



## FARMACOGENÉTICA EN EL LABORATORIO CLÍNICO ¿UN LUJO O UNA NECESIDAD EN LATINOAMÉRICA?

(Pharmacogenetics in the clinical laboratory ¿a luxury or a necessity in Latin America?).

Angela Roco <sup>1,2,3,a</sup>, Luis Quiñones <sup>2a</sup>, Carla Miranda <sup>2a</sup>, Valentina Squicciarini <sup>3a</sup>, José A.G. Agúndez <sup>4b</sup>, Elena García-Martín <sup>5b</sup>, Iván Moreno <sup>1b</sup>, Iván Saavedra <sup>2c</sup>

### RESUMEN- ABSTRACT

En los últimos años la ciencia y la tecnología del diagnóstico molecular para probar respuestas individuales o idoneidad para un tratamiento farmacológico ha ido en franco avance, de modo que el laboratorio clínico ha evolucionado en complejas tecnologías con este objetivo. Los avances en el estudio de la disciplina farmacogenética nos permiten aseverar que la variabilidad en la respuesta de los pacientes a los medicamentos constituye la regla, y no la excepción, en la gran mayoría de los tratamientos farmacológicos, por lo cual se hace indispensable incorporar en los laboratorios clínicos esta herramienta científica a través de ensayos confiables. Los costos de implementación de análisis de este tipo, vía PCR convencional y/o tiempo real son considerablemente bajos, y justificados, tomando en consideración el costo del ajuste de dosis de medicamentos. La inversión para la implementación de un Laboratorio de Análisis Molecular mayor debe considerar necesariamente un espacio físico que incluya al menos tres áreas: extracción de DNA, realización mezclas de PCR y procesamiento de los resultados, de acuerdo a la normativa internacional, además de la infraestructura básica, el equipamiento y personal capacitado. Por lo tanto, resulta de suma importancia que los laboratorios clínicos asuman estas nuevas responsabilidades, y constituye un deber de la industria farmacéutica y las autoridades de salud el apoyar la investigación científica en este campo.

*During the last years science and technology of molecular diagnostic in order to assay personalized drug response or suitability to a specific pharmacological treatment experienced a rapid development. Therefore, with this subject clinical laboratory has evolved in complex technologies.*

*The advances in pharmacogenetics allow us to point out that variability is the rule and not the exception, in majority of the pharmacological treatments, thus it is essential to incorporate in clinical laboratories this scientific tool through reliable assays.*

*The implementation of PCR and/or RT-PCR analyses is affordable and the cost is justified considering costs for medication adjustment of dose. The investment for the implementation of a Laboratory of Molecular Analysis in clinical centers should consider a necessary surface which must include: DNA extraction area, PCR room and a results processing area, according international guidelines, basic infrastructure and qualified staff.*

*Therefore, it is particularly relevant that clinical laboratories assume these new responsibilities. It constitutes also a duty for the pharmaceutical industry and health authorities to support the scientific research in this field.*

---

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años el laboratorio clínico ha evolucionado en complejas tecnologías con el objetivo del diagnóstico y seguimiento de diversas patologías, monitoreo de la respuesta a una farmacoterapia y desviaciones de lo esperable en estos tratamientos. La colaboración multidisciplinaria de las instituciones de investigación científica, la industria y el gobierno,

para hacer confluir la ciencia y la tecnología al diagnóstico molecular para probar respuestas individuales o idoneidad para un tratamiento farmacológico ha ido en franco avance.

---

Correspondencia a: Angela Roco Arriagada, IFT, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Apartado Postal 70111, Santiago 7, Chile. Teléfono: (562) 6817756, e-mail: [angelaroco@gmail.com](mailto:angelaroco@gmail.com).  
1 Hospital San Juan de Dios, Laboratorio Clínico. 2 Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas, Universidad de Chile. 3 Escuela de Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. 4 Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, España. 5 Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura, España. a) Bioquímico, b) Médico-Cirujano, c) Químico-Farmacéutico.

Actualmente los médicos prescriben fármacos sobre la base de las características del medicamento y sobre la probabilidad de obtener resultados clínicamente reproducibles. Sin embargo, muchos de los fármacos son efectivos en sólo un 25 a 60 % de los pacientes y en general los pacientes responden a los medicamentos de manera variable e impredecible. Esta respuesta variable se debe a factores genéticos y no genéticos (epigenéticos) que afectan las enzimas que metabolizan la droga, los blancos de la droga (receptores) o ambos. La variabilidad en el metabolismo de los fármacos contribuye a la variabilidad individual en la respuesta por alteración de la concentración plasmática en estado estacionario<sup>1</sup>.

