Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías

Myriam Orellana B[1a], Viviana Guajardo T[1b].

Cytochrome P450 activity and its alteration in different diseases

Cytochrome P450 (CYP) enzymes participate in the metabolism of a variety of naturally occurring and foreign compounds by reactions requiring NADPH and O2. The diversity of reactions catalyzed and its extensive substrate specificity render CYP enzymes as one of the most versatile known catalysts. Individual members of the CYP superfamily are expressed in almost every cell type in the body. As compared to hepatic enzymes, the regulation of human extrahepatic CYPs has not been so well studied. In general, the levels of some hepatic CYP enzymes are depressed by diseases, causing potential and documented impairment of drug clearence and clinical drug toxicity. However, modulation of CYPs is enzyme selective and this selectivity differs in different diseases. This article reviews some basic concepts about CYP and its regulation in some disease states such as hypertension, diabetes, obesity and hepatic, infectious and inflammatory diseases (Rev Méd Chile 2004; 132: 85-94).
*(**Key Words:** Cytochrome P450; Enzyme induction; Xenobiotics)*

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1011057.
[1]ICBM, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
[a]Bioquímica MSc.
[b]Interna de la carrera de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Un gran número de sustancias extrañas a nuestro organismo (xenobióticos) penetran por la piel, sangre o pulmones y pueden ocasionar trastornos inmediatos o a largo plazo, lo que se evita gracias a que poseemos sistemas enzimáticos que llevan a cabo su biotransformación.

La biotransformación de xenobióticos se realiza básicamente en 2 fases:

Fase I, catalizada principalmente por el sistema de monooxigenasas dependiente del citocromo P450.

Correspondencia a: Myriam Orellana Bown. ICBM Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Casilla 70.000, Santiago 7, Chile. Fax: (56) (2) 7355580. E mail: morellan@med.uchile.cl

Fase II, en la que participan una serie de transferasas que catalizan reacciones de conjugación de los xenobióticos con diversas moléculas de naturaleza endógena como ácido glucorónico, sulfatos, acetato, el tripéptido glutatión o algunos aminoácidos. El objetivo final de ambas fases es aumentar la solubilidad en agua de los compuestos y así facilitar su excreción del organismo a través de la orina o la bilis[1].

Existen antecedentes que indican que la actividad y expresión de las enzimas que participan en la biotransformación de xenobióticos están alteradas en distintas patologías, ya sea producto de la enfermedad, o de su tratamiento.

En este artículo nos referiremos específicamente al citocromo P450 de la Fase I del metabolismo

de drogas; revisaremos algunos conceptos básicos y la alteración de su expresión y actividad en ciertas patologías de importancia médica.

Características generales del citocromo P450

El sistema de monooxigenasas es un complejo multienzimático cuya oxidasa final es una hemoproteína denominada citocromo P450 (CYP). Este sistema se encuentra presente en diferentes tejidos como el riñón, pulmón, piel, intestino, corteza adrenal, testículos, placenta y otros, pero es particularmente activo en el hígado[2]. Además de participar en el metabolismo de sustratos de naturaleza exógena como drogas, pesticidas, procarcinógenos, anestésicos, solventes orgánicos, entre muchos otros[3], el CYP participa en el metabolismo de sustratos endógenos de importancia biológica como colesterol, ácidos biliares, hormonas esteroidales y ácidos grasos[4]. En los mamíferos, el CYP se encuentra presente en la mitocondria y en diversos tipos de membranas celulares, siendo particularmente abundante en el retículo endoplásmico liso (microsomas)[3]. La denominación citocromo P450 proviene de la característica de que esta hemoproteína en su forma reducida y unida a monóxido de carbono, presenta un máximo de absorbancia a los 450 nm[6].

Las diversas especies de enzimas CYP se caracterizan por ser fácilmente inducibles inclusive por las mismas drogas a ser biotransformadas, lo que tiene consecuencias clínicas puesto que aproximadamente 50% de los fármacos que consume el hombre son metabolizados por estas enzimas. Además, su expresión y actividad son influenciadas por diversos factores como la edad, sexo, dieta, especie, tejido y estado hormonal y, a diferencia de las enzimas clásicas, presentan especificidad superpuesta para algunos sustratos[7].

