



SUMARIO

Polimorfismos genéticos y respuesta farmacológica I: enzimas biotransformadoras 101

POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y RESPUESTA FARMACOLÓGICA I: ENZIMAS BIOTRANSFORMADORAS.

Una de las aventuras más apasionantes de la actividad científica es adentrarse en el sustrato bioquímico, molecular y genético que subyace a la individualidad. Que todos nosotros somos diferentes es evidente, pero conocer en qué, por qué y cómo esa variabilidad puede determinar las diferentes formas de enfermar, de envejecer, de curar y en suma de vivir, es, en nuestra humilde opinión, el gran reto, el reto final de la medicina. Y cada una de las especialidades de la medicina lo investiga, analiza y aplica desde su propia metodología y enfoque. La investigación del porqué los individuos responden de forma diferente a la administración de medicamentos y en qué medida la variabilidad genética es la responsable de las diferencias observadas en la eficacia terapéutica y en el riesgo de respuestas adversas, es el objetivo de una parte de la farmacología llamada farmacogenética. El servicio de farmacología clínica de nuestro hospital tiene, desde hace muchos años, un interés especial en esta área de la farmacología sobre la que ha realizado y está realizando algunas interesantes investigaciones. Aunque por el momento, las aplicaciones clínicas de lo que sabemos no son muy numerosas y el tema podría parecer un poco denso para otros especialistas, nos ha parecido que las mentes de nuestros lectores, frescas y despejadas tras las vacaciones, podrían afrontar o incluso agradecer esta pequeña incursión por los fundamentos teóricos de la farmacogenética y su repercusión en la clínica. Debido a su extensión el artículo será publicado en dos números de nuestro boletín.

Introducción

Hacia mediados de la década de los 60, diferentes estudios de tipo farmacológico y bioquímico demostraron diferencias en el aclaramiento de isoniazida y sulfametazina en seres humanos tanto *in vivo* como *in vitro*, en preparados hepáticos. Se demostró pos-

La farmacogenética estudia cómo la variabilidad genética de los individuos y grupos poblacionales afecta a la respuesta a los medicamentos.

Esta variabilidad genética puede afectar a las enzimas metabolizadoras de fármacos o a las dianas de la acción farmacológica (receptores, efectores, etc.).

La repercusión clínica de esta variabilidad es obvia e importante pero su modificación, utilización terapéutica y control clínico, por el momento es escasa.

teriormente que tales variaciones eran debidas a variantes genéticas (polimorfismos) en la actividad de un enzima, la N-acetiltransferasa (NAT). Posteriormente se ha observado que estos polimorfismos no sólo pueden implicar a los genes que codifican las enzimas biotransformadoras afectando así la velocidad de metabolización de medicamentos, sino que también pueden afectar a los genes codificadores de las dianas farmacológicas (receptores y sistemas efectores asociados, enzimas y transportadores de fármacos) provocando modificaciones cuantitativas o cualitativas en la respuesta farmacológica y quizá gran parte de los efectos indeseables que presentan algunos individuos.

Existen diferencias de la repercusión en la práctica clínica de los polimorfismos genéticos de las enzimas biotransformadoras de fármacos y de las dianas de la acción farmacológica, siendo la repercusión menor para estas últimas. En el caso del metabolismo de un fármaco, un polimorfismo que afecte a un único enzima, particularmente los que llevan a su inactivación, puede tener efectos intensos en la farmacocinética del producto, y consiguientemente en su eficacia y riesgo de toxicidad.

No ocurre lo mismo con los efectos farmacológicos, pues la respuesta a un fármaco está influenciada por numerosas proteínas, comprendiendo aquellas a las que se liga el fármaco (receptores, enzimas, transportadores), las proteínas implicadas en la traducción de la señal (proteínas efectoras) y aquellas proteínas involucradas en la fisiopatología de la enfermedad. Por este motivo, el tipo y la variabilidad de la respuesta farmacológica se explica mejor por su carácter multigénico, de modo que para poder establecer previsiones más precisas de la respuesta individual se hace necesario el estudio del haplotipo (estudio secuencial de búsqueda de alelos SNP (single nucleotide polymorphism) en una región del cromosoma) más que la identificación de SNP aislados.

En este boletín abordamos el tema de polimorfismos genéticos de las enzimas biotransformadoras y en el número siguiente los que afectan a las dianas farmacológicas.

1. POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE LAS ENZIMAS BIOTRANSFORMADORAS

Una de las razones del porqué los individuos responden de forma diferente a los fármacos, tanto en términos de eficacia terapéutica como de reacciones adversas, es la variación genética en las enzimas biotransformadoras de xenobióticos (fármacos y productos tóxicos ambientales), como las isoenzimas del citocromo P-450 (CYP), glucuronil transferasas, n-acetil transferasas, glutatión transferasas, etc.