Enzima	Sustrato	Polimorfismos	
		Frecuencia	Polimorfismos más importantes

### Farmacogenética y su potencial uso clínico

Fredrich Vogel en 1959, acuñó por primera vez el término Farmacogenética para denominar el papel que juega la variación genética en la respuesta individual a los medicamentos, ello ante los numerosos ejemplos observados de respuesta idiosincrática a medicamentos tales como los anestésicos, opiáceos y quimioterápicos<sup>2</sup>. Después de la administración de un fármaco, el organismo humano procede a su eliminación bien por excreción sin modificación alguna del mismo, o bien después de un proceso de biotransformación, con la formación de metabolitos, que podrán ser activos o inactivos. Dicho proceso de biotransformación se realiza, por lo general, en dos fases, lo que da origen a los denominados metabolitos de fases I y II. Para llevar a cabo este proceso, existen en el organismo humano más de treinta familias de enzimas metabolizadoras, en las que el polimorfismo genético constituye prácticamente la regla general, con la consecuencia de que dichas variantes genéticas podrán originar cambios funcionales en la proteína codificada. Las consecuencias para los individuos portadores de estos polimorfismos genéticos pueden ir, desde la ausencia de actividad farmacológica del medicamento administrado, hasta la toxicidad severa del mismo. La importancia de la medicina personalizada, por lo tanto, se hace cada día más evidente. Se ha estimado que la genética puede dar cuenta de entre un 20-95 % de la variabilidad en la respuesta terapéutica o toxicológica de una droga. De las drogas involucradas en reacciones adversas, 86% son metabolizadas por enzimas polimórficas Citocromo P450 (CYP) (Tabla N°1) por lo tanto, el metabolismo mediado por las CYP ha sido un foco de estudio para elucidar factores que contribuyen a la variabilidad de la respuesta a drogas<sup>1</sup>.

### Citocromo P450

La superfamilia de Citocromo P450 (CYP) es responsable del metabolismo oxidativo de un gran número de compuestos endógenos y xenobióticos<sup>3</sup>. Estas enzimas pueden también transformar químicos no tóxicos en intermediarios reactivos que son tóxicos o carcinógenos<sup>4</sup>. En humanos se conocen 57 genes CYP y 33 pseudogenes ordenados en 18 familias y 42 subfamilias. Para ellos se ha diseñado una nomenclatura estándar de las enzimas de Citocromo P450 utilizando la raíz CYP seguida de un número arábigo que designa la familia de enzimas (con una homología aminoacídica de más del 40%), una letra para designar la subfamilia (con una homología de más del 55 %) y otro número que denota la enzima individual, por ejemplo: CYP2C19.

CYP1A1	Cancerígenos	Relativamente Alta	
CYP1A2	Fármacos, cancerígenos	Alta	CYP1A2*1F, CYP1A2*1K
CYP1B1	Cancerígenos, estrógenos	Raro alelos nulos, frecuente mutaciones sin sentido	CYP1B*7
CYP2A6	Nicotina, fármacos, cancerígenos	Alto en orientales, menos frecuente en caucásicos	CYP2A6*1B, CYP2A6*4, CYP2A6*9, CYP2A6*12
CYP2B6	Fármacos	Alta	CYP2B6*5, CYP2B6*6, CYP2B6*16
CYP2C8	Algunos fármacos	Alta	CYP2C8*3
CYP2C9	Fármacos	Relativamente baja	CYP2C9*2, CYP2C9*3
CYP2C19	Fármacos	Alta	CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17
CYP2D6	Fármacos	Alta	CYP2D6*2xn, CYP2D6*4, CYP2D6*5
CYP2E1	Cancerígenos, solventes, algunos fármacos	Baja	
CYP3A4	Fármacos , cancerígenos	Baja	CYP3A4*1B
CYP3A5	Fármacos, cancerígenos	Alta	CYP3A5*3, CYP3A5*6, CYP3A5*7
CYP3A7	Fármacos , cancerígenos	Baja	

**Tabla N°1:** Polimorfismos de Citocromo P450 (CYP) de importancia en el metabolismo de drogas y carcinógenos (Fuente: Rodríguez-Antona, 2006)

Para cada enzima el alelo silvestre se designa con \*1, las variaciones alélicas se numeran de manera secuencial según han sido identificadas (es decir, \*2, \*3, etc.)<sup>5,6</sup>. A pesar del gran número de genes y enzimas, sólo las familias de CYP1, CYP2 y CYP3 tienen un rol importante en el metabolismo de drogas<sup>7</sup>. Las mutaciones de los genes de CYP pueden causar ausencia de la enzima, disminución de su expresión, enzimas con alteraciones en su especificidad de sustrato o un aumento de la expresión génica. De este modo, basado en la composición de los alelos, los individuos pueden ser divididos en cuatro grandes grupos: metabolizadores pobres (MPs) que tienen dos alelos no funcionales; metabolizadores intermedios (MIs) que tienen un alelo deficiente; metabolizadores silvestres o extensivos (MEs) que tienen dos copias del alelo silvestre; y metabolizadores ultra rápidos (MUs) que tienen tres o más copias de alelos activos<sup>8</sup> (Tabla N°2). Las variaciones alélicas que dan cuenta de alelos no funcionales se deben a la alteración de un sitio de "splicing", codón de término prematuro, mutaciones sin sentido o delección del gen, lo que determina una actividad catalítica alterada en comparación a la enzima silvestre<sup>7</sup>. En la Tabla N° 3 se indican algunas drogas antineoplásicas y las isoenzimas de CYP involucradas en su metabolismo<sup>9</sup>.

A continuación se describirán, a modo de ejemplo, dos de las principales enzimas CYP con potencial uso en laboratorio clínico y sus características bioquímico-moleculares:

#### CYP3A4/5

Estas enzimas corresponden a dos de las cuatro existentes en el *locus* CYP3A, en el cromosoma 7 (q21-q22.1) y que codifican actividades enzimáticas relevantes para el metabolismo de un amplio rango de xenobióticos. La expresión de estas enzimas es tejido específico y predominan en hígado y tracto gastrointestinal. Las enzimas de CYP3A están involucradas en el metabolismo del 50% de los fármacos utilizados frecuentemente. Por lo tanto, variaciones en la actividad de CYP3A tienen un gran impacto sobre la farmacocinética y el metabolismo de la mayoría de los fármacos. Los polimorfismos conocidos más importantes son CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3<sup>10</sup>.