La mayoría de los CYP están formados por 400-500 aminoácidos de los cuales cerca de 55% son de naturaleza apolar; la mitad heme es protoporfirina IX y el ligando axial para el hierro es un residuo cisteína ubicado cerca del extremo carboxi-terminal de la proteína. Numerosos agentes que reaccionan con los grupos sulfidrilos o que rompen interacciones hidrofóbicas, convierten al CYP a una forma inactiva llamada P420[7].

Actividad catalítica. El CYP cataliza la biotransformación de un sinnúmero de xenobióticos, proceso que se realiza principalmente en el hígado, pero en éste y otros órganos participa además en el metabolismo de una serie de compuestos de naturaleza endógena. La gran gama de reacciones químicas catalizada y la amplia especificidad de sustrato característico de estas enzimas, hacen del CYP uno de los catalizadores más versátiles conocidos[8].

Como se observa en la Figura 1, aunque la principal función del CYP es participar en reacciones de detoxificación transformando un compues-

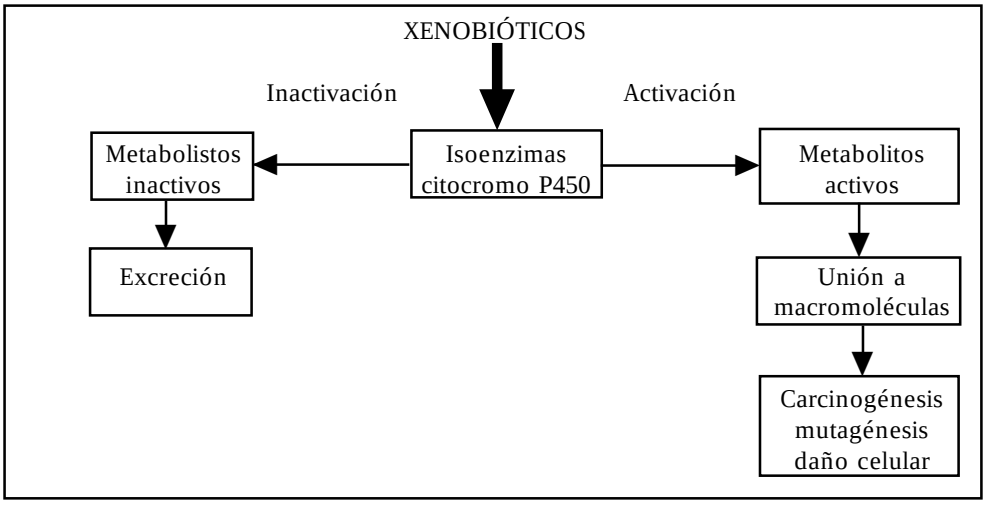

Figura 1. Reacciones de activación o inactivación mediadas por enzimas citocromo P450.

to farmacológicamente activo en inactivo excretado por la orina, también participa en procesos de activación metabólica, de manera que compuestos inertes y poco reactivos son convertidos en otros de gran reactividad química que son tóxicos para el organismo. Por ejemplo, el acetominofén es metabolizado por el CYP2E1 a N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), un compuesto muy hepatotóxico[1].

El CYP cataliza una amplia variedad de reacciones, incluyendo epoxidaciones, N-deaquilaciones, O-deaquilaciones, S-oxidaciones e hidroxilaxiones de sustratos aromáticos y alifáticos y, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en el tejido, reacciones de reducción[9]. La mayoría de las reacciones catalizadas requieren de un paso inicial, que involucra la inserción de un grupo hidroxilo en el sustrato para formar un intermediario hidroxilado el cual puede, dependiendo de la naturaleza del sustrato y la estabilidad del intermediario, sufrir posteriores reacciones de dealquilación, deaminación, etc[10].

La reacción general catalizada por el CYP es la siguiente:

$$RH + NADPH + H^+ + O_2 \rightarrow ROH + NADP^+ + H_2O$$

El CYP tiene requerimiento absoluto de NADPH y oxígeno molecular para la catálisis de la monooxigenación. En la Figura 2, se muestra cómo los electrones necesarios para activar al oxígeno pasan del NADPH al CYP a través de la acción de la enzima NADPH-citocromo P450 reductasa, la que junto con el CYP, están insertas en la membrana[11].