Desde un punto de vista general, en cuanto a la capacidad metabólica de xenobióticos de los organismos humanos, los individuos pueden ser clasificados de acuerdo con la tasa metabólica (TM) en metabolizadores rápidos (MR), los más frecuentes, y los metabolizadores lentos (ML), estos últimos usualmente asociados a la existencia de polimorfismo genético¹. Para determinar ésta TM en cada una de las vías metabólicas en los individuos empleamos fármacos que utilizan esas vías y que llamamos sondas. El desarrollo reciente de nuevas técnicas, como el análisis de polimorfismo de conformación de hebra única de ADN amplificado por PCR (PCR-SSCP), permite una identificación más discriminativa de mutaciones en el ADN. Aprovecha el hecho de que la movilidad electroforética del ADN, en condiciones de no desnaturalización, varía en función de su tamaño y forma, y éstas a su vez son consecuencia de la mutación²

Las isoenzimas CYP son el grupo mejor estudiado y las que han adquirido más relevancia por su influencia en los procesos de biotransformación no sólo de xenobióticos, sino también de sustancias endógenas como las hormonas esteroideas. Han sido clonadas, secuenciadas y caracterizadas has-

ta el momento más de 50 isoenzimas de citocromo P-450 en el ser humano, y de éstas, alrededor de media docena (como CYP1A2, CYP2A6, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E6 y CYP3A4) están relacionadas con la oxidación de un gran número de sustratos xenobióticos. Son responsables de alrededor del 90% de los procesos de transformación metabólica que sufren los fármacos en el organismo, y además, la mayor parte de los productos químicos ambientales son sustratos potenciales del sistema CYP. El orden de implicación de los diferentes isoenzimas del CYP, en la biotransformación oxidativa de los fármacos habitualmente empleados en terapéutica, es el siguiente: CYP3A4 (50%), CYP2D6 (20%), CYP2C9 y CYP2C19 (15%). Otras vías metabólicas, cuya incidencia en el metabolismo del conjunto de los fármacos es menor son: CYP2E1, CYP1A2, CYP2A6, y otras vías no identificadas.

Se ha demostrado presencia de polimorfismo genético en CYP1A1, CYP2A6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 y CYP3A5. CYP2E6 y CYP3A4 no parecen presentar polimorfismo genético. Así, se considera que alrededor del 40% del metabolismo de los fármacos sustratos del CYP se lleva a cabo por enzimas polimórficos. Los polimorfismos, generados por mutaciones en los genes codificadores de estas enzimas provocan alteraciones cualitativas y cuantitativas en la expresión de la actividad enzimática por medio de múltiples mecanismos moleculares. Las que presentan un mayor interés por el gran número de sustratos que afectan por metabolismo oxidativo, son las subfamilias CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19, cuyos sustratos más característicos, y utilizados para el fenotipado, son la esparteína/debrisoquina, la warfarina y la mefenitoína respectivamente (tabla 1).

Veamos ahora las vías metabólicas más afectadas por polimorfismos genéticos:

Polimorfismo acetilador

El descubrimiento de dos diferentes clases de poblaciones respecto a la velocidad de acetilación de la isoniazida, demostrables por distribuciones de frecuencias bimodal y trimodal, introdujo el concepto de acetiladores rápidos y lentos. El tipo de acetilador es un factor pronóstico ampliamente reconocido en la predicción de la susceptibilidad individual, o de la toxicidad, a ciertos agentes terapéuticos (isoniazida, sulfonamidas, procainamida, hidralazina, etc.), productos industriales con potencial carcinógeno (benzidina y sus análogos, 4-aminofenil, 2-aminofluoreno), y aminas heterocíclicas con propiedades mutágenas derivadas de carne y pescado preparados a la brasa. También el tipo acetilador podrá condicionar la ineffectividad tera-

péutica de la isoniazida e hidralazina en la tuberculosis e hipertensión arterial respectivamente.

Al propio tiempo que se destacaba la eficacia terapéutica de la isoniazida, se observó en más de un tercio de los pacientes expuestos a dosis altas del fármaco, un tipo de neuritis dolorosa progresiva caracterizada por afectar de modo preferente a las manos y extremidades. Estudios del metabolismo de la isoniazida revelaron que la incidencia de los síntomas tóxicos era mayor en los denominados acetiladores lentos; mientras que los metabolizadores rápidos no resultaban afectados³. Estudios en gemelos, familias y grupos étnicos llevados a cabo en la década de los 50, apuntaban a que la capacidad acetiladora es una herencia de tipo autosómico recesivo. Trabajos posteriores sugirieron que los acetiladores lentos eran portadores homocigóticos del gen acetilador lento, y los acetiladores rápidos mostraron ser homocigóticos o heterocigóticos indistintamente para el gen acetilador rápido. Los estudios étnicos indicaron que una proporción entre el 40 y el 60% de los caucásicos y afro-americanos eran acetiladores lentos, mientras que una proporción del 80-90% de los japoneses y esquimales canadienses eran acetiladores rápidos⁴.

Los humanos y otros mamíferos dos *loci* funcionales N-acetiltransferasa (NAT): NAT1 y NAT2. Las variantes alélicas en el *locus* NAT2 suponen el polimorfismo en las distribuciones bimodales y trimodales observadas en la acetilación de la isoniazida y sulfametazina en seres humanos. Los errores congénitos en el *locus* NAT2 son responsables del polimorfismo acetilador típico. También han sido identificadas alelos variantes en el *locus* NAT1. Las consecuencias de la variación farmacogenética de estas enzimas comprenden: 1) Cinética alterada de sustratos farmacológicos específicos; 2) Interacciones fármaco-fármaco, resultado de la cinética alterada; 3) Reacciones adversas idiosincrásicas. Se ha comprobado en el caso de las sulfonamidas que diferencias en las vías metabólicas pueden incrementar la posibilidad de uniones covalentes entre los metabolitos reactivos del fármaco y las macromoléculas celulares provocando citotoxicidad y respuestas inmunitarias a los neoantígenos. La acetilación lenta de las sulfonamidas por NAT2 es un factor de riesgo para dichas reacciones⁵.