Fenotipo	Genotipo CYP2D6	Efecto esperado en el ISRS
UM: metabolizador ultra rápido	Más de dos copias del gen activo (wt)	Dosis usual puede alcanzar niveles plasmáticos sub terapéuticos y puede no haber respuesta.
EM: metabolizador extensivo	Dos copias del gen activo (wt)	Dosis habitual alcanza el nivel esperado de nivel plasmático y de respuesta.
IM: metabolizador intermedio	Un alelo activo (wt) y otro con actividad reducida	Efecto farmacológico está entre el EM y PM.
PM: metabolizador pobre	Dos copias del gen con actividad reducida	Dosis usual puede alcanzar altos niveles plasmáticos y pueden presentarse reacciones adversas.

**Tabla N°2:** Ejemplos del efecto de polimorfismos en CYP2D6 sobre el metabolismo de fármacos inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (ISRS) (Berg A, et al, 2007)

#### CYP2D6

CYP2D6 se localiza en el brazo largo del cromosoma 22 en la posición 22q13.1, en tandem junto a los pseudogenes CYP2D7 y CYP2D8 (con una homología del 97 % y del 92 % respectivamente). CYP2D6 metaboliza numerosos fármacos que actúan tanto a nivel del sistema nervioso central como a nivel circulatorio (Tabla N° 4) y presenta un alto grado de variabilidad en su actividad catalítica entre individuos. Hasta ahora se han identificado más de 80 polimorfismos en el gen de CYP2D6 (<http://www.imm.ki.se/cypalleles>). Los metabolizadores pobres presentan mutaciones en una sola base (\*4, \*7, \*8 y \*10), deleciones parciales (\*3) o deleciones totales (\*5); las que tienen importancia clínica debido a que entre un 7 a un 10 % de la población caucásica presentan alelos no funcionales. Los metabolizadores ultrarrápidos pueden presentar duplicaciones del gen, las que han sido observadas en una alta frecuencia en poblaciones de Etiopía (29%) y de Arabia Saudita (20 %), presumiblemente como resultado de un proceso de selección que favoreció la supervivencia de individuos portadores de duplicaciones del gen CYP2D6, ya que esta enzima metaboliza además toxinas presentes en plantas, tales como alcaloides<sup>11</sup>.

#### Relevancia clínica de polimorfismos

Los polimorfismos que están asociados con un nivel de expresión reducido de una enzima pueden producir un aumento de la concentración plasmática de la droga administrada que no ha sido observado previamente en la población con genotipo silvestre. Por el contrario, pacientes con polimorfismos que son asociados a un aumento de la actividad enzimática podrían tener una respuesta menor si son tratados con una droga que es sustrato de esta enzima. De hecho, se puede estimar que entre un 15 a un 20 % de fallas en los tratamientos farmacológicos se deben a polimorfismos en CYP. Por ejemplo, se ha observado que la dosis del antidepresivo tricíclico nortriptilina es dependiente de la actividad del gen CYP2D6 y que los metabolizadores pobres (MPs) necesitan 30 a 50 mg comparados con los metabolizadores ultra rápidos (MUs) que requieren 500 mg para obtener los mismos niveles plasmáticos, por lo tanto, la dosis estándar de 150 mg no es apropiada para el grupo de MUs<sup>11</sup> (figura 1). Tamoxifeno necesita del sistema enzimático CYP para convertirse en un metabolito antiestrogénico (N-desmetiltamoxifeno), producido por CYP3A4, y 4-hidroxitamoxifeno y endoxifeno producidos por CYP2D6. Por lo tanto, la variabilidad individual de estas dos isoenzimas de CYP puede afectar la respuesta a tamoxifeno. Al respecto, debido a su efecto inhibitorio sobre la actividad catalítica de CYP2D6, las concentraciones de endoxifeno disminuyen en un 64% en mujeres con el gen silvestre CYP2D6, pero sólo en un 24 % en mujeres con un genotipo no funcional de CYP2D6<sup>9</sup>.

Droga	Isoformas inhibidas de CYP	Isoformas que media biotransformación
Busulfan	1A2, 2C8, 2C9 y 3A4	3A4
Corticosteroides	3A4	3A4

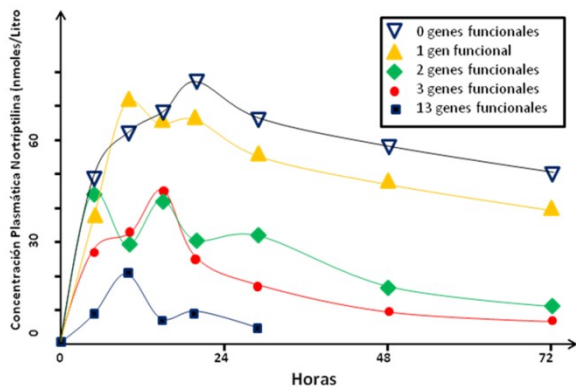
Ciclofosfamida		2B6, 2D6 y 3A4
Docetaxel		3A4
Gefitinib	2C19 y 2D6	3A4
Imatinib	2C9, 2D6 y 3A4	3A4
Tamoxifeno	3A4	1A2, 2A6, 2B6, 2D6, 2E1 y 3A4