Mecanismos de acción de las reacciones catalizadas por el CYP. En la Figura 3, se muestra una simplificación del ciclo de óxido-reducción del CYP y su sustrato, propuesto por Coon[7]. El mecanismo de acción es complejo y aún no está bien esclarecido debido a la baja vida media de sus intermediarios. Existen evidencias de que en el proceso se generarían especies reactivas de oxígeno como el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), además del radical libre sustrato ($R\bullet$) el que al unirse a un radical hidroxilo, generaría finalmente el producto hidroxilado (ROH).

La descomposición del CYP oxigenado es descrita como una de las mayores fuentes de radicales superóxido de los sistemas biológicos y su producción depende de la isoforma del CYP, la naturaleza del sustrato unido (si lo hay) y de la eficiencia en la entrada del segundo electrón (etapa 4)[8].

Nomenclatura. Algunas isoformas de CYP presentan una alta homología en su secuencia de aminoácidos, lo que se evidencia en estudios con anticuerpos como el Western-blot, donde generalmente se observa una reacción cruzada entre las diversas enzimas.

Más de 160 formas han sido caracterizadas utilizando una nueva nomenclatura basada en su

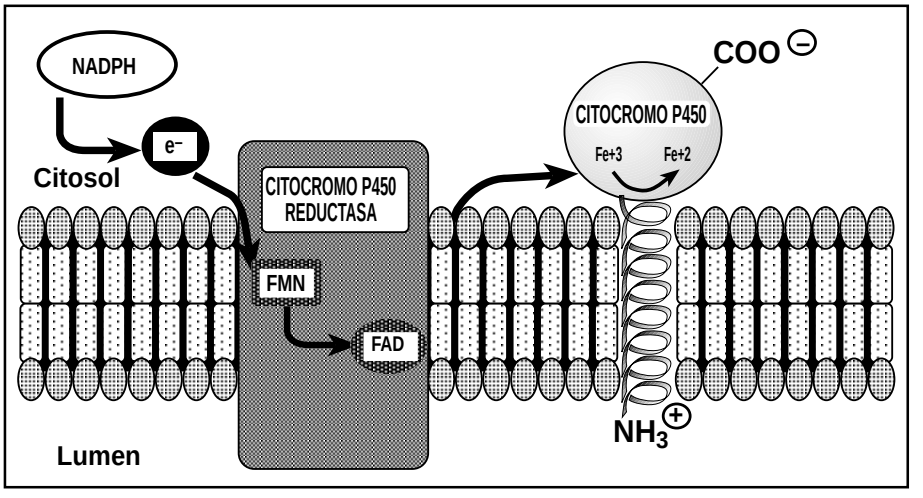

FIGURA 2. Traspaso de electrones desde el NADPH al citocromo P450, catalizado por la enzima de membrana NADPH citocromo P450 reductasa.