La importancia del polimorfismo NAT1* frente a la del NAT2* no está todavía establecida. No obstante, ambos polimorfismos parecen estar implicados en la bioactivación de arilaminas con potencial carcinógeno (2-aminofluoreno) y de mutágenos heterocíclicos alimenticios, o sus metabolitos reactivos. En la medida que la variación genética en ambos *loci* NAT puede ejercer una influencia en la activación metabólica de estas sustancias tóxicas, es plausible que los diferentes genotipos NAT1 y NAT2

determinen diferentes grados de sensibilidad a estos carcinógenos y mutágenos alimenticios³. En este sentido, un estudio interétnico sugirió un mecanismo de interacción sinérgica entre NAT2*4 y CYP1A2, y entre NAT2*4 y la variante nula de glutatión-S-transferasa (GST1*0) en la predisposición a cáncer de colon. También la variabilidad en el genotipo NAT1 parece estar asociada a la predisposición del cáncer de colon y de vejiga³. Así mismo, el fenotipo acetilador lento parece estar asociado a un incremento del cáncer de mama en mujeres con hábito de fumar⁶.

Polimorfismos oxidativos⁷

1.- Polimorfismo CYP2D6

Este polimorfismo es debido a mutaciones del gen codificador CYP2D6, que se transmite como rasgo autosómico recesivo. A partir de 1985 la sonda para este polimorfismo, el test de oxidación de debrisoquina/esparteína para el cálculo de la (TM), –definida como el cociente de las concentraciones de fármaco inalterado: fármaco hidroxilado– fue paulatinamente sustituido por dextrometorfano⁸. Estudios sobre diferencias étnicas en el polimorfismo genético de debrisoquina/esparteína mostraron las siguientes proporciones de ML: 1% en japoneses o egipcios; 5-10% en caucásicos (América del Norte y norte de Europa; 6% de los españoles), pero no se obtuvo evidencia de polimorfismo en los indios Cuna de Panamá¹.

Las consecuencias clínicas de este polimorfismo varían. En los ML, la capacidad metabólica es impedida por otros fármacos cuya metabolización depende del enzima CYP2D6 por lo que la toxicidad de más de 30 fármacos frecuentemente utilizados (β -bloqueantes, antipsicóticos, antidepresivos, antiarrítmicos, etc.) puede resultar incrementada en estos individuos, y de un modo particular cuando los fármacos utilizados presentan un estrecho rango terapéutico^{9,10}. El aumento de la intensidad e incidencia en ML de toxicidad cardíaca por antidepresivos tricíclicos, de las reacciones extrapiramidales por antipsicóticos, o de la neuropatía periférica por perhexilina, son ejemplos representativos de esta situación.

También puede ocurrir una formación reducida del metabolito activo como se observa en ML con la codeína y la encainida. En el caso de la codeína (pro-fármaco), se originan cantidades escasas de morfina (producto activo); de este modo en estos sujetos la acción analgésica es inferior que en los MR.

Otra situación reseñable es el efecto de la quinidina. La quinidina, aún no siendo sustrato, es un potente inhibidor de esta enzima y las TM de los que toman este fármaco pueden ser falsamente interpretadas como de ML. Por último, los ML pueden también presentar sintomatología adversa por

interacciones farmacológicas entre pares de fármacos diferentes que utilizan esta vía (p. ej., asociación de antidepresivos), o también entre pares enantiomorfos de un simple agente administrado en forma de racemato (propafenona). Podríamos considerar hasta cierto punto una compensación biológica el que algunos estudios han observado una correlación negativa entre la condición de ML de debrisoquina/esparteína y cáncer pulmonar¹¹.

Un pequeño porcentaje de la población humana presenta un metabolismo muy rápido con $TM < 0,2$. Se piensa que el aumento en la TM era debida más a un incremento de la concentración de enzima que a un incremento en su actividad metabólica; pero sigue sin conocerse el mecanismo de la amplificación¹². Si bien se ignoran en gran medida las consecuencias clínicas de esta variante, se observó en estas circunstancias una falta de respuesta terapéutica a ciertos antidepresivos tricíclicos como clorimipramina y nortriptilina.

Conviene resaltar que el polimorfismo genético de CYP2D6 puede presentar un grado diverso de variabilidad en la selectividad por los diferentes sustratos farmacológicos, y variar la importancia de la vía metabólica dependiente de este enzima en el proceso global de eliminación de un determinado fármaco. De ahí que las implicaciones clínicas del polimorfismo deberán ser valoradas individualmente para cada fármaco.

2.- Polimorfismo de CYP2C9

Este polimorfismo está asociado a la biotransformación de numerosos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y otros fármacos. Se ha demostrado una asociación entre aumento de la sensibilidad y necesidad de reducir la dosis de warfarina y la presencia de los alelos variantes CYP2C9*2 (61%) y CYP2C9*3 (86%)¹³ y también CYP2A6*2¹⁴. Como sondas se emplean la tolbutamida, midiendo su metabolito metilhidroxilado, o el diclofenaco, midiendo la concentración de su metabolito 4-hidroxiciclofenaco^{15,16}.