**Tabla N°3:** Drogas antineoplásicas e isoenzimas de Citocromo P450 (CYP) (Fuente: Scripture, Ch., 2006)

Categoría terapéutica	Tipo	Nombre	
Antiarrítmicos	Tipo 1 A	Quinidina	
		Disopiramida	
		Procainamida	
	Tipo 1 B	Mexiletina	
		Tipo 1 C	Encainida
			Flecainida
Antidepresivos	No tricíclicos	Bupropion	
		Maprotilina	
		Trazodona	
	Tricíclicos	Amitriptilina	
		Amoxapina	
		Clomipramina	
		Desipramina	
		Doxepina	
		Imipramina	
		Nortriptilina	
		Protriptilina	
		Trimipramina	
		ISRS	Fluoxetina
	Nefazodona		
	Paroxetina		
	Sertralina		
	Analgésicos	Narcóticos	Codeína
Hidrocodona			
Dihidrocodeína			
Propoxifena			
Tramadol			
Antipsicóticos	Fenotiazidas	Proclorperazina	
		Prometazina	
		Clorpromazina	
		Tioridazina	
Anticonvulsivantes		Carbamazepina	
		Fenitoína	
		Gabapentina	
Antihistamínicos	Tricíclicos	Loratadina	
Agentes antihipertensivos	Beta bloqueadores	Metoprolol	
		Pindolol	
		Propranolol	
		Timolol	
Estimulantes	Simpaticomiméticos	Metanfetamina	

**Tabla N°4:** Algunos fármacos metabolizados por Cyp2D6 (McElroy S, et al, 2000).

Se ha demostrado que polimorfismos de CYP3A4 y CYP3A5 se asocian con un bajo aclaramiento (*clearance*) de ciclofosfamida y una pobre respuesta clínica en el tratamiento de cáncer de mama. Las pacientes que presentan el polimorfismo CYP3A4\*1B no son capaces de activar la ciclofosfamida y por lo tanto, presentan una baja sobrevida<sup>12</sup>. Este polimorfismo también se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer de próstata y a la falla en el tratamiento de leucemia<sup>13</sup>. Al estudiar alelos de los 28 SNPs conocidos de CYP3A4, en el metabolismo de testosterona y clorpirifos, se observó que la enzima codificada por CYP3A4\*16 no es capaz de metabolizar ambos sustratos, en cambio, el producto del alelo CYP3A4\*17 los metaboliza de manera similar al gen silvestre<sup>14</sup>. En otros estudios se demostró que el alelo CYP3A4\*17 es ineficiente en metabolizar nifedipino<sup>15</sup>.



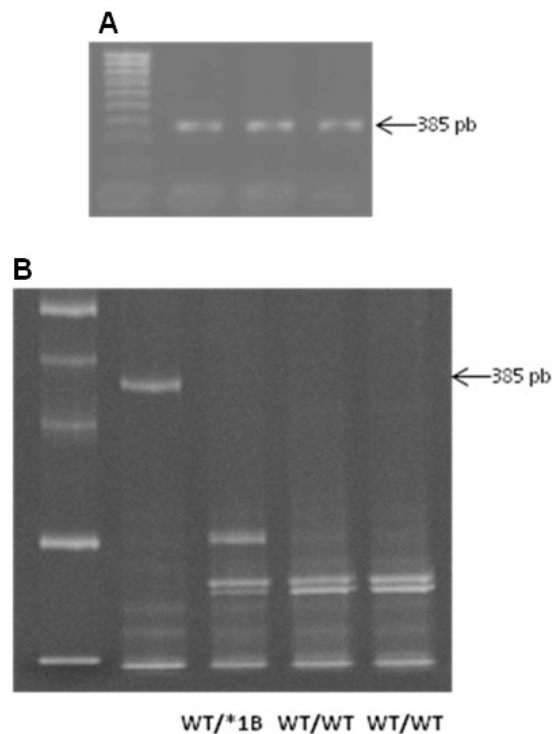
**Fig. 1.** Farmacocinética de Nortriptilina y su relación con alelos funcionales de CYP2D6. \*Adaptación de María Espinosa Bosch, 2006<sup>25</sup>.

Para un mejor entendimiento del papel de las herramientas farmacogenéticas en la clínica analizaremos el caso del omeprazol, cuya protocolo terapéutico para la erradicación del *Helicobacter pylori* recomienda 20 mg dos veces al día durante una semana, junto a 500 mg de amoxicilina cuatro veces al día durante una semana y 200 mg de claritromicina, también cuatro veces al día durante una semana. Siguiendo este protocolo la bibliografía nos muestra que en pacientes metabolizadores lentos de CYP2C19, se consigue la erradicación total del *H. pylori* y que en pacientes metabolizadores rápidos, el fracaso terapéutico tiene un porcentaje relativamente alto. No se observaron diferencias entre metabolizadores pobres y extensivos<sup>16</sup>. Al respecto, el metabolismo de omeprazol es llevado a cabo por CYP2C19 preferentemente y, en menor proporción, por CYP3A4. CYP2C19 posee tres alelos, el que se denomina normal (CYP2C19\*1), y los alelos CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3, por lo que los individuos se distribuirán en seis grupos diferentes, atendiendo a su genotipo:

1. Homocigoto CYP2C19\*1//CYP2C19\*1 - metabolizadores rápidos.
2. Heterocigoto CYP2C19\*1//CYP2C19\*2 - metabolizadores rápidos.
3. Heterocigoto CYP2C19\*1//CYP2C19\*3 - metabolizadores rápidos.
4. Homocigoto CYP2C19\*2//CYP2C19\*2 - metabolizadores lentos.

