genotipificación para la tiopurina metiltransferasa para el tratamiento de niños con leucemia, ⁽¹⁵¹⁾ y los niveles de expresión del gen *HER-2* para la terapia de cáncer de mama. ⁽¹⁵²⁾ Un uso más común es la genotipificación del virus en lugar de individuos, para determinar si la cepa es resistente o no a determinado fármaco por ejemplo, la genotipificación del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) para prescribir un tratamiento adecuado. ^(153, 154)

En general, la práctica clínica en este momento no está preparada para beneficiarse de la revolución genética; de hecho muchos de los profesionales de la salud no han tenido formación farmacogenómica como parte de su entrenamiento formal. Desde una perspectiva social el efecto potencial de la información farmacogenómica será una función de la necesidad médica, de la utilidad clínica y de la facilidad de su uso. ⁽¹⁵⁵⁾

III.7.2 LA FARMACOGENÓMICA EN LA REDUCCION DE ADR

Uno de los usos potenciales de la farmacogenómica es la disminución de las reacciones adversas asociadas a la farmacoterapia. En la tabla 6 se resumen los criterios que pueden usarse para evaluar el impacto de la información farmacogenómica para lograr este objetivo.

En el futuro la farmacogenómica comprenderá dos aspectos básicos principales: (1) desarrollo de fármacos, y (2) análisis genético de los pacientes antes del tratamiento. Mientras que la primera meta será lograda por la cooperación entre la industria farmacéutica y laboratorios altamente especializados. El segundo objetivo deberá ser alcanzado por los laboratorios clínicos. ⁽¹⁵⁵⁾

Tabla 6. Criterios para evaluar el impacto potencial de la información farmacogenómica en la reducción de reacciones adversas a los fármacos (ADR). ⁽⁷²⁾

<p>NECESIDAD MÉDICA PREVALENCIA DE ADR CAUSADA POR UN FÁRMACO</p> <p>La incidencia de ADR y el uso de un fármaco es lo suficientemente importante para justificar el uso de la información genética.</p> <p>Prevalencia de metabolizadores pobres y variantes alélicas</p> <p>La prevalencia de metabolizadores pobres y/o variantes alélicas es lo suficientemente importante para justificar el uso de la información genética. Dependiendo de las consecuencias clínicas de la variación genética, aun una baja prevalencia podría justificar la intervención de bases genéticas.</p> <p>Pronóstico</p> <p>Las consecuencias de ADR asociadas son lo suficientemente severas para producir cambios significativos en la clínica, o en los puntos finales de la calidad de vida, o llevar a costos económicos importantes</p> <p>Monitoreo</p> <p>Los métodos actuales para monitorear respuestas terapéuticas o evaluar los efectos tóxicos son deficientes o no están disponibles.</p> <p>UTILIDAD CLÍNICA</p> <p>Asociación</p> <p>Existen suficientes evidencias para ligar las variantes alélicas a respuestas clínicas a los fármacos, y al pronóstico final del paciente (penetrancia génica). Más aún, el ensayo de tipificación es predictivo para una porción substancial de la población de pacientes, tomando en cuenta las variantes alélicas más prevalentes que contribuyen a la enfermedad</p> <p>Facilidad de uso</p> <p>Ensayo</p> <p>Un ensayo que sea rápido, relativamente económico, y confiable para detectar el alelo variante</p> <p>Clínicos</p> <p>Los clínicos serán capaces de interpretar los resultados y usar la información apropiadamente</p>
--

Aunque mucha de la información necesaria para aplicar la información farmacogenómica a la práctica clínica es actualmente desconocida, los resultados

muestran varios pasos que los clínicos deben de seguir cuando prescriben medicamentos con una gran incidencia de ADR (Tabla 7).

Tabla 7 Lista para evaluar el potencial de la farmacogenómica en la reducción de las reacciones adversas ADR. ⁽⁷²⁾

Revisar si el fármaco se metaboliza por una enzima que presente polimorfismo. Poner especial atención a la prevalencia de polimorfismos de alelos de importantes enzimas metabolizadoras de fármacos, en la población de pacientes que han sido tratados desde que predominan de considerables variaciones entre los grupos.

Si la variabilidad genética puede ser un problema significativo:

- Considerar fármacos alternativos que podrían no estar sujetos a un polimorfismo conocido de enzimas metabolizadoras de fármacos.
- Aconsejar al paciente de realizar un monitoreo cuidadoso de efectos adversos tempranos en la terapia.
- Estar consiente de problemas de ADR compuestos cuando se prescriben 2 o más fármacos concomitantes que interactúan con la misma enzima metabolizadora de fármacos.
- En algunas circunstancias (particularmente cuando el paciente tiene ADR y no medicación alternativa disponible, la genotipificación puede ser considerada un acierto al defecto de enzimas metabolizadoras de fármacos que son probablemente la causa de los ADR observados y permita la reducción de dosis apropiadas.

Tabla 8. Ejemplos de polimorfismo genéticos relevantes clínicamente que influyen en el metabolismo de fármacos y sus efectos. ⁽¹⁵⁶⁾

GENE	FARMACOTERAPIA	RESPUESTA CLINICA
ENZIMAS METABOLIZADORAS DE FARMACOS		
CYP2C9	Warfarina: anti coagulante	La dosificación en pacientes con el alelo R144C (reduce actividad catalítica reducida) es más baja al ser empleado como anticoagulante.
CYP2D6	Codeína: analgésico	Los pacientes con 2 alelos inactivos no metabolizan codeína a morfina y no obtienen efecto analgésico
TIOPURINA METILTRANSFERASA	Tiopurinas: leucemia, desórdenes autoinmunes	Los pacientes con 2 alelos inactivos pueden desarrollar toxicidad en la terapia con azatioprina
RECEPTORES PARA FARMACOS		
RECEPTOR β -2 ADRENERGICO	Albuterol: asma	Los pacientes homocigotos para mutaciones Gly17Arg sufren síntomas de exacerbación de asma con el uso regular de albuterol
ALOX-5 (5-LIPOXIGENASA)	Zileuton: asma	Los pacientes con dos alelos sin expresión de ALOX-5 no responden al inhibidor de 5-lipoxigenasa

III.7.3 LA FARMACOGENOMICA EN LA TERAPIA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Un ejemplo de la farmacogenómica es la búsqueda de fármacos para prevenir el deterioro de la función mental en los pacientes con enfermedad de Alzheimer, que es la causa más frecuente de demencia en la etapa adulta. En algunos pacientes con enfermedad de Alzheimer ligera a moderada el tratamiento con inhibidores de la colinesterasa puede aportar una mejoría modesta en los síntomas, en la estabilización temporal de la cognición o en la reducción de la velocidad de declinación cognitiva. Entre los inhibidores de colinesterasa que actualmente se utilizan en la práctica clínica están el donepezil, la rivastigmina, la galantamina y la tacrina. ⁽¹⁵⁷⁾ El clorhidrato de tacrina es un inhibidor reversible, selectivo y central de la enzima colinesterasa, diseñado para potenciar la acción colinérgica que se cree aumenta los niveles del neurotransmisor acetilcolina que se encuentra disminuido en los cerebros de los pacientes con Alzheimer. ⁽¹⁵⁸⁾ Numerosos ensayos clínicos con este fármaco

evidenciaron mejorías leves en un tercio de los pacientes con enfermedad leve a moderada versus placebo; debiendo utilizarse la dosis más alta tolerada por el paciente porque los beneficios se correlacionaban con la dosis. La dosis inicial es de 10 mg/6hr aumentando a 40 mg/día cada seis semanas hasta alcanzar la dosis máxima de 40mg/6hr. ⁽¹⁵⁹⁾ Sin embargo, en un segundo estudio se demostró que la respuesta a tacrina dependía del genotipo de la apolipoproteína E (Apo E). Existen 3 alelos denominados *APO E2*, *APO E3*, y *APO E4*, y se observó que los pacientes con el genotipo *Apo E4* presentan una respuesta pobre a la tacrina y con más efectos secundarios que los pacientes con los otros genotipos. Estos resultados apoyan el concepto de que el alelo *APO E4* puede ser un indicador pronóstico de la respuesta pobre a la terapia con inhibidores de la acetil colinesterasa en pacientes con enfermedad de Alzheimer. ⁽¹⁶⁰⁾

III.7.4 LA FARMACOGENÓMICA EN DEPRESIÓN

La farmacoterapia de las enfermedades neuropsiquiátricas entre ellas la depresión, ha reducido la morbilidad y ha mejorado el pronóstico de millones de pacientes en el mundo. La depresión mayor es extremadamente común, reportándose presente hasta en una sexta parte de la población mundial. ⁽¹⁶¹⁾ En el curso de la vida, el riesgo de desarrollar un episodio depresivo oscila entre 5-10% en la población general, con lo cual se coloca como la enfermedad mental más común. En las mujeres, esta cifra puede alcanzar hasta un 20%, además de que entre la fracción de la población que busca atención médica de manera temprana. La depresión es de 2 a 3 veces más frecuente en quienes cuentan con un familiar de primer grado afectado por la enfermedad. La probabilidad de cometer suicidio entre pacientes con depresión mayor tiene una incidencia de 25 a 30% y ocupa el 24° lugar mundial como causa de muerte, lo cual resalta la importancia de un diagnóstico y tratamiento oportuno. ⁽¹⁶²⁾

La depresión puede ser la expresión final de: (1) factores genéticos (disfunción de los neurotransmisores, (2) problemas en el desarrollo (defectos en la personalidad, eventos en la infancia) o, (3) estresantes psicosociales (divorcio, desempleo). Las manifestaciones clínicas pueden ser muy variables, sin embargo, frecuentemente incluyen anhedonia, retracción de actividades usuales y sentimientos de culpa. Además se puede presentar inhabilidad para concentrarse, disfunciones cognitivas, ansiedad, fatiga crónica, pérdida de la libido y pensamientos de muerte. La variación diurna con

mejoría conforme pasa el día suele ser común y se acompaña frecuentemente con signos vegetativos como el insomnio, anorexia, pérdida de peso y constipación. En casos con menor incidencia se pueden presentar agitación severa ideaciones psicóticas y síntomas paranoides. ⁽¹⁶²⁾

En los últimos años, se ha recolectado una gran cantidad de evidencia que comprueba la eficacia de la terapia farmacológica en la depresión. Desde el advenimiento del primer antidepresivo hace 40 años, la imipramina, el desarrollo de fármacos para el tratamiento de esta enfermedad ha dado como resultado un total de 32 fármacos actualmente en uso alrededor del mundo. Se estima que la enzima CYP2D6 metaboliza aproximadamente 25% de los fármacos que están actualmente en el mercado, incluyendo antiarrítmicos, bloqueadores de receptores beta – adrenérgicos, neurolépticos y antidepresivos. En la tabla 9 se muestran los principales fármacos antidepresivos metabolizados por la CYP2D6. ⁽¹⁶³⁾

Tabla 9. Principales antidepresivos metabolizados por el CYP2D6. ⁽¹⁶²⁾

Tricíclicos - Policíclicos	Amiflamina Amitripilina Brofaromina Clomipramina Desipramina Imipramina Maprotilina Nortripilina
Inhibidores de la recaptura de serotonina	Fluoxetina Fluvoxetina Ifloxtina Paroxetina Venlafaxina

Los fármacos antidepresivos siguen siendo la base para la terapia de la depresión y generalmente son recetados junto con algún tipo de psicoterapia de apoyo, ya que en los últimos años se ha acumulado la evidencia suficiente que indica que la suma de estos dos tipos de terapias da mejores resultados que cualquiera de las dos solas. ⁽¹⁶²⁾

Sin embargo, los médicos involucrados en el tratamiento de pacientes deprimidos de enfrentan con al menos dos dificultades: (i) 30- 40% de los pacientes no responden de manera suficiente al tratamiento inicial y (ii) puede tomar hasta 6 semanas para que se compruebe que dicha terapia no es efectiva. La mayoría de pacientes que no responden se encuentran internados en instituciones psiquiátricas, lo

cual se correlaciona con alta incidencia de PM y UM que se han detectado en estas clínicas ⁽²⁷³⁾. Por lo tanto, sería deseable el poder identificarlos antes de transcurrido un gran periodo de tiempo de ensayos y errores. Una prueba que pudiera identificar a tales pacientes podría tener un enorme impacto en la reducción de costos relacionados a la salud.