3.- Polimorfismo de CYP2C19

Este polimorfismo genético es detectado mediante la 4-hidroxilación de la S-mefenitoína, si bien, desde hace unos años se viene utilizando el omeprazol como sonda. El principal defecto molecular detectado consiste en una mutación de un par de bases A→G en el exón 5 del CYP2C19, designada como CYP2C19_{m1}. Otra mutación denominada CYP2C19_{m2} consiste en una transición de par G→A en el exón 4 del CYP2C19. En ambos casos se produce un codón de detención prematuro y la aparición de un enzima totalmente inactivo^{17,18}. El fenotipo ML es homocigótico y es transmitido como rasgo autosómico recesivo. El fenotipo MR consis-

te en genotipos dominantes homo o heterocigotos, pero no son habitualmente discriminados por los procedimientos disponibles de fenotipado.

Existen marcadas diferencias etnogeográficas en la prevalencia de ML de mefenitoína^{18,19}. En caucásicos es de aproximadamente el 4%, mientras que en asiáticos (japoneses, chinos y coreanos) es del 18-23%; y en los indios Cuna de Panamá, el rasgo está ausente.

Como consecuencias clínicas encontramos que constituye un factor determinante de la variabilidad interindividual en la respuesta terapéutica y manifestaciones tóxicas de la mefenitoína pues, en la medida que la mayor parte de los efectos biológicos de la mefenitoína son dosis dependientes, los individuos ML están predispuestos a diversos efectos adversos de este agente como la somnolencia, y una mayor frecuencia de erupción, fiebre, adenopatía generalizada, mielotoxicidad y discrasias sanguíneas graves.

Aparte de la mefenitoína existen otros sustratos que también pueden sufrir ML como consecuencia de polimorfismo genético: citalopram²⁰, diazepam, hexobarbital²¹, moclobemida, omeprazol²² y proguanil²³. La terolidina, un fármaco antimuscarínico recientemente retirado del mercado por su cardiotoxicidad (efecto prolongador del intervalo QT dosis dependiente) es oxidado por la intervención conjunta de CYP2D6 y CYP2C19. La presencia del alelo CYP2C19*2 parece contribuir a los efectos cardiotóxicos de la terolidina²⁴ pero no la condición de ML para el test de debrisoquina (sonda del CYP2D6).

Glucuroniltransferasas

Los miembros de esta familia de enzimas (UDP-glucuroniltransferasas –UDPGT–) catalizan la conjugación con ácido glucurónico de numerosos compuestos endógenos (bilirrubina, hormonas esteroideas, vitaminas liposolubles, neuroaminas, etc.) y exógenos (muy diversos fármacos, carcinógenos, productos de origen vegetal, agentes tóxicos ambientales). En general estos compuestos sufren previamente un proceso de metabolización de fase I (oxidación el más frecuente) que facilita la conjugación con glucuronato. Sin embargo, un buen número de ellos se conjugan directamente al poseer grupos reactivos (carboxilo, hidroxilo, amino) que permiten su interacción directa con la glucuroniltransferasa²⁵.

La hiperbilirrubinemia no conjugada es la expresión característica de los defectos constitutivos de la UDPGT, y están representados por los síndromes de Gilbert y de Crigler-Najjar, no habiendo sido elucidadas todavía sus bases moleculares²⁶.

Tabla 1.- Principales isoenzimas de CYP que presentan polimorfismo genético y sus correspondientes sustratos, inhibidores e inductores.

Enzimas (sustratos característicos)	Sustratos, inhibidores e inductores
CYP2D6 (esparteína / debrisoquina)	<p><u>Sustratos:</u> Fenacetina, codeína, dextrometorfano, amitriptilina, nortriptilina, imipramina, desipramina, clorimipramina, fenformina, esparteína, flecainida, encainida, propafenona, urapidil, propranolol, bufuralol, metoprolol, guanoxan, perhexilina, clorpromazina, perfenazina, tioridazina, terolidina</p> <p><u>Inhibidores:</u> Amiodarona, celecoxib, cimetidina, clorfeniramina, clorpromazina, cocaína, clorimipramina, fluoxetina, paroxetina, quinidina, ranitidina, ritonavir, terbinafina, hypericum perforatum (hyperforina)</p> <p><u>Inductores:</u> Dexametasona, rifampicina</p>
CIP2C9 (warfarina)	<p><u>Sustratos:</u> (R, S)-Acenocumarol, warfarina, tolbutamida, fenitoína, ibuprofeno, indometacina, naproxeno, diclofenac, losartán, celecoxib, meloxicam, piroxicam, amitriptilina, fluoxetina, sildenafil, torasemida, montelukast, zafirlukast</p> <p><u>Inhibidores:</u> Amiodarona, nicardipina, cimetidina, irbesartán, losartán, fluconazol, miconazol, cloranfenicol, sulfafenazol, fluvastatina, ritonavir, zumo de pomelo, hypericum perforatum (hyperforina)</p> <p><u>Inductores:</u> Carbamacepina, fenobarbital, etanol, rifampicina</p>
CYP2C19 (S-mefenitoína)	<p><u>Sustratos:</u> Omeprazol, bupropion, fenitoína, hexobarbital, mefobarbital, proguanil, citalopram, moclobemida, terolidina, propranolol, clorimipramina, imipramina, amitriptilina, diazepam</p> <p><u>Inhibidores:</u> Cimetidina, felbamato, fluoxetina, fluvoxamina, indometazina, ketoconazol, lansoprazol, moclobemida, nefinavir, omeprazol, paroxetina, ticlopidina</p> <p><u>Inductores:</u> Carbamazepina, prednisona, rifampicina</p>