5. Homocigoto CYP2C19\*3//CYP2C19\*3 - metabolizadores lentos.
6. Heterocigoto CYP2C19\*2//CYP2C19\*3 - metabolizadores lentos.

En un estudio farmacocinético, en individuos sanos con los diferentes genotipos arriba mencionados, a los que se les administró una dosis única de omeprazol de 20, 40, y 80 mg, y se determinó a continuación las concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) y el área bajo la curva (ABC) de los niveles plasmáticos del omeprazol y sus metabolitos, se llegó a la conclusión que para alcanzar la eficacia terapéutica de erradicación del *H. pylori* que se obtiene en los pacientes metabolizadores lentos con 20 mg de omeprazol dos veces al día, dicha dosis debe elevarse a 80 mg dos veces al día en el caso de los metabolizadores rápidos<sup>17</sup>. De forma empírica ya Furuta y cols. (2000)<sup>18</sup> habían informado que obtenían la erradicación del *H. pylori* en pacientes clasificados como metabolizadores rápidos con dosis de omeprazol de 40 mg tres veces al día.

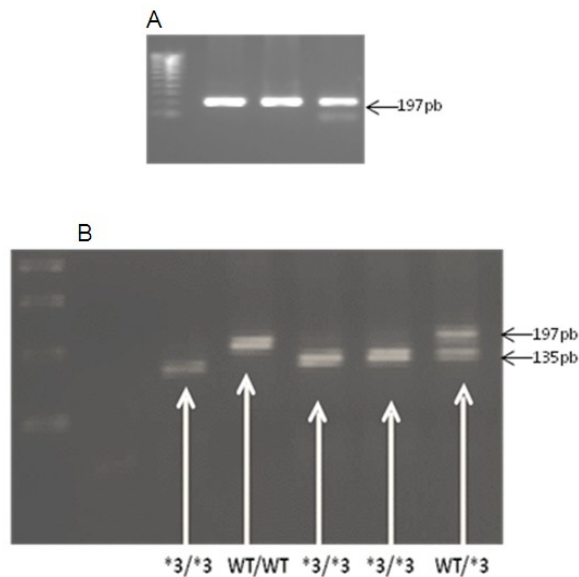


**Figura N°2:** A) Gel agarosa con producto PCR Cyp3A4 de 385 pb. B) Gel de poliacrilamida para Cyp 3A4\*1B, post-digestión con enzima de restricción *MbolI*, donde se observan muestras con genotipo wt/tt y genotipo wt/\*1B.

Otro ejemplo demostrativo consiste en el antiarrítmico propafenona, metabolizado por CYP2D6. Jazwinska y cols. (2001)<sup>19</sup> analizaron la posible correlación existente entre la eficacia antiarrítmica de la propafenona y el fenotipo para el CYP2D6, en 42 pacientes con fibrilación auricular paroxística a los que administraban entre 300 y 450 mg/día de propafenona por vía oral. Determinaron la concentración plasmática del fármaco a los 7, 11 y 90 días. Lo relevante de los resultados fue que la eficacia del tratamiento era del 100% en los pacientes metabolizadores

lentos, 61% en los normales, y 0%, en los metabolizadores ultrarrápidos.

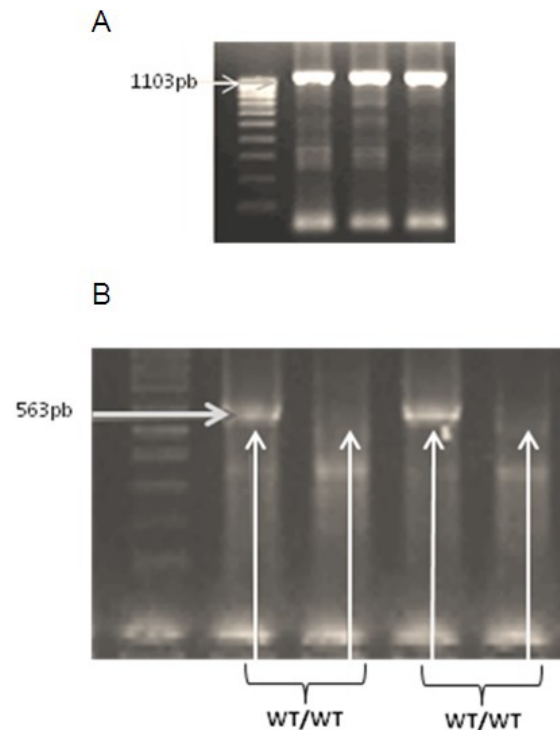
En agosto de 2007, la FDA incluyó en la ficha técnica de warfarina información genética que repercute sobre su farmacocinética, mejorando la estimación de la dosis inicial del anticoagulante, optimizando el uso del fármaco y disminuyendo el riesgo de complicaciones hemorrágicas. La ficha técnica advierte que la presencia de una variante del CYP2C9 o de VKORC1 puede ser responsable de hasta el 40% de variación en la dosis requerida de warfarina. Los pacientes con genotipos CYP2C9\*2 y CYP2C9\*3 metabolizan warfarina de forma más lenta que los portadores de la variante genética silvestre CYP2C9\*1. Los pacientes portadores de al menos una copia del alelo CYP2C9\*2 requieren una dosis diaria de warfarina un 17% menor que la requerida por los pacientes homocigotos para el alelo CYP2C9\*1. Para los pacientes portadores de al menos una copia del alelo CYP2C9\*3, la dosis diaria de warfarina es de un 37% menos que la requerida por los pacientes homocigotos para CYP2C9\*1. De igual forma el alelo -1639G>A del gen VKORC1 se ha asociado con requerimientos menores de dosis de warfarina<sup>20</sup>. Por otro lado, el anticoagulante oral más utilizado en España, acenocumarol, comparte casi al 100% las vías de metabolización de la warfarina, por lo que con alta probabilidad los datos comentados serán extrapolables a este anticoagulante, como ya se empieza a comentar en algunos foros<sup>21</sup>.