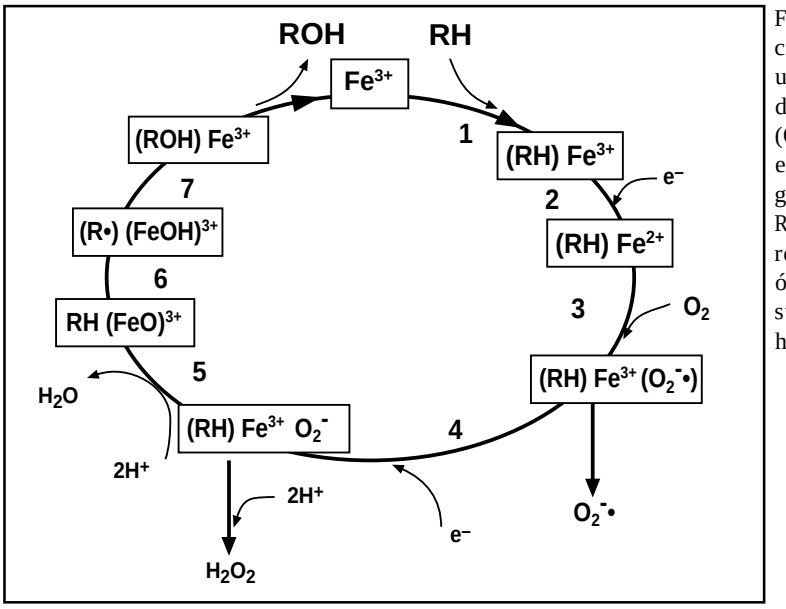

FIGURA 3. Mecanismo de acción del citocromo P450. Este esquema es una simplificación del mecanismo de acción del citocromo P450 (CYP) propuesto por Coon[7]. En él, el Fe^{3+} representa al hierro del grupo heme del CYP oxidado, RH y ROH a los sustratos y productos respectivamente. En este ciclo de óxido-reducción se liberan anión superóxido ($O_2\bullet^-$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

homología estructural, deducida a partir de sus correspondientes cDNAs[12]. Aquellas proteínas CYP de cualquier fuente que presentan 40% o más de identidad en su secuencia, son incluidas en la misma familia, designada por un número arábico, el que va después del término CYP (ej: CYP2A6 y CYP2B6 son enzimas que pertenecen a la familia 2); las isoformas con más de 55% de identidad, son incluidas en la misma subfamilia, designada por una letra mayúscula y a las enzimas individuales se les asigna un número arbitrario específico[12]. Actualmente, se han descubierto más de 160 genes de CYP diferentes en eucariontes y al menos 17 familias han sido descritas en mamíferos.

ENZIMAS CYP EN EL SER HUMANO

En la Tabla 1 se muestran las principales enzimas CYP metabolizadoras de drogas presentes en el hígado humano, los sustratos utilizados como sondas para su estudio, tanto *in vivo* como *in vitro* y algunos de sus inhibidores. Aproximadamente la mitad de las 53 enzimas CYP humanas actualmente conocidas, pertenecen a las familias 1, 2 y 3 y son las responsables de la biotransformación de la mayoría de los xenobióticos[13,14]. Además de las indicadas en la Tabla 1, existen otras enzimas CYP que metabolizan sustratos endógenos y que cumplen importantes funciones fisiológicas en el organismo, por ejemplo, las enzimas de la subfamilia 4A (CYP4A9 y 4A11 serían las detectadas en el hombre) están presentes en gran cantidad en el hígado humano y se caracterizan por participar en el metabolismo de ácidos grasos como el araquidónico[15]. Otros CYPs presentes en hígado humano son los pertenecientes a las subfamilias 4B y 4F, 11A y 11B y a las familias 17, 19, 21 y 27[13,14].

Las diversas isoenzimas del CYP son fácilmente inducibles, lo que posee implicaciones clínicas importantes, puesto que constituye un mecanismo bioquímico de interacción farmacológica. Los inductores más utilizados en los roedores, son el fenobarbital, 3-metilcolantreno y beta-naftoflavona, en cambio en humanos, la rifampicina y el fenobarbital son algunos de los inductores más potentes[15]. En el aumento de la expresión de los diversos tipos de CYPs, están involucrados un incremento de la transcripción génica o mecanismos postranscripcionales como la estabilización del RNA[16].

Especial mención merece el CYP2E1, que es una de las enzimas CYP más estudiadas tanto en animales como en humanos, debido a su papel en el metabolismo del etanol y por su participación en la activación metabólica de una serie de procarci-

Tabla 1. Principales enzimas CYP que metabolizan drogas en hígado humano y algunos sustratos e inhibidores específicos