Glutathiontransferasas (GST)

Los epóxidos son productos de la oxidación metabólica de compuestos endógenos y exógenos con radicales alcanos y arenos (epóxidos del benzo[a]pireno, estireno-7,8-óxido y aflatoxina B1) y poseen potentes propiedades citotóxicas, mutagénicas y carcinógenas²⁷. Su detoxificación y neutralización está mediada por conjugación con glutatión reducido (GSH) reacción catalizada por la glutatión-S-transferasa (GSTs), o por epóxido hidroxilasas. Compuestos hidrofóbicos como hemo, bilirrubina, hormonas esteroideas pueden ser también fijados por las GSTs permitiendo su almacenamiento intracelular. Dada su actividad catalítica, las GSTs prestan a la célula mecanismos protectores frente a los compuestos tóxicos de naturaleza electrofílica (tanto productos endógenos como xenobióticos).

Por otro lado, las GSTs son amplificadas en ciertos tipos de tumores y están implicadas en la aparición de resistencias a antineoplásicos. Las diferentes familias GST –*alfa*, *mu*, *pi* y *teta*– están reguladas por al menos siete *loci*. En el ser humano las familias *mu* (GSTM1) y *teta* (GSTT1) presentan polimorfismo y ambas pueden originar genotipos nulos²⁸. El alelo GSTM1 nulo se da con una frecuencia del 30-60% en caucasianos, y su transmisión es autosómica recesiva. El genotipo nulo de GSTT1 está presente en alrededor del 38% de los caucasianos.

La isoforma *mu* (GSTM1) cataliza la conjugación con estos epóxidos con mucha mayor eficiencia que las isoformas *alfa* o *pi*. La deficiencia de isofo-

mas *mu* frecuentemente detectada en pacientes con cáncer de pulmón, ha llevado a proponer a esta enzima como marcador biológico de la predisposición a padecer este tipo de cáncer²⁹; y se observó que el genotipo nulo *mu* estaba asociado al padecimiento de cáncer de colon y a una mayor susceptibilidad a la lesión hepática producida por aflatoxina B1.

Pseudocolinesterasas atípicas

Pocos años después del descubrimiento de la succinilcolina (suxametonio) como agente bloqueante neuromuscular de acción despolarizante, fueron observados una serie de casos en los que en lugar de la característica acción paralizante muscular fugaz se producía una respuesta exagerada con apnea prolongada. Se sugirió ya entonces que la deficiencia de la enzima metabolizadora de la succinilcolina, la pseudocolinesterasa, era de carácter familiar y probablemente hereditaria³⁰.

La forma atípica de la pseudocolinesterasa plasmática difiere de la normal tan solo en un aminoácido (Asp->Gly en el codon 70), como resultado de una mutación también puntual genética en el lugar 209 (GAT->GGT). Existen unas seis variantes adicionales de muy baja frecuencia caracterizadas también por modificaciones puntuales. Dentro de ellas, una es “silente”, y carece de un residuo de serina en el sitio activo de la enzima.

En ciertos individuos que presentan niveles anormalmente elevados de la enzima se dan dos formas: una, caracterizada por una elevación entorno

a un 30%, que confiere resistencia al efecto bloqueante neuromuscular de la succinilcolina; y la otra, se distingue por cursar con un incremento triple del nivel habitual de la enzima.

Alcohol deshidrogenasas

Existen al menos cinco genes estructurales de la alcohol deshidrogenasa (ADH) ADH1, ADH2, ADH3, ADH4, ADH5, que dan lugar a ocho subunidades que combinadas por pares forman tres grupos diferentes de isoenzimas ADH. De acuerdo con su composición, propiedades electroforéticas y cinéticas, fueron designadas como clase I, clase II y clase III. De éstas, la de clase I contribuye mucho más que las de clase II o III al metabolismo del alcohol (conversión oxidativa a acetaldehído). Los tres *loci* de clase I –ADH1, ADH2 y ADH3– dan lugar a un máximo de 9 genotipos (3 homocigotos “típicos”, 3 heterocigotos “atípicos” y 3 homocigotos “atípicos”), y su distribución es muy diferente en las diferentes etnias: entre el 5 y 20% de la población centroeuropea es homocigota “atípica”; mientras que esta misma variante está presente en el 85% de los japoneses, chinos y otras poblaciones de origen mongoloide³¹ La mayor absorción del alcohol en la mujer, y por lo tanto una biodisponibilidad más completa, que en el hombre, estaría relacionada en buena medida con la menor actividad de la ADH gástrica en la mujer³².