**Figura N°3:** A) Gel agarosa con producto PCR de CYP3A5 de 197 pb. B) Gel de agarosa al 2,2 % para CYP 3A5\*3, post digestión con la enzima de restricción *Bse*III, donde se observan muestras con genotipo wt/wt, \*3/\*3 y genotipo wt/\*3.

Finalmente, uno de los mejores ejemplos de aplicación de la farmacogenética en la clínica médica corresponde al polimorfismo genético de la tiopurina-metil-transferasa (TPMT), enzima que participa en la metabolización de la 6-mercaptopurina (6-MP), de su pro-fármaco azatioprina y de tioguanina. El proceso metabólico de estos derivados de la tiopurina conduce a la formación del metabolito activo tioguanina nucleótido (TGN). La principal

enzima encargada de este proceso corresponde a la hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasa (HGPRT). En fase posterior el TGN es inactivado, bien por oxidación por la xantina-oxidasa o por metilación por la tiopurina-metil-transferasa. Numerosos estudios señalan que la aparición de toxicidad hematopoyética grave, a veces mortal, en pacientes tratados con dosis convencionales de tiopurinas se debe a que en el tejido hematopoyético la actividad de la enzima xantina-oxidasa es mínima, quedando por lo tanto, como único mecanismo de inactivación del TGN la metilación por TPMT, por lo que se hace muy relevante el estudio de polimorfismos genéticos de la TPMT. En este aspecto, se reconocen al menos ocho variantes alélicas con baja actividad de la enzima TPMT. De los estudios de población se deduce que aproximadamente el 90% de los individuos tienen actividad alta, el 10% actividad intermedia y el 0,3% actividad baja o no detectable, presentando toxicidad severa e incluso muerte frente al tratamiento con tiopurinas (ej. azatioprina). En la actualidad, con la tecnología de los *chips* de ADN es posible detectar todas las mutaciones conocidas del gen codificador que conducen a la inhibición de la actividad de la TPMT, con una elevada confiabilidad<sup>22</sup>.



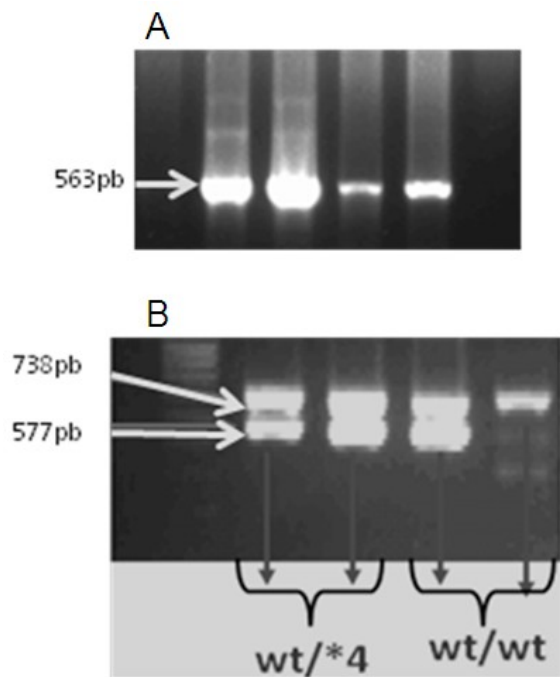
**Figura N°4:** A) Primera PCR Producto de 1103 pb. B) Segunda PCR CYP2D6 CYP2D6\*3 genotipos wt/wt.