	Enzima	Sustratos *in vivo* o *in vitro*	Inhibidores
Familia CYP1			
Subfamilia IA	IA2	7-etoxiresorufina (sustrato de toda la subfamilia 1A), cafeína, teofilina **Fenacetina** (O-de-etilación)	Furafillina, 7-8-benzoflavona, Metoxsalem
Familia CYP2			
Subfamilia 2A	2A6	**Cumarina** (7-hidroxilación), Nicotina	Dietilditiocarbamato Metoxsalem
Subfamilia 2B	2B6	7-bencil-oxiresorufina, S-Mefenitoína (N-demetilación)	Fluoxetina, Sertralina
Subfamilia 2C	2C8	Paclitaxel, **tolbutamida** (sustrato de toda la subfamilia 2C)	Sulfafenazol
	2C9	Diclofenaco, warfarina	Sulfafenazol, Fluvoxamina
	2C 19	**S-Mefenitoína** (4-hidroxilación)	Dietilditiocarbamato
Subfamilia 2D	2D6	**Bufuralol** (1-hidroxilación), dextrometorfan (O-demetilación) debrisoquina	Quinidina, Paroxetina Fluoxetina
Subfamilia 2E	2E1	**Clorzoxazona** (6-hidroxilación), anilina, acetaminofen, p-nitrofenol	Dietilditiocarbamato Disulfiran, isoniacida
Familia CYP3			
Subfamilia 3A	3A4	Diazepam (sustrato de toda la subfamilia 3A), midazolam, flunitrazepam, dextrometorfan (N-demetilación), **testosterona** (6-ß-hidroxilación), quinina	Troleandomicina, Ketoconazol, Fluvoxamina, Ciprofloxacina

*Sustrato usado como sonda, en negrita.

nógenos, como N-dimetil nitrosamina y de solventes orgánicos como el tetracloruro de carbono y el benceno[17]. El contenido hepático de CYP2E1 es alrededor de 7% del CYP total y también se encuentra presente en el cerebro y pulmón. La mayoría de sus 70 sustratos demostrados son moléculas pequeñas e hidrofóbicas[18], incluyendo sólo algunos pocos productos farmacéuticos como paracetamol, clorzoxazona, enflurano y halotano[8]. El disulfiram es el inhibidor del CYP2E1 usado en clínica y muchos de sus sustratos son además sus inductores, tal como acetona, etanol, piridina, pirazol e isoniazida[18]. El CYP2E1 además metaboliza acetominofén, formando N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), metabolito hepatotóxico el que en condiciones normales se elimina conjugado con glutatión. En una situación de sobredosis de acetominofén o frente a una ingesta aumentada de etanol (fuerte inductor de CYP2E1) se puede producir hepatotoxicidad.

Además de activar procarcinógenos, el CYP2E1 es importante en patología puesto que se ha descrito como una de las enzimas que produce mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno (anión superóxido y H_2O_2), las que son formadas en presencia o en ausencia de sustrato y que serían los que posteriormente causarían daño tisular[17].

Los diversos individuos responden en distinta forma a la acción de ciertas drogas, lo que se

debería a un diferente contenido de cada isoforma CYP. Una de las causas de esta variación sería la existencia de un polimorfismo genético, lo que produce variantes genéticas que difieren en su actividad para biotransformar xenobióticos[15]. Se conocen alrededor de 50 enzimas de biotransformación polimórficas que varían entre individuos y en diferentes etnias. El polimorfismo más estudiado es el del CYP2D6, el que divide a la población en metabolizadores rápidos y lentos de la droga debrisoquina. Actualmente se sabe que más de 50 drogas, incluyendo antidepresivos, antipsicóticos y drogas cardiovasculares, son metabolizadas primariamente por el CYP2D6[15].

Alteración del CYP en ciertas patologías

La actividad y la expresión de las diversas especies de CYP son profundamente alteradas en la enfermedad. Aunque la modulación de las diversas enzimas es especie selectiva y difiere entre las diversas patologías, en general los niveles de CYP hepáticos están deprimidos, causando un potencial y documentado deterioro del efecto y, en algunos casos, el aumento de la toxicidad de ciertas drogas[19].

Existe escaso conocimiento del efecto de las enfermedades sobre la actividad del CYP en seres humanos, a pesar de que existen numerosas evidencias que demuestran que el CYP se encuentra alterado en modelos animales de diabetes, hipertensión y obesidad[20-22]. Este escaso conocimiento se debería en parte, a que la expresión y actividad del CYP son moduladas por la especie, dieta, edad, estado hormonal y tratamiento con drogas, factores que dificultarían su estudio en humanos. Además del hecho que los estudios en animales no se pueden extrapolar a humanos, existen escasas sondas para estudiar *in vivo* y en forma específica las diferentes isoenzimas CYP (Tabla 1)[14].