La ADH no sólo participa en la oxidación de alcoholes alifáticos y cíclicos; otras sustancias como ácidos grasos ω -oxidados, ácidos 2-enoicos y sus respectivos aldehídos, y los glucósidos cardiotónicos como la digoxina, son también sustratos de la enzima. Existe una competición entre el alcohol y los compuestos digitálicos frente a la ADH que determina un enlentecimiento en el metabolismo hepático de estos cardiotónicos y por lo tanto incrementar el riesgo de aparición de efectos adversos. Las formas genéticamente alteradas de las isoenzimas ADH están asociadas a una diversidad de diferencias observadas entre alcohólicos y no alcohólicos afectos de lesión hepática y neuritis.

Aldehído deshidrogenasas

Las aldehído deshidrogenasas (ALDH) son las enzimas responsables del paso de acetaldehído a ácido acético. Las ALDH de mamífero se clasifican en por lo menos siete grupos diferentes, según su estructura cuaternaria y otras propiedades físico-químicas. Las principales isoenzimas hepáticas son ALDH1 y ALDH2, estando también presente la ALDH3 en los hematíes³³.

La isoenzima cuyo polimorfismo está más ampliamente distribuido es la ALDH2: Entre un 8 y un 45% de poblaciones de origen mongoloide (chinos, ja-

poneses, indios sudamericanos) presentan polimorfismo; mientras que las poblaciones caucásica y negra no muestran deficiencia de ALDH2.

La vasodilatación tras consumo de alcohol manifestada como bochorno facial es una reacción aguda que se asocia a formas variantes de ALDH2. Un estudio en japoneses reveló que los individuos homocigotos de la forma atípica de ALDH2 y de la mayor parte de los heterocigotos de este polimorfismo, presentaban bochorno facial; por el contrario los homocigotos de la forma típica de ALDH2 no experimentaban este efecto. Alrededor del 85% de los japoneses que presentaban la reacción poseían una variante inactiva de ALDH2³⁴.

Polimorfismos en diversas isoformas de aldehído deshidrogenasas (ALDH1, ALDH3, ALDH4) pueden estar implicadas en el déficit de producción de carboxifosfamida (CRF), uno de los principales metabolitos del agente alquilante antitumoral ciclofosfamida (CF).

El déficit o la ausencia de ALDH –característica de la escasa metabolización de CF a CRF– desvía el metabolismo de CF hacia la producción de compuestos más tóxicos como la mostaza fosforamida y la acroleína, responsable esta última de la cistitis hemorrágica que puede acompañar a la terapia con CF^{35,36}. La frecuencia del déficit de ALDH asociada al metabolismo de CF es alrededor de un 35%.

Tiopurinmetiltransferasas

Se han identificado por lo menos cuatro metiltransferasas que catalizan procesos metabólicos de S-metilación, O-metilación y N-metilación en diferentes tejidos sobre muy diferentes sustratos (neuroaminas, esteroides, agentes citostáticos). En el ser humano existen dos vías de S-metilación: la de la tiopurinmetiltransferasa (TPMT) y la de la tiometiltransferasa (TMP). La TMP cataliza la S-metilación de sustratos con radical sulfidril alifático como la d-penicilamida y el captopril. El polimorfismo genético y las consecuencias sobre el metabolismo de los diferentes sustratos mejor conocido es el de la vía TPMT. Ésta es una enzima citoplasmática que cataliza la conjugación de diferentes compuestos aromáticos y heterociclos con radical sulfhidrido con el radical metilo, donado éste por la S-adenosilmetionina. Antineoplásicos e inmunodepresores diversos son metabolizados por esta vía. Aquellos pacientes con déficit de TPMT estarán predispuestos a la toxicidad medular de estos agentes, mientras que los individuos que presentan niveles muy elevados de TPMT no responden satisfactoriamente a la terapia, presentando altos índices de recaída.

El análisis de la actividad enzimática de TPMT procedente de hematíes en poblaciones del norte de

Europa reveló que existen tres diferentes fenotipos: Los de alta actividad enzimática (aproximadamente el 89%), los que presentan actividad intermedia (alrededor del 11%) y los que apenas presentan actividad, o incluso está ausente (0,33%). La TPMT de hematíes está regulada por la expresión de dos alelos de un *locus* único autosómico. La frecuencia del alelo relacionado con actividad alta fue de 0,941, y el relacionado con la escasa o nula actividad presentó una frecuencia de 0,059³⁷.

Las cefalosporinas moxalactam, cefamandol y cefoperazona, y menos frecuentemente la cefazolina, pueden ocasionar hipoprotrombinemia y hemorragia. El metabolito sulfidrílico de moxalactam, cefamandol y cefoperazona, el 1-metiltetrazol-5-tiol (MTT), al inhibir la gamma-carboxilación del ácido glutámico provocará disminución de los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K, y el riesgo hemorrágico consiguiente. El 2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-tiol (MTD), metabolito sulfidrílico de la cefazolina, ocasionaría el mismo efecto. El déficit de TPMT podría estar asociado a la toxicidad hemorrágica de estas cefalosporinas al ser MTT y MTD sustratos de la S-metilación catalizada por TPMT, y al hecho de que sus correspondientes metabolitos S-metilados poseen la mitad o menos de la potencia inhibidora de MTT y MTD sobre la γ -carboxilación del ácido glutámico³⁸. También se detectó que los agentes antileucémicos 6-mercaptopurina y 6-tioguanina, así como el agente inmunodepresor azatioprina -que se biotransforma en 6-mercaptopurina- manifiestan un mayor efecto mielodepresor en personas con déficit de TPMT.