## DISCUSIÓN

Los avances en el estudio de la disciplina farmacogenética nos permiten aseverar que la variabilidad en la respuesta de los pacientes a los medicamentos constituye la norma, y no la excepción, en la gran mayoría de los tratamientos farmacológicos. Por eso, el llegar a comprender las bases moleculares de la acción farmacológica, o tóxica, de los medicamentos, así como los determinantes genéticos que pueden influir en sus respuestas optimizará el uso éstos, para lograr una medicina personalizada. El



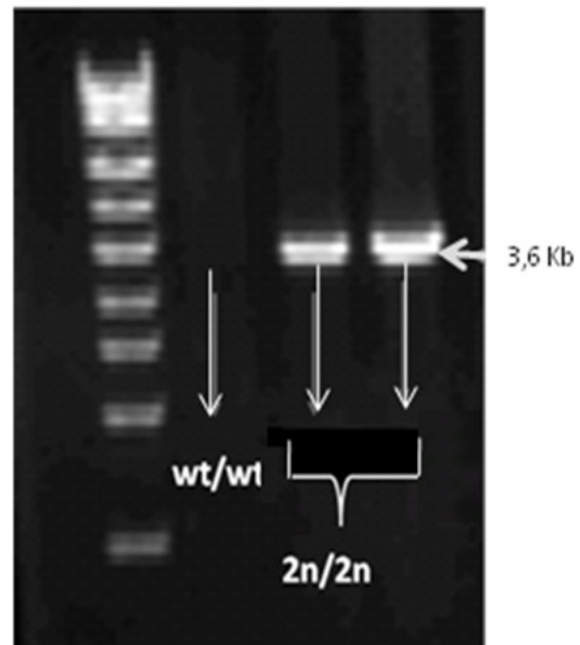
principal problema que se debe enfrentar para que la farmacoterapia personalizada llegue a tener plena vigencia es el disponer de la metodología analítica que nos permita identificar la existencia de un determinado polimorfismo genético en la persona a la que se pretende medicar. Otros aspectos que se transforman en barreras claves para la integración de la farmacogenética como una herramienta clínica estándar incluyen, la información a los médicos acerca de su utilidad y confiabilidad en el cuidado del paciente, y la disponibilidad y estandarización de los test farmacogenéticos en los laboratorios clínicos. Por otro lado, los reembolsos y potenciales ahorros del sistema de salud son factores que, a pesar que aún no se encuentran bien caracterizados, deberían llevar a la farmacogenética a su aplicación estándar en los laboratorios clínicos. A ello contribuirá la rapidez en la ejecución y el relativamente bajo costo del proceso y, sobre todo, la alta especificidad y sensibilidad que hasta ahora se ha logrado con respecto a otras técnicas. A todo esto se puede añadir que el volumen de muestras requerido para el análisis es mínimo.



**Figura N°5:** A) Primera PCR Producto de 738 pb. B) Segunda PCR Cyp2D6 genotipos wt/\*4 y wt/wt.

Afortunadamente, en los últimos años en nuestro país se está avanzando considerablemente en el desarrollo de las técnicas analíticas de identificación de los SNPs, de detección de pérdidas o multiplicación de los genes implicados, ya sea a través de PCR convencional como PCR tiempo real y de determinación de perfiles de expresión de los genes mediante la utilización de los «chips» de ADN apropiados. Respecto de los costos de implementación de análisis de este tipo, vía PCR convencional y/o tiempo real, y considerando que habitualmente las muestras para genotipificación no se deben procesar de manera urgente, el costo promedio de una PCR convencional varía entre U\$ 6 a 8 por

muestra y el valor de una PCR tiempo real varía entre U\$ 17 a 26 por muestra, un costo bajo si se correlaciona con valor del ajuste de dosis de medicamentos. La inversión para la implementación de un Laboratorio de Análisis Molecular mayor debe considerar necesariamente un espacio físico que incluya al menos tres áreas: extracción de DNA, realización mezclas de PCR y procesamiento de los resultados, de acuerdo a la normativa internacional<sup>23</sup>, además de la infraestructura básica, el equipamiento (termocicladores, fuente de poder, cámaras de electroforesis, etc.) y el personal capacitado.



**Figura N°6:** Cyp2D6 genotipos wt/wt y duplicación (2n/2n).

Considerando todos estos aspectos, la dirección del Hospital San Juan de Dios se propuso y ha iniciado el montaje en el Laboratorio Clínico, en colaboración con la Universidad de Chile y la Universidad de Extremadura, España, de un laboratorio de Biología Molecular, dirigido a la Farmacogenética, que permita identificar polimorfismos cuando el paciente va a ser tratado con un fármaco que sea sustrato preferente de una enzima polimórfica y cuando la farmacocinética, la respuesta clínica o el riesgo de desarrollar efectos adversos con ese fármaco está relacionada con las variantes genéticas de dicha enzima. Ello es particularmente útil en tratamientos de desórdenes neurosiquiátricos, inmunológicos y cáncer. Las figuras 2 a 5 muestran algunos ejemplos de experimentos de genotipificación, realizados por nuestro grupo de investigación, para los polimorfismos CYP3A4\*1, CYP3A4\*3, CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 y duplicación génica de CYP2D6, respectivamente, los cuales se han descrito como relevantes en la variabilidad de la respuesta a numerosos medicamentos<sup>24</sup>.

Por lo tanto, nosotros creemos que es de suma importancia que los laboratorios clínicos asuman estas nuevas responsabilidades de aplicación de ensayos farmacogenéticos a la clínica, así como también de otras pruebas moleculares, y que constituye un deber

de la industria farmacéutica y las autoridades de salud el apoyar la investigación científica en este campo.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo desean agradecer el aporte científico del Dr. Dante Cáceres en este manuscrito, el excelente apoyo técnico de la Srta. Paula Santander P. y el permanente apoyo de la Dirección del Hospital San Juan de Dios.