El efecto económico de la depresión es substancial ya que los costos involucran no sólo el tratamiento, tanto farmacológico como psicológico, sino también los gastos generados alrededor de episodios, suicidas y faltas laborales. Además, los pacientes deprimidos tienden a buscar atención médica más frecuentemente que la población general. A esto se le puede añadir la reciente asociación entre depresión y la mayor incidencia en la morbi- mortalidad de estos pacientes cuando se comparan con personas sin depresión y con problemas médicos concomitantes. ⁽¹⁶⁴⁾

Las variaciones interindividuales en los niveles séricos de los antidepresivos para una dosis determinada pueden ser sustanciales y probablemente explicables por las diferencias individuales en la actividad de las enzimas metabolizadoras. Clínicamente, estas diferencias se aprecian mediante el grado de respuesta favorable y la existencia de efectos adversos. Si se conociera el nivel sérico terapéutico para cada uno de los fármacos, la dosis de ese medicamento sería ajustada para cada paciente con el objetivo de alcanzar una respuesta con un mínimo de efectos adversos. Un informe reciente evalúa la literatura de estudios que comparan los parámetros farmacocinéticos de 32 antidepresivos entre sujetos PM, EM y UM. Los datos mostraron que para 14 antidepresivos las dosis recomendadas fueron diferentes de acuerdo a la capacidad metabólica de estos individuos, alcanzando una reducción del 50% en los antidepresivos tricíclicos administrados a metabolizadores pobres. ⁽¹⁶⁴⁾

III.7.5 LA FARMACOGENOMICA EN ENFERMEDADES NEUROPSIQUIATRICAS

La introducción de clorpromazina, en 1952, marcó el nacimiento de la psicofarmacología. Desde entonces, un gran número de fármacos psicotròpicos se han usado para el tratamiento de varias enfermedades psiquiátricas. Sin embargo, a pesar de que los tratamientos son efectivos en la mayoría de los padecimientos psiquiátricos, la optimización del tratamiento en cada paciente se basa en el paradigma ensayo-error. La

experiencia clínica ha mostrado que la utilidad de estos fármacos varía entre los individuos, así como los efectos colaterales que producen. ⁽¹⁶⁵⁾

Por otro lado, se ha descrito que en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson idiopática intervienen tanto factores genéticos como ambientales, constituyendo un caso claro de ecogenética. De hecho, estudios experimentales indican que el 1-metil-4-fenil-1,2,2,6-tetrahidropiridina (MPTP), una neurotoxina que induce la muerte de células nigroestriales y produce síndrome parkinsoniano en animales, es tanto un sustrato como un inhibidor competitivo de la enzima CYP2D6. Se ha sugerido una asociación entre el alelo mutante *CYP2D6B* y la enfermedad de Parkinson ya que resulta en un fenotipo PM. Algunos estudios muestran un riesgo de 2 -2.5 veces mayor de los individuos con el fenotipo PM para desarrollar enfermedad de Parkinson; ⁽⁹⁰⁾ sin embargo, otros estudios no encuentran esta asociación, existiendo una gran controversia al respecto. ⁽¹⁶⁶⁾

III.7.6 LA FARMACOGENOMICA EN LA CARDIOLOGÍA

Existen pocos fármacos antiaritmicos que actualmente son prescritos de forma rutinaria para enfermedades como el síndrome de QT largo. Este es un síndrome raro, en el cual el individuo presenta una lenta repolarización en el miocardio después de la depolarización, debido a mutaciones en los canales iónicos del corazón, particularmente canales de sodio y potasio. A la fecha 6 genes, designados *LQT1* - *LQT6*, han sido identificados y localizados cromosómicamente. ⁽¹⁶⁷⁾ Desde el punto de vista genético, los pacientes usualmente tienen una mutación *LQT2* que codifica para un canal de potasio o una mutación *LQT3* que codifica un canal de sodio. El curso clínico de la enfermedad, el nivel de agresividad de la terapia y el tipo de terapia (bloqueador de Na⁺ versus bloqueador de canal de K⁺ versus β bloqueador) están determinados por la etiología genética del síndrome. Por ejemplo, la administración de potasio o de compuestos que abren los canales de potasio puede ser útil en la farmacoterapia de pacientes con defectos en los canales de potasio, (*LQT1*); mientras que los bloqueadores de canales de sodio, como mexiliteno, pueden ser más efectivos en pacientes con mutaciones *LQT3*. ⁽¹⁶⁸⁾ En este caso, la farmacogenética puede identificar blancos para el desarrollo farmacéutico. Actualmente los pacientes son

tratados con numerosos fármacos no- cardíacos que retrasan la repolarización cardíaca. Estos incluyen antibióticos, neurolépticos, antidepresivos y antihistaminicos. Entre las enzimas metabolizadoras de fármacos, se observa que la CYP 2D6 es responsable del metabolismo de un gran número de fármacos cardíacos como β - bloqueadores. Los β - bloqueadores son ampliamente usados para el tratamiento tanto de hipertensión como en alteraciones cardíacas. Los metabolizadores pobres pueden tener de 2 a 3 veces más alto el nivel de concentración en plasma y un alto rango de mareos, esto se observa como algo irrelevante durante el desarrollo del fármaco. ⁽¹⁶⁹⁾

Otro ejemplo importante es el metabolismo de la S- warfarina a metabolitos inactivos mediante la actividad del CYP 2C9. Se han identificado 3 variantes alélicas de esta enzima: CYP 2C9*1, CYP 2C9*2, CYP 2C9*3, los alelos 2 y 3 difieren del alelo normal 1, por la sustitución de los aminoácidos Arg 144 Cys e Ile 359 Leu, respectivamente. Ambas variantes alélicas resultan en una disminución en la actividad enzimática y por lo tanto, metabolizan a la warfarina a una velocidad más lenta. Clínicamente estas 2 mutaciones han demostrado ser la causa del incremento de susceptibilidad a la warfarina, manifestándose por los requerimientos de bajas dosis, así como un incremento en las complicaciones hemorrágicas durante el tratamiento. ⁽⁹⁴⁾

Se ha descrito que pacientes heterocigotos, tanto para CYP 2C9*2 como para CYP 2C9*3, requieren menos dosis de warfarina para mantener la anticoagulación y fueron más susceptibles que los controles a sufrir complicaciones al inicio de la terapia ⁽⁴⁾. Recientemente se informó de la dificultad para alcanzar una terapia con warfarina efectiva en un paciente homocigoto para el alelo CYP 2C9*3. ⁽¹⁷⁰⁾

III.7.7 LA FARMACOGENOMICA EN LA TERAPIA ANTINEOPLASICA

Un ejemplo de la aplicación farmacogenómica en oncología fue el fracaso del desarrollo de un fármaco que fue el resultado de los ensayos clínicos del amonafide. Este es un agente intercalante del DNA e inhibidor de la topoisomerasa II, que mostró actividad para el cáncer de mama y la leucemia. ⁽¹⁵²⁾

El metabolismo de este fármaco implica la N-acetilación a N-acetilamonafide, mediante la actividad de la NAT2. Debido a la acetilación polimórfica del amonafide el ensayo clínico incluyó la fenotipificación de los pacientes con cáncer utilizando cafeína. Los resultados mostraron que los acetiladores rápidos mostraban una mayor mielosupresión que los lentos. Esto parecía inusual si se comparaba con otros fármacos

metabolizados por N-acetilación, para los que los acetiladores lentos presentan más reacciones adversas. Se observó que esta conducta del amonafide se debía a la inhibición de la oxidación del amonafide por la N-acetilamonafide, ya que el amonafide es sustrato para la CYP1A2 y la oxidación del amonafide se inhibe por su metabolito acetilado. De acuerdo al genotipo acetilador, el ensayo fase I de amonafide recomendó dosis de 250 y 375 mg/m² para los acetiladores rápidos y lentos respectivamente. La alta toxicidad del amonafide lo eliminó del desarrollo clínico, sin embargo, su experiencia permanece como un ejemplo de la farmacogenética para desarrollar estrategias genotípicas en la quimioterapia del cáncer. (171, 172)

Otra aplicación potencial de la farmacogenómica reside en el diseño estratégico de los diseños clínicos para aumentar la información obtenida de cada estudio. La identificación de poblaciones que potencialmente respondan a un fármaco a través de pruebas genéticas antes del ensayo clínico, permitiría demostrar la eficiencia terapéutica en un pequeño número de individuos. Esta estrategia fue relevante para el fármaco trastuzumal (Herceptin), un anticuerpo monoclonal para el tratamiento de estados avanzados de cáncer de mama, ya que sólo las pacientes con células tumorales que sobre - expresarán el gen *HER-2* se beneficiarán de este fármaco; por lo tanto, las pacientes deben ser investigadas para este marcador antes de recibir este tratamiento (173)

El mesilato de imatiniba (Gleevec™) ejemplifica el desarrollo exitoso de una terapia diseñada racionalmente para un blanco molecular en el tratamiento de un cáncer específico. El descubrimiento del cromosoma Filadelfia (174) en pacientes con leucemia mielógena crónica reveló la patogenéesis molecular de esta enfermedad. Posteriormente se demostró que este cromosoma anormal era producto de la translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, t(9:22)(q34, q11). (174, 175)

La proteína bcr - abl tiene un peso molecular de 210Kda y se observa en el 95% de los pacientes con leucemia mielógena crónica. Esta proteína tiene actividad de tirocinasa por lo que activa vías de transducción de señales y resulta en las propiedades proliferativas adhesivas y de supervivencia de las células con este tipo de leucemia. Este conocimiento permitió diseñar un inhibidor específico de la proteína Bcr - Abl analizando la relación estructura - actividad de varios compuestos con actividad inhibidora de cinasas. De los compuestos generados en este protocolo, el ST1571, conocido como Gleevec™ surgió como la mejor alternativa. (176) La FDA aprobó el

Gleevec bajo el programa de *fármacos huérfanos de la FDA*. Este fármaco estuvo disponible para pacientes con leucemia mieloide crónica a partir de Mayo del 2001, y actualmente se encuentra en fase III. ^(177, 178)

III.7.8 LA FARMACOGENOMICA EN LA TERAPIA DE ASMA

EL asma es el padecimiento atópico más severo y se ha vuelto epidémico, afectando más de 55 millones de individuos en países desarrollados. Es la enfermedad infantil crónica más común y tiene un costo económico, directo e indirecto muy elevado. ⁽¹⁷⁹⁾

Se han desarrollado varios tratamientos farmacológicos para el asma, los cuales tienen una eficacia general modesta que es en parte debida a la respuesta individual variable a los fármacos contra el asma. Debido a esta variabilidad es obvio que una parte de los recursos sustanciales que se gastan en la medicación del asma (estimados en 3 billones de dólares anuales en Estados Unidos) sería mejor invertida en detectar aquellos pacientes que serían beneficiados. ⁽¹⁸⁰⁾

Se han estudiado las variaciones polimórficas de algunos blancos terapéuticos del asma los cuales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 10. Selección de genes en los cuales la variación polimórfica podría contribuir en la variabilidad en la respuesta en asma. ⁽¹³⁸⁾

GENE	LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA	RESPUESTA AFECTADA AL TRATAMIENTO POTENCIAL
β 2- adrenoceptor (ADBR2)	5q31.32	β 2- agonistas (eg. Salbutamol, salmeterol).
5-LOX (ALOX5)	10q11.12	Inhibidores 5-LOX (e.g. Zileuton). CysLT. antagonistas (e.g. zafirlukast).
Receptor M ₂ (CHRM2)	7q35.36	Antagonistas muscarínicos (e.g. Bromuro de ipratropium)
Receptor M ₃ (CHRM3)	1q43.44	Antagonistas muscarínicos (e.g. Bromuro de ipratropium)
GR (GRL)	5q31	Glucocorticoides (e.g. prednisona, beclometasona)
PDE ₄ A (PDE4A)	19p13.2	Teofilina
PDE ₄ D (PDE4D)	5q12	Teofilina
CYP450	varios	Montelukast, salmeterol, budesonide, teofilina.

Los fármacos empleados en el tratamiento del asma que interfieren específicamente con la vía de la 5 lipoxigenasa ALOX-5 proveen un método para identificar aquellos pacientes en los que los productos de la vía ALOX-5 (es decir, los leucotrienos) contribuyen a la expresión del fenotipo asmático. El fracaso de un paciente con asma para responder al tratamiento con modificadores de la vía ALOX-5 indica que los leucotrienos no son críticos en la expresión del fenotipo asmático de ese individuo. ⁽¹³⁹⁾

III.8 LA INDUSTRIA FARMACEUTICA EN LA ERA GENOMICA

III.8.1 INDUSTRIA FARMACEUTICA

La aplicación más significativa para el análisis de la variación genética es contribuir con información que ayude a identificar los blancos terapéuticos, y subsecuentemente a los compuestos, que puedan trasladar su potencial teórico a un éxito práctico. El periodo de tiempo desde la identificación temprana de una molécula terapéutica potencialmente importante hasta el lanzamiento de un nuevo compuesto al mercado es lento, y tarda alrededor de unos 10 años. Es un trabajo arduo con fracaso del 98%, y extremadamente costoso: el costo promedio estimado es de 500 millones de dólares para cada compuesto lanzado al mercado. Por lo tanto, el desafío para la industria farmacéutica es identificar el potencial de un compuesto tan rápido como le sea posible.