El conocimiento previo de la actividad TPMT es vital para prevenir problemas graves de toxicidad, o de inactividad terapéutica. Adultos y niños con niveles altos de TPMT toleran bien los tratamientos con cefalosporinas, pero la respuesta antibacteriana observada es menor, por lo que las recaídas son más frecuentes. Por el contrario, tal como se indicó, los individuos con déficit hereditario de TPMT ex-

perimentan una mayor toxicidad medular por 6-mercaptopurina y azatioprina, así como una mayor predisposición a hemorragia por cefalosporinas.

Otros polimorfismos genéticos asociados a un incremento de toxicidad de los citostáticos

Los análogos de las bases pirimidínicas (uracilo, timina) entre los que se encuentra el agente citostático 5-fluorouracilo (5-FU) son metabolizados por la dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), cuyo déficit congénito determina una exagerada toxicidad al 5-FU, acompañada de un incremento en su $t_{1/2}$ biológico y la consiguiente sobreexposición al citostático de tejidos en rápida mitosis (médula ósea, mucosa del tracto digestivo) que son los más susceptibles^{39,40}. El déficit del metabolismo más acusado se dará en las personas con déficit homocigótico, y los heterocigóticos pueden presentar un aumento del riesgo de toxicidad⁸⁰. La frecuencia estimada de personas susceptibles oscila entre el 1 y el 3%.

Metabolismo de los fármacos e hipersensibilidad.

La biotransformación de los xenobióticos, desempeña un papel crucial en la etiopatogenia de la hipersensibilidad alérgica. Los metabolitos reactivos producidos en el proceso se comportan como haptenos: se conjugan a proteínas endógenas deviniendo en agentes inmunogénicos. El papel del citocromo P-450 en la síntesis de metabolitos reactivos de fármacos es un mecanismo aceptado para muchas reacciones adversas de tipo inmunológico. Un metabolito electrofílico puede reaccionar con macromoléculas celulares (p. ej., lípidos, proteínas, ácidos nucleicos), provocando lesión celular y toxicidad. La unión covalente de un metabolito reactivo a macromoléculas celulares puede dar lugar a la formación de un hapteno capaz de desencadenar una respuesta inmunitaria celular o humoral, culminando en los síntomas característicos de las reacciones de hipersensibilidad⁴¹.

Referencias bibliográficas

1. Weber WW. Human drug-metabolizing enzyme variants. En: Pharmacogenetics. Motulsky AG, Borow M Edts. Oxford University Press, 1997. 131-239.
2. Broly F, Marez D, Sabbagh N, Legrand M, Millescamps S, Lo Guidice JM, Boone P, Meyer UA. An efficient strategy for detection of known and new mutations of the CYP2D6 gene using a single strand conformation polymorphism analysis. Pharmacogenetics 1995;5:373-384.
3. Spielberg SP. N-acetyltransferases: pharmacogenetics and clinical consequences of polymorphic drug metabolism. J Pharmacokinet Biopharm 1996;24:509-519.
4. Dufour AP, Knight RA, Harris W. Genetics of isoniazid metabolism in Caucasians, Negro and Japanese populations. Science 1964;145:391.
5. Vatsis KP, Weber WW. Structural heterogeneity of Caucasian N-acetyltransferases at the NAT1 gene *locus*. Arch Biochem Biophys 1993;301:71-76.
6. Agúndez JAG, Ladero JM, Oliveira M, Abildúa R, Román JM, Benítez J. Genetic analysis of arylamine N-acetyltransferase polymorphism in breast cancer. Oncology 1995;52:7-11.
7. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. Lancet 1977;1:584-586.
8. Schmid B, Bircher J, Preisig R, Küpfer A. Polymorphic dextromethorphan metabolism: Cosegregation of oxidative O-demethylation with debrisoquin hydroxylation. Clin Pharmacol Ther 1985;38:618-624.

9. Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA. Multiple mutations of the human cytochrome P-450IID6 gene in poor metabolizers of debrisoquine: study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem* 1990;265:17209-17214.
10. Gaedigk A, Blum M, Gaedigk R, Eichelbaum M, Meyer UA. Deletion of the entire cytochrome P-450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet* 1991;48:943-950.
11. Agundez JAG, Martinez C, Ladero JM, Ledesma MC, Ramos JM, Martin R, Rodriguez A, Jara C, Benitez J. Debrisoquin oxidation genotype and susceptibility to lung cancer. *Clin Pharmacol Ther* 1994;55:10-14.
12. Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjoqvist F, Ingelman-Sundberg M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P-450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:11825-11829.
13. Taube, J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000;96:1816-1819.
14. Freeman BD, Zehnbauser BA, McGrath S, Borecki I, Buchman TG. Cytochrome P-450 polymorphisms are associated with reduce warfarin dose. *Surgery* 2000;128:281-285.
15. Bort R, Mace K, Boobis A, Gomez-Lechon MJ, Pfeifer A, Castell J. Hepatic metabolism of diclofenac: role of human CYP in the minor oxidative pathways. *Biochem Pharmacol* 1999;58:787-796.
16. Shimamoto J, Ieri U, Urae A, Kimura M, Irie S, Kubota T, Chiba K, Ishizaki T, Otsubo K, Higuchi S. Lack of differences in diclofenac (a substrate for CYP2C9) pharmacokinetics in healthy volunteers with respect to the single CYP2C9*3 allele. *Eur J Clin Pharmacol* 2000;56:65-68.
17. De Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin in humans. *J Biol Chem* 1994;269:15419-15422.
18. Weber WW. Human drug-metabolizing enzyme variants. En: *Pharmacogenetics*. Motulsky AG, Borrow M Edts. Oxford University Press, 1997;131-239.
19. De Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin in Japanese. *Mol Pharmacol* 1994;46:595-598.
20. Sindrup SH, Brosen K, Hansen MGJ, Aaes-Jorgensen T, Overo KF, Gram LF. Pharmacokinetics of citalopram in relation with the sparteine and the mephenytoin oxidation polymorphisms. *Ther Drug Monit* 1993;15:11-17.
21. Adedoyin A, Prakash C, Blair JA, Wilkinson GR. Stereoselective disposition of hexobarbital and its metabolites: relationship to the S-mephenytoin polymorphism in Caucasian and Chinese subjects. *Pharmacogenetics* 1994;4:27-38.
22. Anderson T, Regardh CG, Lou YC, Zhang Y, Dahl ML, Bertilsson L. Polymorphic hydroxylation of S-mephenytoin and omeprazole metabolism in Caucasian and Chinese subjects. *Pharmacogenetics* 1992;2:25-31.
23. Ward SA, Helsby NA, Skjelbo E, Brosen K, Gram LF, Breckenridge AM. The activation of the biguanide antimalarial proguanil co-segregates with the mephenytoin oxidation polymorphism. *Br J Clin Pharmacol* 1991;31:689-692.
24. Ford GA, Wood SM, Daly AK. CYP2D6 and CYP2C19 genotypes of patients with terolidine cardiotoxicity identified through the yellow card system. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50:77-80.
25. Monaghan N, Povey S, Burchell B, Boxer. Localization of a bile acid UDP-glucuronosyltransferase gene (UGT2B) to chromosome 4 using the polymerase chain reaction. *Genomics* 1992;13:908-909.
26. Ritter, JK, Yeatman, MT, Ferreira P, Owens IS. Identification of a genetic alteration in the code for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in the UGT1 gene complex of a Crigler-Najjar type I patient. *J Clin Invest* 1992;90:150-155.
27. Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, Roush G, Miller DG, Beattie FJ. Isozyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a followup study. *Carcinogenesis* 1990;11:33-36.
28. Wiencke JK, Kelsey KT, Lamela RA, Toscano WA. Human glutathione-S-transferase deficiency as a marker of susceptibility to epoxyde-induced cytogenetic damage. *Cancer Res* 1990;50:1585-1590.
29. Board PG. Biochemical genetics of glutathione-S-transferase in man. *AM J Hum Genet* 1981;33:36-43.
30. Forbat A, Lond MB, Lehman H, Silk E. Prolonged apnea following injection of suc-cinylcholine. *Lancet* 1953;2:1067-1068.
31. Büller R, Hempel J, von Wartburg JP, Jörnvall H. Human alcohol dehydrogenase: structural differences between the b and g subunits suggests parallel duplications in isozyme evolutions and predominant expression of separate gene descendants in livers of different mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:6320-6324.
32. Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *N Engl J Med* 1990;322:95-99.
33. Goedde HW, Agarwald DP. Pharmacogenetics of aldehyde dehydrogenase (ALDH). *Pharmacol Ther* 1990;45:345-371.
34. Shibuya A, Yasunami M, Yoshida A. Genotypes of alcohol and aldehyde dehydrogenases *loci* in Japanese alcohol flushers and nonflushers. *Hum Genet* 1989;2:14-16.
35. Hadidi A-HFA, Coulter CEA, Idle JR. Phenotypically deficient urinary elimination of carboxyphosphamide after cyclophosphamide administration to cancer patients. *Cancer Res* 1988;48:5167-5171.
36. Pedersen-Bjergaard J, Ersboll J, Hansen VL, Sorenson BL, Christofferson K, Hou-Jensen K, Nissen NI, Knudsen JB, Hansen MM. Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1988;318:1028-1032.
37. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet* 1980;32:651-662.
38. Kerremans AL, Lipsky JJ, Van Loon J, Gallego MD, Weinshilboum RM. Cephalosporin-induced hypoprothrombinemia: possible role of thiol methylation of 1-methyl-tetrazole-5-thiol and 2-methyl-1,3,4-thiadiazole-5-thiol. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;235:382-388.
39. Milano G, Etienne M-C. Potential importance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) in cancer chemotherapy. *Pharmacogenetics* 1994;4:301-306.
40. Szumlanski CL, Honcel R, Scott MC, Weinshilboum RM. Human liver thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: biochemical properties, liver-erythrocyte correlation and presence of isozymes. *Pharmacogenetics* 1992;2:148-159.
41. Hess DA, Rieder MJ. The role of reactive drug metabolites in immune-mediated adverse drug reactions. *Ann Pharmacother* 1997;31:1378-1387.