#### BIBLIOGRAFÍA:

1. EVANS W, MCLEOD H, "Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects", N.Engl.J Med, 2003, 348: 538-549.
2. VOGEL, F. Moderne probleme der Human genetik. Ergeb Inn. Med. Kinderheilkd, 1959, 12: 52-125.
3. WEINSHILBOUM R. Inheritance and drug response. N.Engl.J Med, 2003, 348: 529-537.
4. EICHELBAUM M, BURK O. CYP3A genetics in drug metabolism, Nature Medicine, 2001, 7: 285-287.
5. NEBERT DW, RUSSELL DW. Clinical importance of the cytochromes P450. Lancet. 2002, 360(9340):1155-62.
6. QUIÑONES L, LEE K, VARELA N, ESCALA M, GARCÍA K, GODOY L. et al. Farmacogenética del cáncer: estudio de variaciones genéticamente determinadas en las susceptibilidad a cáncer por exposición a xenobióticos, Rev Med Chile, 2006: 134: 499-515.
7. FRYE R. Probing world of Cytochrome P450 enzymes, Molecular Interventions, 2004, 4: 157-162.
8. RODRÍGUEZ-ANTONA C, INGELMAN-SUNDBERG M, Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer, Oncogen, 2006, 25: 1679-1691.
9. SCRIPTURE CH, FIGG W, Drug Interactions in Cancer therapy, Nat Rev Cancer, 2006, 6: 546-558.
10. EVANS W, MCLEOD H, "Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects", N.Engl.J Med, 2003, 348: 538-549
11. INGELMAN-SUNDBERG M, "Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity", The Pharmacogenomics Journal, 2005, 5: 6-13.
12. PETROS W, HOPKINS P, SPRUILL S. "Association between drug metabolism genotype, chemotherapy pharmacokinetics, and overall survival in patients with breast cancer", J Clin Oncol, 2005, 23: 6117-6125.
13. FELIX CA, WALKER AH, LANGE BJ, WILLIAMS TM, WINICK NJ, CHEUNG NK, LOVETT et al. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998, 95(22):13176-81
14. DAI D, TANG J, ROSE R, HODGSON E, BIENSTOCK RJ, MOHRENWEISER HW et al. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. Pharmacol Exp Ther. 2001, 299(3):825-31.
15. LEE SJ, BELL DA, COULTER SJ, GHANAYEM B, GOLDSTEIN JA. "Recombinant CYP3A4\*17 is defective in metabolizing the hypertensive drug nifedipine and the CYP3A4\*17 allele may occur on the same chromosome as CYP3A5\*3 representing a new putative defective CYP3A haplotype", JPET, 2005:313: 302-309.
16. ZHAO F, WANG J, YANG Y, WANG X, SHI R, XU Z. et al. Effect of CYP2C19 genetic polymorphisms on the efficacy of proton pump inhibitor-based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. Helicobacter. 2008;13(6):532-41.
17. KITA T, SAKAEDA T, AOYAMA N, SAKAI T, KAWAHARA Y, KASUGA M, OKUMURA K. Optimal Dose of Omeprazole for CYP2C19 extensive metabolizers in anti-*Helicobacter pylori* therapy: pharmacokinetic considerations. Biol. Pharm. Bull. 2002, 25: 923-927.
18. FURUTA T, TAKASHIMA M, SHIRAI N, XIAO F, HANAI H, OHASHI K. et al. Cure of refractory duodenal ulcer and infection caused by *Helicobacter pylori* by high doses of omeprazole and amoxicillin in a homozygous CYP2C19 extensive metabolizer patient. Clin. Pharmacol. Ther. 2000, 67: 684-689.
19. JAZWINSKA-TARNAWSKA E, ORZECZOWSKA-JUZWENKO K, NIEWINSKI P, RZEMISLAWSKA Z, LOBOZ-GRUDZIEN K, DMOCHOWSKA-PERZ M. et al. The influence of CYP2D6 polymorphism on the antiarrhythmic efficacy of propafenone in patients with paroxysmal atrial fibrillation during 3 months propafenone prophylactic treatment. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 2001, 39: 288-292.
20. US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for drug evaluation on Research. Questions and answers on new labelling for Warfarin (marketed as Coumadin) date create, August 16, 2007. <http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/warfarin/qa.htm>
21. TASSIES D, MONTEAGUDO J, MARAGAL S, REVERTER JC, Determinantes genéticos en la respuesta a acenocunanol: papel de los polimorfismos en VKORC1 y Cyp2C9. 2007. <http://www.atlaticongresos.com/farmacogenetica/index.html>.
22. KRYNETSKI, E., EVANS, W.E. (1998) Pharmacogenetics of cancer therapy: getting personal. Am. J. Hum. Genet. 63: 11-16.
23. GOOD LABORATORY PRACTICE WHEN PERFORMING MOLECULAR AMPLIFICATION ASSAYS, Issue no: 3 Issue date: 02.08.06 Issued by: Standards Unit, Evaluations & Standards Laboratory Page 1 of 10, Reference no: QSOP 38i3
24. MANGA N, DUFFY JC, ROWE PH, CRONIN MT. Structure-based methods for the prediction of the dominant P450 enzyme in human drug biotransformation: consideration of CYP3A4, CYP2C9, CYP2D6. SAR QSAR Environ Res. 2005 Feb-Apr;16(1-2):43-61.
25. ESPINOSA-BOSCH M. Conferencia, 23 de Marzo de 2006. Hospital Universitario Virgen del Rocío, España.