Existen dos caminos principales en los cuales el análisis de la variación genética puede asistir en el proceso de selección del descubrimiento de un fármaco: (1) Caracterización del blanco y (2) validación del blanco. ⁽¹⁸⁴⁾

III.8.2 DESCUBRIMIENTO Y DESARROLLO DE FARMACOS

Es bien sabido que algunos de los fármacos más efectivos que actualmente están en el mercado se desarrollaron como resultado de la identificación de un compuesto con actividad terapéutica. El tratamiento eficaz de muchas enfermedades se debe en gran parte al éxito de esta estrategia y los beneficios de muchas compañías farmacéuticas se han consolidado sobre estas bases. Sin embargo, el uso de la genética para identificar los defectos moleculares responsables de una enfermedad ha conducido a un cambio cuántico en el descubrimiento de fármacos. ⁽¹⁸⁴⁾ La investigación de fármacos, área manejada principalmente por la química pero cada vez más guiada por la farmacología y por las ciencias clínicas, ha contribuido más al progreso de la medicina durante el siglo pasado que cualquier otro factor científico. La química, la farmacología, la microbiología y la bioquímica han ayudado a dar forma al descubrimiento de fármacos y a conferirle un nivel donde los fármacos nuevos no son solamente generados por la imaginación de los químicos, si no que resultan del diálogo entre químicos y biólogos. Este diálogo basado en mecanismos bioquímicos de acción,

se origina del entendimiento de la estructura y función biológicas resultando en la creación de estructuras químicas novedosas. ⁽¹⁸⁵⁾ Recientemente el advenimiento de la biología molecular y, en particular de las ciencias genómicas, está teniendo un impacto profundo en el descubrimiento de fármacos permitiendo que el concepto de la información genética sea manejado dentro de un aspecto bioquímico y químico muy concreto. Un análisis realizado en 1996 de los blancos en los que se basa la farmacoterapia demostró que los fármacos actuales sólo están dirigidos hacia aproximadamente 500 blancos moleculares. De acuerdo a este estudio, los receptores de membrana celular, en su mayoría receptores heterotriméricos acoplados a proteínas de unión a GTP (proteínas G), constituyen el mayor subgrupo con un 45% de todos los blancos; mientras que las enzimas y las hormonas comprenden 28% y 11%, respectivamente. ⁽¹⁸⁵⁾ En la figura 8 se muestra la proporción de los principales tipos de blancos bioquímicos a los que están dirigidos los fármacos actuales.

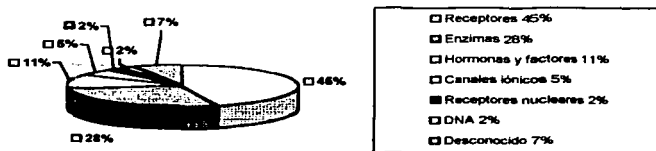


Fig. 8 Proporción de los principales tipos de blancos bioquímicos a los que están dirigidos los fármacos de las terapias actuales. ⁽¹⁸⁵⁾

Tanto la industria farmacéutica como la biotecnológica están llevando a cabo inversiones substanciales para utilizar estrategias genómicas en el descubrimiento de nuevos blancos terapéuticos. Se espera que en la próxima década el Proyecto de Genoma Humano, acoplado con nuevas tecnologías moleculares, permita la elucidación rápida de componentes genéticos complejos de la salud y enfermedad humanas. Los polimorfismos comunes en blancos terapéuticos determinan qué variantes en la secuencia de DNA deben ser tomados en cuenta para el desarrollo de

nuevos fármacos. Esto proveerá nuevos conocimientos para el desarrollo de medicamentos dirigidos a vías críticas en la patogénesis de la enfermedad, así como a medicamentos que puedan ser usados para prevenir padecimientos en individuos genéticamente predispuestos a ellos. ⁽¹⁶⁹⁾ El genoma humano contiene de 12,000 a 14,000 genes que codifican para proteínas secretadas. Aunque sólo 1-2% de estas proteínas califiquen como fármacos, habría entre 120 y 280 nuevas proteínas terapéuticas, la mayoría de las cuales no han sido descubiertas ni desarrolladas. Estos números por supuesto no incluyen anticuerpos monoclonales, los cuales hoy en día son producidos por otras rutas diferentes. ⁽¹⁸⁵⁾

La industrialización del proceso gen - fármaco es esencial si se quiere capitalizar la colección de nuevos fármacos conferidos por la genómica. Debido al número de blancos posibles, será necesario identificar familias de clases de proteínas funcionales, por ejemplo (hidrolasas y quinasas) como blancos para el diseño de fármacos. Esto tiene la ventaja de crear estrategias clínicas que son apropiadas para una familia particular y, además, ayuda en el aspecto importante de la selectividad. ⁽¹⁸⁶⁾

La farmacogenómica no sólo tiene un gran potencial para facilitar el proceso de descubrimiento de fármacos sino también el estudio clínico subsecuente. En 1997 la agencia para la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) aprobó una guía para las pruebas farmacogenéticas en la industria durante el proceso de desarrollo de fármacos. El entendimiento de cómo ajustar la dosis para minimizar la toxicidad puede permitir la salida de un fármaco al mercado, que de otra manera hubiera sido inaceptable por los efectos adversos debidos a que su toxicidad fuera impredecible e imprevisible si no se contara con herramientas farmacogenómicas. La identificación de diferencias metabólicas en grupos de pacientes basados en polimorfismos genéticos aportaría mejoras en las recomendaciones del tratamiento y en el etiquetado del producto promoviendo el uso seguro y efectivo de un fármaco. ⁽¹⁸⁷⁾

La definición genética y el análisis funcional de miles de blancos para fármacos incluirán inevitablemente la descripción de varios alelos de un blanco en particular encontrado en diferentes poblaciones humanas. Estos isogenes son la causa más probable de las variaciones en la respuesta a los fármacos. Por lo tanto, la selección

de blancos para fármacos también dependerá de datos epidemiológicos. Obviamente, los factores económicos obligarán al uso de tales datos no sólo como llaves para la "terapia individualizada", si no tal vez más importantemente, para identificar aquellos blancos que permitan un abordaje más amplio en el tratamiento de una enfermedad en particular. ⁽¹⁸⁵⁾ La influencia de la farmacogenómica en el diseño y desarrollo de fármacos, así como en los ensayos clínicos se resume a continuación:

DESCUBRIMIENTO

- *Aumentar la velocidad del descubrimiento de nuevos blancos para fármacos moleculares.
- *Permitir predecir los efectos terapéuticos dentro de una población en particular
- *Definir los efectos colaterales potenciales de los fármacos.
- *Expandir el número de blancos para fármacos y los fármacos candidatos.
- *Permitir el rescate de fármacos candidatos que fueron suspendidos y que presentan eficacia pero también presentan efectos indeseables. ⁽¹⁸⁵⁾

EJECUCION

- *Mejorar el proceso de consentimiento y divulgación de la información genética.
- *Crear bases de datos de los pacientes con susceptibilidad genética a enfermedades.
- *Estratificar los ensayos clínicos de los pacientes dentro de dos grupos, los que responden y los que no responden a una terapia.
- *Asociar las pruebas diagnósticas con una prescripción exacta de fármacos candidatos. ⁽¹⁸⁵⁾

PROCESAMIENTO

- *Eliminar los grupos de alto riesgo que podrían no responder a la terapia de fármacos candidatos.
- *Eliminar gastos de escrutinio para los efectos tóxicos colaterales.
- *Aumentar la seguridad y la eficacia de terapias con fármacos candidatas. ⁽¹⁸⁵⁾

CUIDADO DEL PACIENTE

- *Reducir los tiempos y los costos para que un nuevo fármaco salga al mercado a través de ensayos clínicos.
- *Asegurar que los pacientes reciban el diagnóstico y la prescripción de los fármacos más precisos.
- *Implementar la farmacogenómica dentro de la práctica clínica de cada día. ⁽¹⁸⁾

III.9 NUEVAS TECNICAS PARA EL ESTUDIO DEL GENOMA HUMANO

III.9.1 GENOMICA FUNCIONAL

Si la genómica estructural es la rama de la genómica orientada a la caracterización y localización de las secuencias que conforman el DNA de los genes, la genómica funcional consiste en la recolección sistemática de la información sobre la función de los genes, mediante la aplicación de aproximaciones experimentales globales que evalúen la función de los genes haciendo uso de la información y elementos de la genómica estructural. La genómica funcional se caracteriza por la combinación de metodologías experimentales a gran escala con estudios computacionales de los resultados. El objetivo es llenar el hueco existente entre el conocimiento de las secuencias de un gen y su función, para de esta manera elucidar el comportamiento de los sistemas biológicos. Se trata de expandir el alcance de la investigación biológica desde el estudio de los genes individuales al estudio de todos los genes de una célula al mismo tiempo en un momento determinado. ⁽¹⁸⁸⁾

El proteoma se puede definir como el conjunto de proteínas expresadas por un genoma. La proteómica es el estudio de los proteomas, así como la genómica consiste en el estudio de los genomas. Configura una disciplina fundamental de la era posgenómica que trata de descubrir la constelación de proteínas que otorgan a las células su estructura y función. Distintas tecnologías (robótica, electroforesis 2D, espectrometría de masas, chips, microarreglos, bioinformática) permiten obtener y comparar "imágenes" de las proteínas que se están expresando en un momento determinado en una célula. ⁽¹⁸⁹⁾

III.9.2 CHIPS O MICROARREGLOS DE DNA

A finales de los años ochentas, la tecnología que desembocaría en la plataforma Gene Chip fue desarrollada por cuatro científicos en Affymax (Palo Alto, California): Stephen Fodor, Michael Pirrung, Leighton Read y Lubert Stryer. El proyecto general estaba destinado a la construcción de péptidos sobre chips, pero desembocó en la capacidad para construir secuencias de DNA sobre *chips*. La aplicación práctica de esta

idea se llevó a cabo por la empresa Affymetrix, que comenzó a actuar como una compañía independiente en el año de 1993.

Los *biochips*, por tanto, surgieron de la combinación de las técnicas microelectrónicas y el empleo de materiales biológicos. Se basan en la ultraminiaturización y paralelismo implícito y se concentran en chips de material biológico de alta densidad de integración, válido para realizar distintos tipos de estudios repetitivos con muestras biológicas simples. Si en los *microchips* empleados en las computadoras se consigue una alta densidad de integración de circuitos electrónicos en una oblea de silicio, en los biochips se logra una alta densidad de integración de material genético en una oblea de cristal, silicio o plástico. Los *biochips* están divididos en unas pequeñas casillas o celdas que actúan cada una a modo de un tubo de ensayo en el que se produce una reacción. El número de estas celdas es muy elevado, llegando incluso a los centenares de miles. ⁽¹⁹⁰⁾

Cada casilla del *biochip* posee una cadena de un oligonucleótido, que puede corresponder a una sección del gen de estudio (cuando se conoce su secuencia) o a mutaciones del mismo. Debido a la extrema miniaturización del sistema se pueden analizar en un único *chip* todas las posibilidades de mutación de un gen simultáneamente. Sólo aquellos fragmentos de DNA que hibriden permanecerán unidos tras los lavados y dado que se conocen las secuencias y posiciones de los oligonucleótidos empleados, después de los lavados se produce el revelado que consiste en introducir el *chip* en un escáner óptico que va a ser capaz de localizar, mediante un proceso similar a la microscopía confocal, las cadenas de DNA marcadas con el fluorocromo. (Fig.9) Una computadora analiza la información procedente del escáner y ofrece el resultado. ⁽¹⁹⁰⁾

Otro tipo de diseño permite la cuantificación de la expresión de múltiples genes simultáneamente. Una de las principales aplicaciones es la comparación de la abundancia de RNAm en dos muestras diferentes o en una muestra y un control. Para ello, se extrae el RNAm de las células de la muestra y el control y se marcan con dos fluorocromos diferentes, por ejemplo rojo para RNA de la muestra y verde para el del control. Ambos extractos se colocan sobre el microarreglo de DNA para permitir que hibriden con las secuencias complementarias dispuestas en las casillas del *chip* de DNA. Después de un paso de lavado, el microarreglo se excita con la luz de un láser. Si el RNA de la muestra es más abundante que el del control la casilla se verá roja, y en

caso contrario se verá verde. Si los RNA de la muestra y del control se unen equitativamente la casilla será amarilla mientras que si ninguno se une la casilla no fluorescerá y aparecerá negra. De esta manera a partir de las intensidades de la fluorescencia y los colores de cada casilla se puede estimar los niveles de expresión relativa de los genes en la muestra y en el control. ⁽¹⁹¹⁾ La potencia de estos sistemas trae consigo la obtención, en tiempos muy breves, de grandes volúmenes de información, (secuencias, mutaciones, datos de expresión génica, determinaciones analíticas de interés clínico, análisis con fármacos) que necesitan ser abordados con técnicas bioinformáticas para extraer conocimiento de utilidad en la investigación biomédica. La nomenclatura empleada para referirse a las nuevas tecnologías es diversa y comienza por el término más general que es el de "biochip" y hace referencia al empleo de materiales biológicos sobre un chip. Otros términos más específicos son: "chip de DNA", "chip de RNA" (según el material empleado) y "chip de oligonucleótido" o "microarreglo de DNA", que hacen referencia al material y a la forma en que se construye el chip. Un microarreglo es básicamente una colección de fragmentos de DNA o de genes de secuencia conocida unidos covalentemente sobre una superficie que con frecuencia, suele ser la de un portaobjetos. La revista *Science* destaca esta tecnología como uno de los 10 avances científicos más significativos del año 1998. ⁽¹⁹²⁾