A pesar de que existen numerosas patologías en las que se describe una actividad CYP alterada, debido a lo extenso del tema, en este artículo detallaremos sólo aquellas que consideramos de mayor interés clínico.

Función cardiovascular e hipertensión. El ácido araquidónico (AA), además de ser sustrato de las ciclooxigenasas y lipooxigenasas, es metabolizado por el CYP generando derivados hidroxilados y una serie de epóxidos denominados ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs)[4]. El AA es primariamente metabolizado en el cerebro, pulmón, riñón y vasculatura periférica, principalmente al ácido 20-hidroxi-eicosatetraenoico (20 HETE) y determinados EETs, compuestos que jugarían un papel crítico en la regulación de la función pulmonar, renal, cardíaca y el tono vascular[23]. Además, existen evidencias que estos metabolitos del AA participarían en el control del volumen o composición de los líquidos corporales y, de esta manera, estarían involucrados en la fisiopatología de la hipertensión arterial[21,24].

En ratas genéticamente hipertensas, los principales productos del metabolismo del AA catalizado por la subfamilia CYP4A renal, son los hidroxilados en posición ω (20 HETE) y determinados EETs, compuestos a los cuales se le han atribuido propiedades vasoactivas y en la modulación del flujo de iones y excreción de sodio y agua[21]. Algunos EETs como el 11, 12 EET, poseen propiedades vasodilatadoras, en cambio el 20 HETE, propiedades vasoconstrictoras y natriuréticas contribuyendo ambos a la regulación de la función vascular y tubular renal y por ende, al control de la presión arterial[24,25].

En humanos, se ha encontrado que el riñón produce principalmente 20 HETE, en cuya formación participarían las enzimas de la familia 4, los CYP4A11 y CYP4F2, en cambio las enzimas que participan en la formación de los EETs (los CYPC8, CYPC9 y CYPC19) y en la formación de 19 HETE (CYP2E1) no se expresan a niveles apreciables[26]. Existen evidencias de que la excreción de EETs está aumentada en la orina de ratas alimentadas con una dieta rica en sal y en mujeres con toxemia del embarazo[27]. Por otra parte, la excreción urinaria de 20 HETE está elevada en pacientes con síndrome hépato-renal y en ratas DOCA-sal hipertensas (modelo experimental de hipertensión que se logra después de un tratamiento prolongado con deoxicorticosterona), lo que se evidencia al adicionarle sal a sus comidas[28]. Estos resultados y el hallazgo que la excreción de 20 HETE es regulada por la ingesta de sal en pacientes con hipertensión esencial, plantean la necesidad de continuar los estudios sobre el rol fisiológico de estos derivados del metabolismo del AA catalizados por el CYP[29].

Inflamación e infección. En animales de experimentación, se ha demostrado que las enfermedades infecciosas o inflamatorias y aquellos agentes que estimulan células de la línea monocito/macrófago o sus productos (citoquinas e interferones) causan profundos cambios en la expresión de los CYP en el hígado[30]. Las citoquinas pueden suprimir la expresión del CYP por diferentes mecanismos, por ejemplo, en el hígado de rata la mayoría de los CYPs son suprimidos por un estímulo inflamatorio, a excepción de la subfamilia CYP4A que es inducida[31]. Este hecho es poco probable que ocurra en el hombre, porque este efecto es aparentemente dependiente de los receptores α activados por proliferadores peroxisomales (PPARα), cuyos niveles son bajos en los humanos[32].

Hay numerosos estudios de enfermedades inflamatorias o infecciosas que disminuyen el metabolismo de drogas en humanos con importantes consecuencias clínicas[30]. Se ha reportado que el *clearence* de teofilina (sustrato específico del CYP1A2) es disminuido por la influenza o las infecciones por adenovirus[33] y que la administración de interferón alfa (INFα) a humanos, causa una disminución del *clearence* de eritromicina, sonda del CYP3A4[34]. Por otra parte, el metabolismo de otro sustrato de esta enzima *in vivo*, la quinina, también se ha encontrado disminuido en sujetos con malaria[34]. La supresión de ciertas actividades CYP se ha observado en biopsias hepáticas de pacientes sometidos a tratamientos con INFα o INFβ, donde además se encontró una disminución en la actividad microsomal para metabolizar 7-metoxicumarina y 7-etoxicumarina[35].