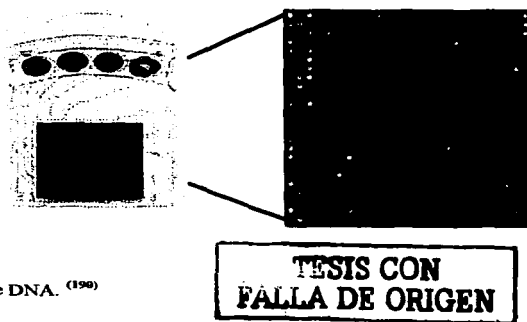


Fig. 9 Chip de DNA. ⁽¹⁹⁰⁾

III.93 BIOINFORMATICA

La bioinformática se encuentra en la intersección entre las ciencias de la vida y de la información, proporcionando las herramientas y recursos necesarios para favorecer la investigación biomédica. Este campo interdisciplinario comprende la investigación y desarrollo de sistemas útiles para llegar a entender el flujo de información desde los genes a las estructuras moleculares, a su función bioquímica, a su conducta biológica, y finalmente, a su influencia en las enfermedades y en la salud. (193)

Los estímulos principales para el desarrollo de esta disciplina han sido el enorme volumen de datos sobre secuencias genómicas generados por distintos proyectos genomas (humano y otros organismos), los nuevos enfoques experimentales basados en *biochips* que permiten obtener datos genéticos a gran velocidad, bien de genomas individuales (polimorfismos, mutaciones), bien de enfoque celulares (expresión génica) y el desarrollo de Internet y el WWW, que permiten el acceso universal a las bases de datos de información biológica. (193)

La existencia de congresos específicos, sociedades científicas, unidades en empresas, centros académicos y del gobierno, empresas dedicadas a prestar servicios en bioinformática, programas de información en universidades (Oxford, George Mason, Manchester, Pennsylvania, Rutgers, Standford, Washington- San Luis, CMU, Pittsburgh, Australian National Univ; Pune -India, Dublin, Bergen -Noruega, Johns Hopkins, entre otras), revistas (*Bioinformatics*, "*In Silico Biology*", *Trends Guide to Bioinformatics*, *Journal of Computational Biology*, entre otras) líneas propias de investigación y áreas particulares en convocatorias de proyectos muestran el grado de desarrollo alcanzado por esta disciplina. (194)

En los últimos años, la bioinformática ha trabajado con muchas bases de datos que almacenaban información biológica a medida que iba apareciendo. Esto no sólo ha tenido efectos positivos: muchos científicos se quejan de la creciente complejidad que representa encontrar información útil en este "laberinto de datos". Para mejorar esta situación, se desarrollan técnicas que integran la información dispersa, gestionan bases de datos distribuidas, las seleccionan automáticamente, evalúan su calidad, y facilitan su accesibilidad para los investigadores. (195)

III.10 IMPLICACIONES ÉTICAS, LEGALES Y SOCIALES DE LA FARMACOGENÓMICA

III.10.1 EL PROGRAMA ELSI

Para llevar a cabo los aspectos éticos, legales y sociales derivados del Proyecto del Genoma Humano, se creó el programa ELSI (por sus siglas en inglés *Ethical, Legal and Social Issues*) cuyas bases son:

- * Reconocimiento de que el genoma humano es parte del legado común del humano.
- * Adhesión a las formas internacionales de derechos humanos.
- * Respeto a los valores, las tradiciones, la cultura y la integridad de los participantes.
- * Aceptación y preservación de la dignidad y libertad humanas. ⁽¹⁹⁶⁾

Desde el inicio el PGH ha dedicado fondos para atender los aspectos éticos, legales y sociales. Los principales ejemplos de estos aspectos se resumen a continuación:

- * Privacidad y confidencialidad de la información genética por compañías aseguradoras, empleadores, juzgados, escuelas, agencias de adopción, y organismos militares, entre otros.
- * Impacto psicológico y estigmatización debido a las diferencias genéticas individuales.
- * Preparación adecuada de los trabajadores de la salud y de la sociedad sobre el uso de pruebas genéticas, capacidades, limitaciones y riesgos sociales.
- * Aplicación del conocimiento del genoma para dar asesoramiento genético adecuado en los casos de diagnóstico predictivo para enfermedades monogénicas y de susceptibilidad para un determinado padecimiento complejo.
- * Uso de la información genética en la toma de decisiones reproductivas y en el derecho reproductivo.
- * Implicaciones filosóficas y conceptuales con respecto a la responsabilidad humana, voluntad individual Vs. determinismo genético.
- * Aspectos ambientales y de la salud con respecto al uso de organismos transgénicos y su seguridad para los humanos y el ambiente.

* **Comercialización de productos con secuencias de DNA patentadas.** ⁽¹⁹⁶⁾

Las aplicaciones clínicas del conocimiento genético requieren pruebas del DNA de pacientes para identificar enfermedades relacionadas con mutaciones u otros polimorfismos que tienen relevancia clínica. Sin embargo, estos exámenes, plantean cuestiones éticas, legales y sociales que requieren atención especial para obtener beneficios derivados del conocimiento genómico. La mayoría de los éticos opinan que las pruebas genéticas para diagnosticar enfermedades de inicio tardío, como pruebas de susceptibilidad, presintomáticas y de portadores, deben realizarse después de que la persona examinada ha dado consentimiento informado de los riesgos y beneficios de la prueba, y habiendo recibido el consejo genético apropiado para esa prueba. ⁽¹⁹⁷⁾ Este consenso ético surge de la importancia y comprensión de la información resultante, y de la dificultad que constantemente tienen las personas para entender la naturaleza probabilística del resultado de las pruebas. Una persona con conocimiento de las variaciones en su genotipo puede cambiar radicalmente su imagen, su vida y sus planes reproductivos. Además, si otras personas estuvieran al tanto de esta información, podrían estigmatizar a la persona, y utilizar la información adversamente en los seguros y en las decisiones de trabajo. ⁽¹⁹⁸⁾

Por otro lado, si la farmacogenética se va a convertir en una prueba efectiva para la práctica clínica, también requerirá pruebas genéticas de los individuos. Aunque algunas pruebas farmacogenéticas identifiquen enfermedades por mutaciones, la mayoría de las pruebas farmacogenómicas identificarán polimorfismos de nucleótido sencillo (SNP) en un individuo que puedan compararse con perfiles de SNP conocidos para la respuesta a los fármacos o susceptibilidad a enfermedades. Se ha sugerido que estas pruebas son diferentes de otras pruebas genéticas ya que su intención no es determinar o predecir riesgos de una enfermedad. Por consiguiente, no deberían estar sujetas al mismo consentimiento informado, consejo genético y requerimientos regulatorios que se aplican a las pruebas para enfermedades por mutaciones. Ciertamente, aplicando esos estándares para las pruebas farmacogenéticas se podría bloquear la integración de la farmacogenética dentro de la práctica clínica, privando así a los pacientes y al sistema de cuidado de la salud de los grandes beneficios potenciales que las pruebas farmacogenómicas harían posible. ⁽¹⁹⁹⁾

El desarrollo de pautas políticas y estándares legales no ha guardado el paso con el rápido progreso científico. Los farmacólogos clínicos necesitan estar conscientes

de la legislación pertinente y de los canales legislativos en su jurisdicción, y ser más vigilantes del desarrollo de políticas éticas y legales. Con el desarrollo más eficiente y métodos menos caros para la genotipificación, la industria farmacéutica está dirigiendo más sus esfuerzos de investigación y desarrollo R&D (*Research and Development*) hacia la farmacogenómica clínica, la cual tiene probablemente efectos significativos en la estructura económica del proceso completo R&D. Por un lado, la farmacogenómica generará oportunidades para el desarrollo y uso de fármacos personalizados, y permitirá la reintroducción de viejos fármacos que son efectivos en algunos individuos, pero que han sido descartados debido a serios eventos adversos en unas cuantas personas. ⁽²⁰⁰⁾ Por otro lado, un sistema de bases genómicas para descubrimientos y desarrollo de nuevos fármacos tiene el potencial para identificar precisamente a los pacientes que se beneficiarán de algún fármaco y reducir así el número de pacientes de quienes la industria puede recuperar su inversión en ese tratamiento en particular. ⁽²⁰¹⁾

Este último punto identifica una preocupación ética adicional para los que hacen políticas y reglamentos gubernamentales, cuando se considera la disponibilidad de prescripciones terapéuticas individualizadas con bases genómicas: ¿Deberían las compañías farmacéuticas que están realizando ensayos clínicos o comercializando una droga particular ser obligadas a ofrecer la genotipificación a los pacientes y que el hacer eso conlleve a reducciones en su mercado potencial? ⁽²⁰¹⁾

En muchos casos, el conocimiento creciente de las diferencias farmacogenéticas y ecogenéticas que pueden explicarse en los niveles de DNA podría ser ventajoso para la sociedad; estas ventajas pueden ser descritas como toxicología preventiva. Por ejemplo, los pacientes preferirían no tener efectos colaterales indeseables de un fármaco prescrito, y los trabajadores preferirían no estar expuestos a agentes ocupacionales dañinos si entendieran que tienen predisposición al cáncer o toxicidad. Así mismo, se calcula que 7 de cada 100 fumadores mueren de carcinoma broncogénico, y tal vez si algunos de estos fumadores supieran que son genéticamente propensos para desarrollar cáncer de pulmón dejarían de fumar si tuvieran el conocimiento de que su genotipo DME está asociado con problemas malignos. En contraste, el conocimiento de la ecogenética de los individuos por compañías de seguros médicos puede proveer información para discriminar a las personas de alto riesgo, por lo que es importante prevenir el abuso de la información ecogenética de los individuos. ⁽²²⁾

La farmacogenómica plantea preguntas para el análisis ético del riesgo y beneficio de su desarrollo. El posible beneficio a largo plazo incluye el potencial para personalizar fármacos a sub poblaciones de pacientes, mejorando la eficacia terapéutica, minimizando los eventos adversos, incrementando la seguridad y la tolerancia de fármacos durante los ensayos clínicos, y reduciendo el costo del manejo de enfermedades. ⁽²⁰¹⁾

III.10.2 RESULTADOS REGULATORIOS Y ÉTICOS

Los documentos redactados por la FDA (*Food and Drug Administration*) al respecto reconocen el potencial útil de las pruebas genéticas para optimizar el desarrollo y uso de los fármacos. Se espera que las pruebas genéticas que identifican una población específica de pacientes en la cual los fármacos son efectivos y seguros deberán incorporarse en el marbete del producto, indicando el resultado de las pruebas clínicas de laboratorio convencionales, o pruebas patológicas, para detectar a las poblaciones de pacientes para los que está indicado ese un fármaco en particular. Las pruebas genéticas para investigación o cuidados clínicos están sujetas a documentos existentes que implican el consentimiento informado y la confidencialidad de historial del paciente, así como a las leyes de los estados específicos donde se realizan las pruebas genéticas. La identificación de diferencias individuales de pacientes basadas en polimorfismos genéticos puede mejorar la recomendación de la dosis en el marbete del producto. Esto facilitará la seguridad y el uso efectivo del fármaco al permitir prescribir por anticipado ajustes necesarios de la dosis, entendiendo como ajustar la dosis para evitar que la toxicidad pueda permitir el mercado del fármaco que pueda tener un nivel inaceptable de toxicidad donde la toxicidad es impredecible e imprevisible. ⁽²⁰²⁾

III.10.3 ETICA Y PRIVACIDAD

Los resultados falsos positivos para los eventos farmacogenéticos adversos (eg el paciente es incorrectamente diagnosticado de ser un candidato pobre para el fármaco) realizados en pacientes con una enfermedad antes de recibir un fármaco, no aporta nada a la información diagnóstica. ⁽²⁰³⁾

Otro aspecto importante es el uso comercial de los datos de la investigación y las consideraciones de consentimiento informado. Los eventos farmacogenéticos

adversos involucrarán a los pacientes a quienes se les ha prescrito un fármaco y han proporcionado consentimiento informado en cuanto al uso de su información para propósitos de los eventos adversos que pudieran ocurrir. No obstante, muchos de los estudios de poblaciones de pacientes con enfermedades específicas son llevados a cabo en centros médicos académicos, a menudo sin un consentimiento informado específico para usos comerciales. Posteriormente, cuando el proyecto ha sido terminado, los datos derivados de los estudios de esos pacientes podrían ser comercializados por una compañía biotecnológica o bien por una compañía farmacéutica. Por ello, los pacientes deberán ser informados de estas implicaciones comerciales de una manera clara que no amenacen su cuidado médico. ⁽²⁰³⁾

También necesitará modificarse el papel de los reguladores legales ya que los métodos sistemáticos para identificar pacientes con un gran riesgo de eventos adversos proporcionarán datos con evidencias que necesitarán ser incorporadas dentro de sistemas de vigilancia y de casos reportados. ⁽²⁰³⁾

La medicina basada en la farmacogenética requerirá de pacientes que proporcionen muestras de DNA para examinarlas antes de la prescripción de un fármaco. Los médicos pueden obtener DNA de un raspado bucal o de una muestra de sangre o de tejido. En general, las normas éticas y legales requerirán que el paciente proporcione consentimiento informado antes de proporcionar la muestra y examinarla. ⁽¹⁹⁹⁾ El almacenamiento de muestras de DNA en “*bancos de DNA*” para el análisis futuro es una característica importante de cualquier protocolo que implique a la farmacogenómica. Las cuestiones éticas serias ocurren cada vez con más frecuencia en el almacenamiento rutinario de muestras de DNA y en la posibilidad de que la información genética pueda ser incluida en bases de datos computarizados. Estos almacenamientos presentan nuevos problemas relacionados a la autonomía, privacidad y el consentimiento informado que garantice la clarificación, discusión y acción inmediata. Se ha discutido que la información genética es más vulnerable a la violación de la privacidad debido a que contiene el “diario del futuro” probabilístico de cada individuo. ⁽²⁰¹⁾

Las pruebas farmacogenéticas se llevan a cabo antes de la prescripción de un fármaco, difiriendo en importantes aspectos de otras pruebas genéticas, pero también contienen información privada que no debe revelarse a otros sin el consentimiento de esa persona. También es esencial asegurar la privacidad y

confidencialidad de las pruebas de DNA y de sus resultados para tranquilizar a los pacientes de que no afectarán el cuidado de su salud de ninguna manera. Una forma para tranquilizar a las personas es promulgar leyes que protejan la privacidad de las muestras de DNA y la información resultante de ellas. Además de hacer más explícito la protección de muestras de DNA y los resultados de las pruebas farmacogenéticas, sería también útil que las personas que trabajen en el cuidado de la salud desarrollen métodos más seguros del almacenamiento de la información de estas pruebas. Una técnica podría ser crear *barreras* efectivas entre los datos genéticos y los usuarios no autorizados, por ejemplo sólo tener los resultados de las pruebas farmacogenéticas en un registro médico con respeto a que un fármaco en particular pueda ser prescrito, sin incluir el perfil genético de SNP del paciente. ⁽¹⁹⁶⁾ Una segunda técnica podría ser utilizar intermediarios de confianza como repositorios de la información genética o de las muestras de DNA. Estos intermediarios podrían comunicar la información genética acerca de una persona sólo cuando esa persona específicamente haga la petición. Aunque los intermediarios privados no serían necesarios para cada prueba farmacogenética o interacción entre fármacos, si podrían ser importantes para asegurar la privacidad de la información genética en investigaciones, en ensayos clínicos en las cuales se realizan pruebas en la misma muestra de DNA o cuando se obtienen perfiles genéticos completos de pacientes individuales. ⁽²⁰⁴⁾

La tabla 11 resume las principales acciones que se deben considerar para las pruebas farmacogenéticas.

Tabla 11. Protecciones para las pruebas farmacogenéticas. (198)

Consentimiento informado y confidencialidad:

- Para muestras de DNA
- Pruebas farmacogenéticas
- Uso de marbetes

Las pruebas farmacogenéticas son diferentes de las pruebas mutacionales para enfermedades, susceptibilidad y portadores, pero pueden también revelar información personal. Para proteger a los pacientes y fomentar las pruebas farmacogenéticas, es necesario obtener el consentimiento informado y proteger la confidencialidad durante el proceso de estos ensayos.

Protecciones reglamentarias:

- Para muestras de DNA
- Para los resultados de las pruebas farmacogenéticas.

Pueden ser necesarias leyes para proteger los intereses privados de los pacientes de proporcionar muestras de DNA para pruebas farmacogenéticas y de los resultados de estas pruebas. No obstante, la protección de usuarios no autorizados de muestras o la revelación de los resultados de estas pruebas no previene que las aseguradoras y los empleadores soliciten la información de los pacientes. Así la protección del uso adverso de los resultados de las pruebas farmacogenéticas es también necesaria para fomentar que los pacientes se realicen las pruebas farmacogenéticas.

Procedimientos de procesamiento de datos:

- *Barreras* entre las pruebas farmacogenéticas y los registros médicos
- Intermediarios que mantengan las muestras de DNA y los resultados de las pruebas.

Las *barreras* entre los datos y los perfiles farmacogenéticos en la prescripción de un fármaco particular, así como el uso de intermediarios confiables para mantener las muestras de DNA y sus resultados, pueden reducir muchos de los problemas asociados a las pruebas farmacogenéticas.

En los Estados Unidos, las regulaciones federales que rigen la investigación humana surgen de tres principios éticos que se identificaron en el Reporte de Belmont: respeto para las personas, beneficencia y justicia. Como principio, el respeto a las personas incluye dos requerimientos morales: reconocimiento de la autonomía personal y protección a los individuos con autonomía disminuida. En la investigación que implica temas humanos, el ejercicio apropiado de la autonomía demanda que los participantes acepten entrar a la investigación voluntariamente y con la información adecuada. El consentimiento informado del participante es esencial. La beneficencia también supone dos requerimientos: no hacer daño y maximizar los beneficios, minimizando los daños posibles. La justicia busca como distribuir los beneficios y cargas de la investigación de manera equitativa. ⁽²⁰⁵⁾

A pesar de los continuos esfuerzos para armonizar las regulaciones farmacéuticas mundiales, la protección brindada a las poblaciones de los riesgos de los fármacos que han sido probados, después de haber sido probados en ensayos clínicos con pequeños grupos poco diversos genotípicamente, depende del mercado del estado y del país en cuestión.

(a) En los Estados Unidos (EU): Además de los ensayos clínicos la FDA se requiere que los fabricantes mantengan registros de la experiencia clínica que pudiera ser relevante para determinar si se debe retirar la aprobación de un fármaco y para emitir reportes de las reacciones adversas.

(b) En la Unión Europea (UE): Para los fármacos que han sido aprobados de acuerdo al proceso de aprobación centralizado administrado por la UE, la Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales y la Comisión en Productos Medicinales Propuestos requieren que se emitan los reportes de las reacciones adversas cada seis meses durante los primeros dos años después de haber sido aprobados. Los miembros de los estados individuales pueden tener diferentes lineamientos en acción que predominan sobre los lineamientos de la Agencia Europea.

(C) En Japón: El Ministerio de Salud y de Asistencia Social, a través del Departamento de Asuntos Farmacéuticos requiere que el fabricante colecte los datos de las reacciones adversas y que remita los productos para su re examinación y reevaluación. ⁽²⁰⁶⁾

La farmacogenómica está basada en la idea de que los consumidores de fármacos tendrán una mejor terapia una vez que hayan sido subdivididos por genotipos y tratados con el fármaco más adecuado. Desde una perspectiva industrial la subdivisión del mercado en mercados más pequeños es apenas ideal. ⁽²⁰⁷⁾ Los incentivos para que las compañías farmacéuticas inviertan tiempo, esfuerzo y recursos en el desarrollo de fármacos para tratar poblaciones limitadas son pocos comparados con el desarrollo de fármacos para tratar genotipos más prevalentes en el contexto de la farmacogenómica. Por lo tanto, se esperaría que la mayoría de las compañías farmacogenómicas deberían dirigir sus recursos hacia el desarrollo de fármacos para tratar genotipos más prevalentes. ⁽²⁰⁶⁾

Los grupos de fármacos caracterizados por genotipos menos comerciales están en riesgo de convertirse en *huérfanos terapéuticos*. Actualmente, los fármacos para enfermedades raras se denominan *fármacos huérfanos*. Los Estados Unidos y Japón han promulgado una legislación para estimular la investigación y desarrollar *fármacos huérfanos* a través de mecanismos de mercado tales como impuestos basados en incentivos y monopolios de tiempo limitado. La Unión Europea ha dado iniciativas para estimular las acciones legislativas en *fármacos huérfanos*, y la Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales tiene una medida que exenta a las compañías farmacéuticas de tener que pagar impuestos para desarrollar fármacos si son *fármacos huérfanos*. ⁽²⁰⁶⁾

III.10.4 CUESTIONES SOCIALES

La existencia de efectos sociales y psicológicos, y de su percepción como benéficos o dañinos, es resultado de muchos factores tales como recursos individuales, apoyo familiar, apoyo de los servicios sociales, políticas de las compañías de seguros y actitudes sociales. Aunque el consentimiento informado debe explicar que estos contextos sociales son relevantes para evaluar los efectos de las pruebas genéticas, los efectos reales permanecen impredecibles debido a la complejidad y variabilidad de los sistemas sociales. ⁽²⁰⁶⁾

Las evaluaciones éticas de las pruebas genéticas deben analizar los efectos sociales y psicológicos de estas pruebas y considerar las respuestas actuales y posibles de los sistemas sociales. Aunque el consentimiento informado y el consejo genético pueden revelar y discutir estas dimensiones éticas para el paciente candidato, no deben

ser considerados como adecuados para manejar estos riesgos. El contexto social está más allá del control de los genetistas y de los participantes. A la larga, la aceptación de las pruebas genéticas en la sociedad deberá estar acompañada de una inversión en la investigación social que identificará respuestas en el sistema social, proporcionando análisis éticos y sociales y alternativas para su reforma. ⁽²¹⁰⁶⁾

La combinación de los efectos familiares de las pruebas genéticas y la autorización individual de la aceptación de los riesgos y beneficios parece conllevar a requerimientos no prácticos de que cada miembro de la familia, para el que sea relevante la información de las pruebas de los participantes, debe dar un consentimiento antes de que el participante sea diagnosticado. El compromiso más usual es sugerir al candidato prueba que él o ella discutan las posibilidades de la prueba con los miembros de la familia y, cuando sea posible, acudan primero a consejo genético y realicen las pruebas a portadores potenciales, tales como los padres. Si las personas más probables de ser afectadas ya se realizaron la prueba, los efectos en el resto de la familia serán minimizados. Pero si los miembros de la familia insisten en "no saber el riesgo", la presunción de la suficiencia ética del consentimiento informado de los servicios clínicos hace difícil la justificación de la prueba genética en la persona que acepta. Los efectos de las pruebas genéticas en grupos mayores a familias han sido estudiados en grupos mayoritarios o comunidades religiosas. ⁽²¹⁰⁶⁾

El consentimiento informado de los miembros de una comunidad etno - cultural individual es completamente inadecuada para autorizar la aceptación de los riesgos de estigmatización para el grupo entero. ⁽²¹⁰⁷⁾ Aún si hay beneficios colectivos de las pruebas clínicas en los individuos o en la investigación, el consentimiento individual de los miembros de la comunidad no podrá autorizar la aceptación de los efectos a la comunidad. Aunque los investigadores pueden buscar algunas veces la aceptación autoritaria de los líderes, este enfoque requiere preguntas éticas importantes acerca de los líderes representantes y sobre la heterogeneidad de las creencias morales y de los juicios dentro de las comunidades. ⁽²¹⁰⁸⁾

IV DISCUSION

Existen grandes diferencias en la forma en que los individuos responden a los medicamentos en términos de toxicidad, eficacia o ambos. Las causas potenciales de esta variabilidad individual incluyen la naturaleza y severidad del padecimiento que esta siendo tratado, la edad, la raza, la función orgánica, terapias concomitantes entre otros. ⁽²²⁾

Se ha estimado en los Estados Unidos más de 100,000 personas mueren cada año debido a reacciones adversas a medicamentos que son benéficos para otros, mientras que 2.2 millones experimentan reacciones adversas severas. ⁽⁷⁾ Las variantes de DNA de los genes implicados en el metabolismo de fármacos, particularmente de la familia de multigenes del citocromo P450, son el centro de muchas investigaciones actuales en esta área. Los genes que codifican para estas enzimas son responsables del metabolismo de muchos fármacos utilizados actualmente, en tratamientos psiquiátricos, neurológicos y enfermedades cardiovasculares, entre otros. La función enzimática afecta la respuesta de los pacientes tanto para el fármaco como para la dosis usada. Aunque más del 99% de la secuencia del genoma humano es la misma en diferentes poblaciones, las variaciones individuales en la secuencia de DNA puede tener un gran impacto en cómo los humanos responden a las enfermedades, ambientales como bacterias, virus, toxinas, químicos, fármacos y otras terapias. ⁽¹²⁴⁾

Se han desarrollado varios métodos para detectar diferentes tipos de variación genética, particularmente el tipo más común llamados Polimorfismos de Nucleótidos Sencillos (SNP), los cuales ocurren cerca de una vez cada 100 a 300 bases. Los científicos esperan que los mapas de SNP ayudarán a identificar múltiples genes asociados con la respuesta individual a los fármacos. También se espera que los datos genómicos y las nuevas tecnologías contribuyan al desarrollo de nuevos fármacos de manera rápida, barata y más efectiva. La mayoría de los fármacos actuales se basan en cerca de 500 blancos moleculares; el conocimiento genómico de los genes implicados en enfermedades, rutas de enfermedades y sitios de respuesta del fármaco llevarán al descubrimiento de miles de nuevos blancos. Los nuevos fármacos apuntan a

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

sitios específicos en el cuerpo y en particular a eventos bioquímicos que causan enfermedad, estos nuevos fármacos probablemente causarán nuevos efectos colaterales que muchos de los medicamentos actuales. Idealmente, los nuevos fármacos genómicos podrán actuar en el proceso inicial de la enfermedad. El conocimiento genómico estará disponible para seleccionar a los pacientes más probables para beneficiarse de un fármaco potencial, por lo tanto, la farmacogenómica acelerará el diseño de ensayos clínicos y llevará los fármacos al mercado en un tiempo menor. ⁽¹⁸⁵⁾