Diabetes mellitus. En ratas con diabetes tipo 1 inducida químicamente por estreptozotocina (STZ), se ha encontrado un aumento de los niveles de varias enzimas CYP, las formas 1A2, 2A1, 2B1, 2E1 y la subfamilia 2C y 4A y a su vez, una disminución de las enzimas 2A2, 2A11, y 2A13, trastornos que en su mayoría son revertidos por el tratamiento con insulina[36,37].

En diabetes, la regulación de la expresión hepática del CYP 2E1 y 4A1 ha sido lo más estudiado. Una serie de evidencias sugieren que en los roedores, la inducción del CYP2E1 y las enzimas de la subfamilia 4A es causada por factores como ayuno, diabetes y la ingesta de dietas ricas en grasa o en triacilgliceroles[20,38]. En el caso del CYP2E1, se postula que la hipercetonemia sería el factor que induciría más eficientemente a esta enzima en el hígado y por otra parte, el aumento en los niveles plasmáticos y tisulares de los ácidos grasos generados en la diabetes, serían los responsables de la inducción de las enzimas CYP4A, vía PPAR-α[39]. Estudios tanto con células animales como humanas sugieren que el aumento de glucagón induciría al CYP2E1, por lo tanto la razón glucagón/insulina sérica podría ser el mayor regulador del CYP2E1 *in vivo*[17].

A pesar del sinnúmero de evidencias que existen sobre la inducción del CYP2E1 en roedores diabéticos, hay poca información del nivel hepático de esta enzima en humanos. En hígado de diabéticos tipo 1 y 2, el *clearence* de clorzoxazona (sustrato del CYP2E1 *in vivo*) es similar a los valores controles[20]. Similares resultados se han encontrado con el *clearence* de teofilina y cafeína, sustratos del CYP1A2[40]. No hay mayores estudios sobre los efectos de la diabetes sobre las enzimas CYP que tienen importancia clínica, como son los CYP3A4, 2C y 2D6. Estos resultados se deberían a los diversos elementos que estarían involucrados en la regulación del CYP, además, en los humanos aparecen una serie de factores adicionales, como la selección de controles, la severidad en diabetes y el que la mayoría de los pacientes están recibiendo algún tipo de tratamiento.

Obesidad. Los mayores estudios sobre la obesidad han sido realizados en roedores genéticamente obesos, como las ratas Zucker (fa/fa) y los ratones ob/ob. Ambos tipos de roedores son marcadamente obesos, hiperlipidémicos e hiperinsulinémicos y desarrollan diabetes tipo 2 con una leve elevación en la glicemia pero sin hipercetonemia[41,42]. En estos animales, el nivel de CYP2E1 hepático se encuentra reducido y algunas enzimas de la subfamilia CYP4 están aumentadas[43].

En contraste, en hígado de humanos obesos, en ausencia de diabetes, se encontró que la actividad del CYP2E1 estaba aumentada, lo que se evidenció por el mayor clearence de clorzoxazona, en cambio la actividad de la enzima CYP3A4 estaba reducida en 10-35%[44].

Patologías hepáticas. En humanos con patologías hepáticas como la cirrosis de origen colestásico o hepatocelular, los niveles de las enzimas CYP, 2E1

y 1A2 y las de las subfamilias 3A y 2C en el hígado están disminuidas entre 20-80%. Sin embargo, una disminución significativa en los niveles de CYP en el hígado humano está limitada a casos de falla hepática severa[22]. Por otra parte, el CYP2E1 está aumentado tanto en modelos animales como en pacientes con esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, la que se asocia frecuentemente con la diabetes tipo 2 y obesidad[45,46].

El aumento del CYP2E1 encontrado en la esteatohepatitis no alcohólica es asociado a la característica de esta enzima de generar radicales libres, lo que sustentaría la hipótesis que el aumento de CYP2E1 sería uno de los factores que causaría lipoperoxidación de las membranas hepáticas, una de las posibles causas de la esteatohepatitis[39,46].