La bioinformática se encuentra en la intersección entre las ciencias de la vida y de la información, proporcionando las herramientas y recursos necesarios para favorecer la investigación biomédica. Este campo interdisciplinario comprende la investigación y desarrollo de sistemas útiles para llegar a entender el flujo de información desde los genes a las estructuras moleculares, a su función bioquímica, a su conducta biológica, y finalmente, a su influencia en las enfermedades y en la salud. Los estímulos principales para el desarrollo de esta disciplina han sido el enorme volumen de datos sobre secuencias genómicas generados por distintos proyectos genomas (humano y otros organismos), los nuevos enfoques experimentales basados en *biochips* que permiten obtener datos genéticos a gran velocidad, bien de genomas individuales (polimorfismos, mutaciones), bien de enfoque celulares (expresión génica) y el desarrollo de Internet y el WWW, que permiten el acceso universal a las bases de datos de información biológica. ⁽¹⁹³⁾

Las bases de datos deben adaptarse a las evoluciones necesarias de la comunidad científica y permitir que las preguntas sean contestadas fácilmente. Los proyectos sugieren desarrollar una base de datos del genoma humano, análogo a bases de datos de modelos de organismos, eso conectará a la información fenotípica. También se necesitarán esas bases de datos y pruebas analíticas para el estudio de expresión génica y datos funcionales, para modelos de redes biológicas complejas e interacciones, y para la coleccionar y analizar datos de variación de secuencias. ⁽¹⁹⁴⁾

Los rápidos avances en la ciencia de la genética y sus aplicaciones presentan nuevas y complejas implicaciones éticas y legales para los individuos y la sociedad. El programa ELSI que identifica y dirige estas implicaciones ha sido una parte integral del Proyecto del Genoma Humano desde su comienzo y ha resultado en un cuerpo de trabajo para promover la educación y ayudar a guiar la conducta de los investigadores en genética y el desarrollo de políticas públicas, éticas y legales. ⁽¹⁹⁶⁾

En la próxima década los investigadores empezarán a correlacionar variantes de DNA con la respuesta individual a tratamientos médicos identificando subgrupos particulares de pacientes, y desarrollando fármacos personalizados para esas poblaciones. ⁽¹⁴⁵⁾

V CONCLUSIONES

- Las diferencias individuales en la respuesta a los fármacos se deben a factores ambientales y genéticos, siendo estos últimos más importantes y de carácter permanente.
- Los genes que codifican para DME (de fase I y fase II) son conocidos por exhibir polimorfismos genéticos y constituyen las bases de la variación genética en la respuesta a los fármacos.
- La incidencia de metabolizadores pobres en la respuesta a las drogas varía en las diferentes poblaciones étnicas.
- Las reacciones adversas a los fármacos constituyen un problema de salud pública.
- Los avances de la genética permiten predecir que el tratamiento personalizado no es una utopía y que en los próximos años ya pueda aplicarse de forma generalizada.
- El desciframiento del genoma humano no es el final del trayecto sino el comienzo de nuevas investigaciones fascinantes que revelarán aspectos insospechados de nuestra identidad biológica.
- Es evidente que la configuración única del ser humano como especie biológica reside en sus genes.
- Estamos ante la oportunidad histórica de integrarnos en una revolución que marcará el futuro desarrollo de la humanidad en este siglo.
- La integración de la tecnología farmacogenómica dentro del proceso de desarrollo de fármacos y la práctica de la medicina, requerirá consideración de las cuestiones éticas, legales y sociales.
- La respuesta a las cuestiones éticas, legales y sociales, determinará el nivel de la aceptación social y realización de los beneficios de la tecnología farmacogenómica.

BIBLIOGRAFIA

1. Erickson PR. (1988). From "magic bullet" to specially engineered shotgun loads": The new genetics and the need for individualized pharmacotherapy. *BioEssays* 20: 683- 685.
2. Garrod AE. (1931). *Inborn errors in disease: An Essay*. Oxford. New York. Clarendon Press.
3. Spear BB, Heath- Chiozi M, Huff J. (2002). Clinical application. *A Trends Guide to genetic variation and Genomic Medicine*. S 43-S47.
4. Poolsup N, Li Wan Po A, Knig L. (2000). Pharmacogenetics and psychopharmacotherapy. *J Clin Pharm Ther* 25: 127-220.
5. Vesell E S. (2000). Advances in pharmacogenetics and pharmacogenomics. *J Clin Pharmacol* 40: 930- 938.
6. Rothstein AM & Epps GP. (2001). Pharmacogenomics and the relevance of race. *The pharmacogenomics Journal* 1: 104-108.
7. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey Pn. (1998). Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients. *JAMA* 279: 1200- 1205.
8. Pickar D, Rubinow K. (2001). Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *Trends Pharmacol Sci* 22:75-83.
9. Geoffrey S, Ginsburg J, Jeanette J. (2002). Personalized medicine: Revolution drug discovery and patient care. *A trends Guide to Genetic Variation and Genomic Medicine*: 548-554.
10. Housman D. (1998). Why Pharmacogenomics? Why now? *Nat Biotechnol* 16(6): 492.
11. Cooper DL. (1988). Pharmacogenomics in Patient care. Conference sponsored by AAC. What is Pharmacogenetics?. Cooped@al.isd.upmc.edu.
12. Gibbs WW. (1996). New chip of the old block. Can DNA microprobes do for genetics what microprocessors did for computing?. *Scie Am* 275: 42-44.

13. Hacia JG. (1996). Deteccion of heterozigous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two color fluorecence analysis. *Nat Genet* 14(4): 441-447.
14. Allen D R. (2001). Pharmacogenetics *Hum Molec Genet* 10(20):2261- 2267.
15. Beutler E. (1991). Glucose – 6 – Phosphate dehydrogenase deficiency. *N Eng J Med* 324: 169- 174.
16. Pfof DR, Michael T, Boyce-Jacino, Grant MD. (2000). A SNP shot: pharmacogenetics and the future of drug therapy. *Elsevierscience* 18: 334-338.
17. Nebert DW. (1997a). Pharmacogenetics: 65 candles on the cake. *Pharmacogenetics* 7: 435-440.
18. http://www.cromedica.com/whatsnew/aug_98.html
Cromedica. (1998). WhatsNew? Pharmacogenomics: Refining random drug tratment to rational prescription.
19. Dern PJ, Brewer GJ, Tashian RE, Shous TB. (1966). Hereditary variation of erythrocytic 6- phosphogluconate dehydrogenase. *J Lab Clin Med* 67 (2): 255 – 64.
20. Carsen PE, Flanagan CL, Iokes CE, Alving AS. (1956). Enzymatic deficiency in primaquine – sensitive erythrocytes. *Science* 124: 484-485.
21. Nebert DW, Weber WW. Pharmacogenetics. En Pratt WB, Taylor PW, eds. Principles of drug action. The basis of pharmacology, 3^o ediciion. New York. ChurchillLivingstone Inc, 1990: 469-531.
22. Kalow W, Bertilson L. (1994). Intherethnic factors affecting drug response. *Adv Drug Res* 25: 1-53.
23. Nebert D.W. (1997b). Polymorphisms in drug metabolizmng enzymes: What it their clinical prevalence and why do the exist?. *Am. J Hum Genet* 60: 265-270.
24. Kalow W. (1952). Hidrolisys of local anesthetics by human serum cholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther* 104: 122.
25. Hughes HB, Bihel JP, Jones AP, Schmidt LH. (1954). Metabolism of isoniazid in man as related to the occurence of peripheral neuritis. *Am Rev Tuberculosis* 70: 266-273.
26. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith LR. (1977). Polymorphic hidroxylation of debisoquine in man. *Lancet* 2: 584-586.

27. Tucker GT, Siles JH, Iyun AO, Lennard MS, Smitj AJ. (1977). Polymorphic hydroxylation of debrisoquine. *Lancet* 2(8040): 718.
28. Eichelbaum M, Bertlsson L, Sawe J, Zekorn C. (1982). Polymorphic oxidation of sparteine and debrisoquine related pharmacogenetic entities. *Clin Pharmacol Ther* 31: 184-186.
29. Kalow W. (1997). Pharmacogenetics in biological perspective. *Pharmaceutical Reviews* 49(4): 369-379.
30. Vesell ES. (1968). Genetic control of drug levels in man: Antipyrine. *Science* 161: 72-73.
31. Beutler E. (1993). Study of glucose- 6- phosphate dehydrogenase: History and molecular biology. *Am J Hematol* 42: 53-58.
32. Luzzatto L, Mehta A. (1995). Glucose 6- phosphate dehydrogenase deficiency. In the metabolic and molecular bases of inherited Disease. Ed by Scriver CR, Beadit AL, Sly WS, Valle D. Mc Graw Hill, Inc; New York. 3367- 3398.
33. Kalow W. (2001). Interethnic differences in drug response. En: *Pharmacogenomics*, Kalow W. 109-134
34. Kostas P, Martell K, Weber W. (1991). Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N- acetyltransferase. *Proc Nat Acad Scie USA* 88: 6333-6337.
35. Bertlsson L. (2001). Current status: Pharmacogenetics/drug metabolism. En: *Pharmacogenomics*. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, eds. Marcel Dekker, Inc. New York.
36. Grant DM, Blum M, Beer M, Meyer U. (1993). Monomorphic and polymorphic human arylamine N- acetyltransferases: A comparison of liver isozymes and expressed products of two clone genes. *Mol Pharm* 39:184-191.
37. Grant DM, Spielberg S. (1998). Genetic regulation of drug metabolism, in Polien RA, Fox WW: Fetal and Neonatal Physiology. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders. 161.
38. La Du BN, Bartels CF, Nogueira Cp, Arpagaus M, Lockridge O. (1991). Proposed nomenclature for human butyrylcholinesterase genetic variants identified by DNA sequencing. *Cell Mol Neurobiol* 11:79.
39. Mendel B, Rudney H. (1943). Studies on cholinesterase: I.-Cholinesterase and pseudocholinesterase. *Biochem J* 37:59.

40. Bourne JC, Collier HO, Somers GF. (1952). Succinylcholine: Muscle relaxant of short action. *Lancet* 1: 1225.
41. Bovet D, Bovetti- Nitti F, Guarino S, Longo VG, Marotta M. (1949). Proprieta farmacodinamiche di alcuni derivati della succinilcolina dotati di azione curarica R C 1^a *Sup Sanita* 12:106.
42. Apagaus M, Kott M Vatsis KP, Bartels CF, La Du BN, Lokridge O. (1990). Structure of the gene for human Buthyryl Cholinesterase. Evidence for a single copy. *Biochemistr* 29: 124.
43. Cho AK. (2000). Medical Pharmacology Drug Metabolism_CHO@pharm_medsch_ucla.ed.u.
44. Brimijoin S, Hammond P. (1988). Butirylcholinesterase in human brain and acetilcholinesterase in human plasma. Trace enzymes measured by two site immunoassay. *J Neurochem* 51: 1227.
45. Mc Tiernan C, Adkins S, Chatonet A, Vaughn TA, Bartels CF et al. (1987). Brain cDNA clone for human cholinesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6682.
46. Lockridge O, La Du BN. (1986). Amino acid sequence of the active site of human serum cholinesterase from usual, atypical, and characteristic silent genotypes. *Biochem Genet* 24: 485.
47. Bevan DR, Bevan JC, Donati F. (1988). Muscle Relaxants in clinical anesthesia, Chicago, Year Book Medical.
48. Whittaker M (1988). Pharmacogenetic studies of suxamethonium sensitivity in Quartino AR, Cominetti M, DeBellis P: Pharmacogenetics and anesthetics. Genoa Silver: 59.
49. Kalow W, Gunn DR (1957). The relation between dose of succinylcholine and duration of apnea in man. *J Pharmacol Exp Ther* 120: 203.
50. Kalow W. (1991). Interhetic variation of the drug metabolism. Trends Pharmacol. *Science* 12:102.
51. Stewart DJ, Inaba T, Tang BK, Kalow W. (1977). Hydrolysis of cocaine in human plasma by cholinesterase. *Life Scie* 20: 1557.
52. Stewart DJ, Inaba T, Lucassen M, kalow W. (1979). Cocaine metabolism: Cocaine and norcocaine hidrolysis by liver and serum esterases. *Clin Pharmacol Ther* 25:564.

53. Aaron CK, Hirschman Z, Smilkstein MJ. (1989). Street pharmacology: A dangerous new way to prolong the high. *Vet Hum Toxicol* 31: 375.
54. Hoffman RS, Henry GC, Howland MA, Weisman RS, Weil L, et al. (1992). Association between life - threatening cocaine toxicity and plasma cholinesterase activity. *Ann Emerg Med* 21: 247.
55. Kalow W, Grant DM. Pharmacogenetics. En : *The Metabolic Bases of Inherited Disease*. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. (2001). 8th ed. Mc Graw Hill, Inc.
56. Quane KA, Ording H, Keating KE, Manning BM, Heine R, et al. (1997). Detection of a novel mutation at amino acid position 614 in the ryanodine receptor in malignant hiperthermia. *Br J Anaesth* 79: 332.
57. MacLennan DH, Duff C, Zorzato F, Fujii J, Phillips M, et al. (1990). Ryanodiene receptor gene is a candidate for predispositión to malignant hyperthermia. *Nature* 343: 559.
58. Gillard EF, Otsu K, Fujii J, Khanna VK, De Leon S, et al. (1991). A substitution of cysteine for arginine 614 in the ryanodine receptor is potentially causative of human malignat hyperthermia. *Genomics* 11: 751.
59. Sudbrak R, Procaccio V, Klausnitzer M, Curran JL, Monsieurs K, et al. (1995). Mapping of a further malignant hyperthermia susceptibility locus to crhomosome 3q13.1. *Am J Hum Genet* 56: 684.
60. Iles DE, Lehmann-Horn F, Scherer SW, Tsui LC, Olde Weghuis D, et al. (1994). Localization of the gene encoding the alpha 2/delta-subunits of the L-type voltage dependent calcium channel to chromosome 7q and analysis of the segregation of flanking markers in malignant hyperthermia susceptible families. *Hum Mol Genet* 3: 969.
61. Levitt RC, Olickers A, Meyers S, Fletcher JE, Rosenberg H, et al. (1992). Evidence for the localization of a malignant hyperthermia susceptibility locus (MHS2) to human chromosome 17q. *Genomics* 14: 562.
62. Levitt RC, Nouri N, Ledlicka AE, McKusick VA, Marks AR, et.al. (1991). Evidence for genetic heterogeneity in malignant hiperthermia susceptibility. *Genomics* 11:543.
63. Loke J, MacLennan DH. (1998). Malignant hypethermia and central core disease: Disorders of Ca release channels. *Am J Med* 104: 470.

64. Heffron JJ. (1989). Biochemistry of the malignant hyperthermia syndrome, in Hoffmann JG, Schmidt A: Malignant hyperthermia: An update. Berlin, Volk und Gesundheit 212.
65. Mueller R. F, Young I. D. (2000). Emery's Elements of Medical Genetics 10th ed. Churchill Livingstone. New York.
66. Meyer UA. (1994). Pharmacogenetics: The slow, the rapid and the ultrarapid. *Proc Natl Acad Sci USA*: 91: 1983- 1984.
67. Meyer UA, Zanger U. (1997). Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37:269.
68. Nebert DW, McKinnon RA, Puga A. (1996). Human drug metabolizing enzyme polymorphisms: effect on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol* 15: 273-278.
69. Evans WE, Relling MV. (1999). Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 286: 487-91.
70. Nebert DW. (1999). Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist?. *Clin Genet* 56:247-258.
71. Nebert DW. (1991). Proposed role of drug metabolizing enzymes regulation of steady state levels of the ligands that effect growth homeostasis differentiation and neuroendocrine functions. *Mol Endocrinol* 5: 1203 – 1214.
72. Phillips PhD, Kathryn A, David L, Veenstra PhD, Eyal O, et al. (2001). Potential role of Pharmacogenomics in reducing adverse Drug reactions. *JAMA* 286: 2270- 2279.
73. Fuhr U, Strabl G, Monaut F, Ander EM, Sorgil F, et al. (1993). Quinolone antibacterial agents: relationship between structure and in vitro inhibition of the human cytochrome P450 isoform CYP1A2. *Mol Pharmacol* 43: 191- 199.
74. The Merck Manual of diagnosis and therapy. (2001). Factors Affecting Drug Response. Sec.22 Ch.301.
75. Pirmohamed M, Park BK. (2001). Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacol. Science* 22:298-305.
76. Khan SA. (1998). Drug interaction or adverse drug reaction? Confusing terms. *Br Med J* 316:1930.
77. <http://www.med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/investiga/farmacovigil/htm>
Valsecia M, Malgou L, Espindola J, Morales S. (2000).

Estudio farmacoepidemiológico de las reacciones adversas.

78. Ingelman- Sundberg M. (2001). Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and enviromental toxicants , the role of the CYP family of enzymes. *Mut Res* 482:11-19.
79. Marshall A. (1997). Laying the foundationsfor personalized medicines. *Nat Biotechnol* 15: 954-957.
80. Jefferys DB et al. (1998). New active substances authorized in the United Kingdom between 1972 and 1994. *Br J Clin Pharmacol* 45:151-156.
81. Wolff T, Distlerath LM, Worthington MT, Groopman JD, Hammons GJ, et al. (1985). Substrate specificity of human liver cytochrome P450 debrisoquine 4-hydroxylase probed using immunochemical inhibition and chemical modelling. *Cancer Res* 45: 2116.
82. Szumlanski C, Otterness D, Her C, Lee D, Brandriff B, Kilsell D. (1996). Thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: Human gene cloning and characterization of a common polymorphism. *DNH Cell Bio* 15: 17-30.
83. Honn YY, Fessing MY, Pui Ch, Relling MV, Krinetski EY, Evans WE. (1999). Polimorphism of the thiopurine S-methyltransferase gene in african- americans. *Hum. Mol Gene* 8(2): 371-6.
84. Weishilbaum RM, Sladecck SL. (1980). Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic in inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet* 32: 651-662.
85. Iyer L, rатаin MJ. (1998). Pharmacogenetics and cancer chemotherapy. *Eur J Cancer* 34: 1493-99.
86. Weishilbaum RM, Otterness DM, Szumlanski CL. (1999). Methylation pharmacogenetics: Catechol O- methyltransferase, thiopurine methyltransferase and histamine N- methyltransferase. *Annv Rev Pharmacol Toxicol* 39: 19-52.
87. <http://www.pharmsci.org/ScientificJournals/pharmsci/journal/4.html>. MacinelliL, Cronin M, Sadee W. (2000). Pharmacogenomics: The promise of personalized medicine. *AAPS Pharmsci* 2(1): 4.
88. Ingelman-Sundberg M. (1999). Duplication, multiduplication and amplification of genes encoding drug-metabolizing enzymes: evolutionary, toxicological, and clinical pharmacological aspects. *Drug Metab Rev* 31: 449-459.

89. Hansten Pd, Horn Jr, Koda- Kimble MA. (1993). Drug interactions and updates. Vancouver, Wash: Lea &Febiger: 3-45.
90. Bertz RJ, Granneman GR. (1997). Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interationas. *Clin Pharmacokinet* 32: 210-244.
91. Anastasio GD, Cornell KO, Menscer D. (1997). Drug interactions: Keeping in straight. *Am Fam Physician* 56:883-894.
92. Nebert DW, Nelson RD, Adesnik M, Coon JM, Stabrook WR. (1989). The P450 superfamily updated listing of all genes and recommended nomenclature for the chromosomal loci. *DNA* 8: 1-13.
93. <http://drnelson.utem.edu/cytochromeP450.html/>, 2000
Nelson D. Cytochrome P450 gene superfamily.
94. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. (1998). Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*; 353(9154): 717-19.
95. Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, Blaisdell J, Goldstein JA, Dalton JT. (1999). Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CP2C9*3 allele. *Pharmacogenetics* 9(1): 71-80.
96. K pfer A, Desmond P, Schenker S, Branch RA. (1979). Family study of a genetically determined deficiency of mephenytoin hydroxylation in man. *Pharmacologist* 21: 173.
97. K pfer A, Schmid B, Preisig R, Pfaff G. (1984). Dextromethorfan as a safe probe for debrisoquine hydroxylation polymorphism. *Lancet* 1:517.
98. K pfer A, Desmond P, Patworhan R, Schenker S, Branch RA. (1984). Mephenytoin hidroxylation deficiency: Kinetics after repeated doses. *Clinical Pharmacology therapy*. 35: 33-39.
99. Wrighton SA, Stevens TC, Becker GW. (1993). Isolation and characterization of human liver cytochrome P4502C19: Correlation between 2C19 and S-Mephenytoin 4- Hydroxylation. *Arch Biochem Biophys*. 306: 240 – 245.
100. De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. (1994a). Identification of a new genetic defect responsible for the

- polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol* 46(4): 594-8.
101. De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. (1994b). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 269(22): 15419-22.
 102. Wedlung PJ. (2000). The CYP2C19 Enzyme Polymorphism. *Pharmacogenetics* 61: 174- 183.
 103. Evans DAP, Mahgoub A, Sloan TP, Idle JR, Smith RL. (1980). A family and population study of the genetic polymorphism of debrisoquine oxidation in a white British population. *J Med Genet* 17: 102-105.
 104. De Groot MJ, Bijloo GJ, Martens BJ, van Acker SABE, te Koppele SJ, Vermeulen N. (1997). A refined substrates model for human cytochrome P450 2D6. *Chem Res Toxicol* 10:41.
 105. Eichelbaum M, Bertlison L, Sawe J, Zekorn C. (1982). Polymorphic oxidation of sparteine and debrisoquine related pharmacogenetic entities. *Clin Pharmacol Ther* 31: 184-186.
 106. Wolff T, Distlerath LM, Worthington MT, Groopman JD, Hammons GJ, Kdlubar FF, et al. (1985). Substrate specificity of human liver cytochrome P450 debrisoquine 4-hydroxylase probed using immunochemical inhibition and chemical modelling. *Cancer Res* 45: 2116.
 107. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. (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(6): 889-904.
 108. Panserat S, Mura C, Gerard N, Vincent-Viry M, Galteau MM. (1994) Identification of a new variant CYP2D6 allele with a single base deletion in exon 3 and its association with the poor metabolizer phenotype. *Hum Mol Genet* 3(6): 923-6.
 109. Steiner E, Iselius L, Alvan G, Lindsten J, Sjöqvist F. (1985). A family study of genetic and environmental factors determining polymorphic hydroxylation of debrisoquine. *Clin Pharmacol Ther* 38: 394-401.

110. Eichelbaum M, Gross AS. (1992). The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism: Clinical aspects, in Kalow W: Pharmacogenetics of Drug Metabolism. Ed. New York, Pergmon. 625.
111. Schmid B, Bircher J, Preisig R, K pfer A. (1985). Polymorphic dextrometorphan metabolism: co-segregation of oxidative O-demethylation with debrisoquine hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther* 38: 618-624.
112. Bathum L, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Horder M, Brosen K. (1998). Ultrarapid metabolism of sparteine: frequency of alleles with duplicated CYP2D6 genes in a Danish population as determined by restriction fragment length polymorphism and long polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 8: 119-123.
113. Lovlie R, Daly AK, Idle JR, Steen VM. (1997) Characterization of the 16+9 kb and 30+9 kb CYP2D6 XbaI haplotypes. *Pharmacogenetics* 7(2):149-52.
114. Lovlie R, Daly AK, Matre GE, Molven A, Steen VM. (2001). Polymorphisms in CYP2D6 duplication-negative individuals with the ultrarapid metabolizer phenotype: a role for the CYP2D6* 35 allele in ultrarapid metabolism? *Pharmacogenetics* 11: 45-55.
115. Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodriguez F, Ingelman-Sundberg M. (1996). Frequency distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 278: 441-446.
116. McLellan RA, Oscarson M, Seidegard J, Evans D, Ingelman-Sundberg M. (1997). Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. *Pharmacogenetics* 7: 187-191.
117. Agundez J, Ledesma M, Ladero J, Benitez J. (1994). Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther* 57: 265-269.
118. Pennisi, E. (2001). The human genome. *Science* 291 (5507): 1177.
119. Watson, JD. (1990) "The Human Genome Project: Past, Present and Future". *Science* 248: 4449.

120. Green, E.D. (1995). "The Human Genome and it's impact on the study of the human disease", "The metabolic and molecular bases of the inherited disease". 7th. Ed, New York.
121. US Department of Health and Human Services and US Department of Energy Understanding our Genetic Inheritance, the US The Human Genome Project the first five years FY (1991-1995), NTIS, U.S. Department of Commerce, Springfield, VA., 1990.
122. Jordan, E. (1992). "The Human Genome Project: Where did it come from, where is it going?". *Am J Genet* 51: 1-6.
123. Goodfellow P.N. (1992). "Variation is the theme". *Nature* 259: 777-778.
124. <http://w.w.w.ornl.gov/hgmis/resourse/info.htm>. Human Genome Project Information. The science behind the Human Genome Project (2001).
125. <http://w.w.w.ornl.gov/hgmis/resourse/info.htm>. Human Genome Project Information. The science behind the Human Genome Project (2000).
126. Fleischmann RD, Adams MD., White O, Clayton RA, Kirkness EF, et al. (1995). Whole-Genome Random Sequencing 496 and Assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* 269 (5223): 496-512.
127. Roberts. L, Marshall. E. (2001). History philosophy of science. *Science* 291 (5507): 1195.
128. Dunham I. (2000). Genomics- the new rock and roll? *Trends* 16: 456- 460.
129. Lodder N. (1999). The book of the genes Unfinished sequence the catch on 22. *Nature* 402: P. 448
130. Little P. (1999). The book of the genes. *Nature* 402: P. 467-498.
131. Riken Genomics Sciences Center (GSC). (2000). Human Genome Research Group. The sequence of human chromosome 21 has been completed. *Nature* 500: 400.
132. <http://w.w.w.ornl.gov/hgmis/project+151619jgi/html>
Sherwood J. (2000). Researchers decode three human chromosomes.
133. Birney E, Bateman A, Clamp E, Hubbard J. (2001). Mining the draft human genome. *Nature* (409): 827- 837.
134. Venter JC, Mark DA, Eugene WM, Peter WL, Richard JM. (2001). The Sequence of the Human Genome. *Science* 291 (5507): 1304-1351.
135. <http://w.w.w.ornl.gov/hgmis/project/progress.html>

- Recer P. Scientists announce DNA mapping (2000).
136. Deloukas P, Mathews LH, Ashurst J, Burton J, Gilbert JG, et al. (2001). The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 20. *Nature* 414(6866): 854-861.
 137. Kurth JH. (2000). Pharmacogenomics: Future promise of a tool for identifying patients at risk. *Drug Inf J* 34: 223- 227.
 138. Hall IP. (2002). Pharmacogenetics, Pharmacogenomics and airway disease. *Respir Re* 3:1-10.
 139. Evans WE, Johnson JA. (2001). Pharmacogenomics: The inherited basis for interindividual differences in drug response. *Annu Rev Genomics Hum. Genet* 2: 9-39.
 140. Brockmüller J. (1999). Pharmacogenomics- science fiction come true. *Int J Clin Pharmacol Ther* 37: 317-318.
 141. <http://www.ornl.gov/hgmis/medicine/pharma.html>. Pharmacogenomics: Medicine and the new genetics.
 142. Gail IR, Sanders R, Jonsson J. (1999). The development of Pharmacogenomic models to predict drug response. *Pharma Informatics a trends guide* 30- 33.
 143. Cavalli- Sforza LL, Bodmer WF. (1971). The genetics of the human population. Freeman and Co. San Francisco CA.
 144. Nebert D.W, Dieter M.Z. (2000). The evolution of drug metabolism. *Pharmacology* 61:124-135.
 145. http://www.orchidbio.com/mt_03.htm Orchid. SNP Background: The key to pharmacogenomics in drug discovery, understanding SNP (1999).
 146. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt C, Jerzy M, Lincoln D. (2001). A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphism. *Nature* (409): 928-933.
 147. Dawson E. (1999). New collaborations make pharmacogenomics a SNP. *Mol Med Today* 5: 280.
 148. Roberts L. (2000). SNP Mappers confront reality and find it daunting. *Science* (287): 1898-1899.
 149. <http://www.medscape.com/home/HumorLeisure/HumorLeisure>. Norton RM. (2001). Pharmacogenomics and individualized drug therapy. Medscape Pharmacotherapy.

150. Wolf C, Smith G, Smith R. (2000). Pharmacogenetics. *BMJ* 320: 987- 990.
151. Krynetski E, Evans W. (1999). Pharmacogenetics as a molecular basis for individualized drug therapy. The thiopurine S- methyltransferase. *Pharm Res* 161: 342-349.
152. Ravdin P. (1999). Should HER status be routinely measured for all breast cancer patients. *Semin Oncol* 26: 117- 123.
153. Phillips KA, Veenstra D, Sadee W. (2000). Implications of the genetics revolution for health services research. Pharmacogenomics and improvements in drug therapy. *Health Serv Res* 35: 1-12.
154. Chaix C, Holtzer C, Phillips K, Durand- Zaleski I, Stansell J. (2000). HIV-1 drug resistance genotyping: A review of clinical and economic issues. *Pharmacoeconomics* 18: 425-433.
155. Schmetz G, Aslanidenis C, Lackner KJ.(2001). Pharmacogenomics: Implications for laboratory medicine. *Clin Chim Acta* 308: 43- 53.
156. Brian BS, Margo H, Jefferey h. (2001). Clinical application of pharmacogenetics. *Trends in Molecular Medicine* .7(5): 201-204.
157. Cummings J.L, Frank J.C, Cherry D, Kohatzu D.N, Kemp B, Hewett L, Mittman B. (2002). Guidelines for managing Alzheimer's disease . Part II. Treatment. *Am Fam Physician* 65:2263- 2272.
158. Kelly C, Harvey R, Cayton H. (1997). Drug treatment for Alzheimer disease. *BMJ* 314: 693- 694.
159. Lovestone S, Graham N, Howard R. (1997). Guidelines of drug treatments for Alzheimer disease. *The Lancet* 350: 232- 233.
160. Poirier J, Delisle MC, Quirion R, Aubert I, Farlow M, Lahiri D, Hui S, Bertram P, Narbortoglu J, Bilfix BM, Gauthier S. (1995). Apolipoprotein E4 allele as a predictor of a cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 92: 12260-12264.
161. Doris A. (1999). Depressive illness. *Lancet*. 354(9187): 1369 – 75.
162. Richelson E. (2001). Pharmacokinetic drug interactions of new antidepressants: A review of effects on the metabolism of other drugs. *Mayo Clin Proc* 72: 835- 847.
163. Golberg RJ. (1996). The P450 system: Definition and relevance to the use of antidepressants in medical practice. *Arch Fam Med* 5:406-12.

164. Steimer W, Muller B, Leucht S, Kissling W. (2001). Pharmacogenetics: A new diagnostic tool in the management of antidepressive drug therapy. *Clin Chim Acta* 308 (1-2): 33-41.
165. Pickar D, Rubinow K (2001). Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *Trends Pharmacol Scie* 22:75-83.
166. Gasser T, Müller-Myhsok B, Supala A, Zimmer E, Wieditz G, et al. (1996). The CYP2D6B allele is not overrepresented in a population of German patients with idiopathic Parkinson's disease. *Neurol Neurosurg Psychiatry* 61: 518-520.
167. Weber WW. (2001). Pharmacogenetics on receptor. En: Pharmacogenomic. Editado por Kalow (2001).
168. Zoreba W, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent M, Robinson JL, Priori SG, et al. (1998). Influence of the genotype on the clinical course of the long - QT syndrome. *N Engl J Med* 339: 960 - 965.
169. Flockhart DA. (1998). Pharmacogenomics in Patient care. Conference sponsored by AAC. Pharmacogenetics in cardiology. Abernethyd@grc.nia.nih.gov.
170. Ablin J, Cabili S, Lagziel A, Peretz H. (2002). Warfarin therapy in a patient homozygous for the CYP2C9*3 allele. *JMAJ* 4: 139-141.
171. <http://www.aacc.org/pharmacogenetics/>
Ratain MJ, (1998). Pharmacogenomics in Patient care. Conference sponsored by AAC. Pharmacogenetics in hematology /oncology.
172. Persson I, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. (1997). In vitro kinetics of two human CYP1A1 variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochem Biophys Res Commun* 231(1): 227-30
173. Shak S. (1999). Overview of trastuzumab (Herceptin) anti HER - 2 monoclonal antibody clinical program in HER- 2 overexpressing metastatic breast cancer. Herceptin multinational investigation study group. *Semin Oncol* 26 (suppl 12): 71-77.
174. Rowley JD. (1973). A new consistent abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrina fluorescence and giemsa staining. *Nature* 243: 290 - 293.

175. Melo IV. (1996). The molecular biology of chronic myeloid leukaemia. *Leukemia* 751- 756.
176. Drucker BJ. (2002). ST1571 (Gleevec™) As paradigm for cancer therapy. *Trends in molecular medicine* 8(4): S14- S18.
177. <http://www.gleevec.com/hcp/page/hcp>. Gleevec (imatinib mesylate), formerly Known as ST1571, has gone through a rapid development process.
178. <http://www.fda.gov/bbs/topics/News/2001/New00/39.html>. FDA approves gleevec for leukemia treatment.
179. Lenney W. (1997).The burden of pediatric asthma. *Pediatr. Pulmonal Suppl* 15: 13-16.
180. Weiss KB; Sullivan SD. (2001). The healths economics of asthmaand rhinitis. Assessing the economic impact. *J Allergy Clin Immunol* 107: 3-8.
181. Drazen JM, Israel E y Obyrne PM. (1999). Treatment of athma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med* 127: 472-482.
182. Silverman R. (2000). Treatment of acute asthma. A new look at the old and at the new. *Clin Chest Med* 21: 361 – 379.
183. Liggett SB. (2000). Pharmacogenetics of beta-1-and beta2-adrenergic receptors. *Pharmacology* 61:167-173.
184. Jazwinska EC. (2002). Exploiting human genetic variation in drug discovery and development *A trends guide to genetic variation and genomic medicine*.530-536.
185. Drews J. (2000). Drug discovery: A historical perspective. *Science* 287: 1960-1964.
186. Dean PM, Zanders ED, Bailey DS. (2002). Industrial – Scale, genomics – based drug design and discovery. *A trends guide to genetic variation and genomic medicine*. 537-542.
187. Shi MM, Blavins MR, De la Iglesia F. (2001). Pharmacogenetic application in drug development clinical trials. *Drug Metab Dispos* 29: 591 – 595.
188. Cowley AW. (1998). The emergence of physiological Genomics. INABIS 5th Internet World Congress on Biomedical Sciences, Canada.
189. Persidis A. (1998). Proteomics. *Nat Biotechnol*. 16(4): 393.
190. Wallace RW. (1997). DNA on a chip: Serving up the genome for diagnosticand research. *Mol Med Today* 3(9): 384- 389.

191. Brazma A, Velu J. (2000). Gene expression data analyses. *FEBS Letters* 480: 17-24.
192. Bloom F. (1998). Breakthroughs. *Science* 282 (5397): 2193 – 2161.
193. Martín- SánchezF, López CG. (1998). Tecnologías basadas en biochips. Aplicaciones en diagnóstico clínico e investigación biomédica. II Simposium Internacional sobre Diagnóstico Genético en medicina. Madrid.
194. Gershon D. (1997). Bioinformatics in a post – genomics age. *Nature* 389: 417 – 418.
195. Ermolaeva O. (1998). Data management and analysis for expression array. *Nat Genet* 20(1): 19- 23.
196. <http://WWW.ornl.gov/hgmis/elsj/elsj.html>. Ethical, Legal and Social Issues: Marshall Implications surrounding use of genome data.
197. <http://WWW.4.od.nih.gov/oba/sacgt/reports/scagtfinal.pdf.2000>. Institute for health care research and policy, Georgetown University. Health Policy Project. The State of Health Privacy: an Uneven Terrain.
198. Robertson AJ. (2001). Consent and privacy in pharmacogenetic testing. *Nature Genet* 28: 207- 209.
199. RosesAD. (2000). Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 405. 857-865.
200. Angel M. (2000). The pharmaceutical industry. To whom is it accountable? *N Eng J Med* 342: 102-1904.
201. Issa MA. (2000). Ethical considerations in clinical pharmacogenomics research. Elsevier *Science* 21: 247-249.
202. <http://WWW.variagenics.com/company/pgbackground.html>. Pharmacogenomics in clinical development.
203. RosesAD. (2001). Pharmacogenetics. *Human Molecular Genetics*: 10 (20): 2261- 2267.
204. Marshall E. (2001). Company plans to bank human DNA profiles. *Science* 291: 57.
205. Emanuel EJ, Wendle D & Grady C. (2000). What makes clinical research ethical? *J AM Med Assoc* 283: 2701- 2711.
206. Rothstein AM & Epps GP. (2001). Ethical and legal implications of pharmacogenomics *Nature* 2: 228-231.

207. RichmondMH. (1999). **Human Genomics: Prospects for Health Care and Public Policy** En: **Pharmaceutical Partners for Better Healthcare**. England.
208. Burgess MM. (2001). **Beyond consent: ethical and social issues in genetic testing**. *Nature* 2: 147- 151.
209. Weijer C. (1999). **Protecting communities in research: Philosophical and pragmatic challenges**. *Cam Q Health Ethics* 8: 501-513.

INDICE DE FIGURAS

Fig 1- Reacciones de hidrólisis de la succinilcolina y de la procaina	10
Fig 2- Tránsito de un fármaco a través del cuerpo humano	13
Fig 3- Principales DME de fase I y fase II	14
Fig 4- Diagrama del destino de los fármacos que entran a la célula	16
Fig 5- Interacción entre factores genéticos, ambientales y de desarrollo que causan variación individual en la respuesta a los fármacos	19
Fig 6- Línea del tiempo de los principales avances en el conocimiento del genoma humano	38
Fig 7- Estructura del receptor beta2- adrenérgico y mutaciones asociadas con asma	60
Fig 8- Proporción de los tipos de blancos bioquímicos a los que están dirigidos los fármacos de las terapias actuales	62
Fig 9- Ejemplo de un chip de DNA	67

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. - Variantes alélicas de enzimas metabolizadoras de fármacos implicados en reacciones adversas a los fármacos	18
Tabla 2. - Características de las ADR de tipo A y tipo B	20
Tabla 3. - Fármacos comúnmente identificados en estudios de reacciones adversas	22
Tabla 4. - Inhibidores e inductores de los CYP450	27
Tabla 5. - El TSC	45
Tabla 6. - Criterios para evaluar el impacto potencial de la información farmacogenómica en la reducción de reacciones adversas a los fármacos (ADR)	49
Tabla 7. - Lista para evaluar el potencial de la farmacogenómica en la reducción de las reacciones adversas	50
Tabla 8. - Ejemplo de polimorfismos genéticos relevantes clínicamente que influyen en el metabolismo de fármacos y sus efectos	51
Tabla 9. - Antidepresivos metabolizados por el CYP 2D6	53
Tabla 10. - Selección de genes en los cuales la variación polimórfica podría contribuir en la variabilidad en la respuesta en asma	59
Tabla 11 - Protecciones para las pruebas farmacogenéticas	75