Conclusiones

Los miembros individuales de la superfamilia de enzimas CYP biotransforman un sinnúmero de sustratos que han sido extensamente estudiados en animales de experimentación, principalmente por su rol en el metabolismo hepático de diversas drogas. Sin embargo, existen escasos estudios en humanos, a pesar de que su expresión y actividad está alterada en una serie de patologías, lo que afectaría la biotransformación de drogas y en consecuencia, el tratamiento farmacológico en estos individuos. Esta dificultad se debería a que la expresión y actividad del CYP es modulada por una serie de factores como sexo, dieta, edad, estado hormonal y tratamiento con drogas. Además, existe poco conocimiento sobre los sustratos y sondas específicos para cada especie de CYP que pueden ser usados en estudios *in vivo*.

En el futuro, será importante avanzar en el conocimiento de los factores fisiológicos, celulares, moleculares y sanguíneos responsables en la regulación del CYP en las diversas patologías humanas y su importancia en el desarrollo de nuevos tratamientos y enfoques terapéuticos.

Referencias

1. Winters DK, Cederbaum AI. Biochemistry of Cytochrome P450. In *Hepatic and bile secretion: Physiology and pathophysiology* 1993, edited by Tavaloni and PD Berk. Raven Press, Ltd., New York. Chapter 27, 407-20.
2. Ding X, Kaminsky LS. Human extrahepatic cytochromes p450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003; 43: 149-73.
3. Goeptar AR, Sheerens H, Vermeulen NPE. Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P450. *Crit Rev Toxicol* 1995; 25: 25-65.
4. Capdevila J, Harris RC, Falck JR. Microsomal cytochrome P450 and eicosanoid metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 780-9.
5. Harder DR, Campbell WB, Roman RJ. Role of cytochrome P450 enzymes and metabolites of arachidonic acid in the control vascular tone. *J Vasc Res* 1995; 32: 79-92.
6. Omura T, Sato R. The carbon-monoxide binding pigment by liver microsomes. *J Biol Chem* 1964; 239: 2379-85.
7. Coon MJ, Ding X, Pernecky SJ, Vaz ADN. Cytochrome P450: progress and predictions. *FASEB J* 1992; 6: 669-73.
8. Guengerich FP. Cytochromes P450 of human liver. Classification and activity profiles of the major enzymes. In: *Advances in drug metabolism in man*. Pacifici GM & Fracchia GN (eds) European Commission. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxenbourg 1995; 179-231.
9. Guengerich P. Uncommon P450 catalysed reactions. *Curr Drug Metabolism* 2001; 2: 93-115.
10. Hollenberg PF. Mechanism of cytochrome p450 and peroxidase catalysed xenobiotic metabolism. *FASEB J* 1992; 6: 686-94.
11. Omura T. Forty years of Cytochrome P450. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 690-8.
12. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ et al. P450 superfamily.

Up date of new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 1-42.
13. Dierks E, Stams K, Lim HK, Cornelius G, Zhang H, Ball S. A method for the simultaneous evaluation of the activities of seven major human drug metabolizing cytochrome P450s using *in vitro* cocktail of probe substrates and fast gradient liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos* 2001; 99: 23-9.
14. Yuan R, Madani S, Wei X, Reynolds K, Huang SM. Evaluation of cytochrome p450 probe substrates commonly used by the pharmaceutical industry to study in vitro drug interactions. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1311-9.
15. Lin JH, Lu A. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinetic* 1998; 35: 361-90.
16. Whitlock JPJ. Induction of cytochrome P4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 103-25.
17. Lieber CS. Cytochrome P4502E1: its physiological and pathological role. *Physiol Rev* 1997; 77: 517-44.
18. Ronis MJJ, Lindros KO, Ingelman-Sundberg M. The CYP2E subfamily. In: *Cytochromes P450: Metabolic and Toxicological Aspects.* Ioannides C & Parke DV eds. CRC Press, Boca Raton, 1996; 211-39.
19. Cheng P, Morgan E. Hepatic cytochrome p450 regulation in disease states. *Current Drug Metabolism* 2001; 2: 165-83.
20. Lucas D, Farez C, Bardou LG, Vaisse J, Attali JR, Valensi P. Cytochrome p450 2E1 in diabetic and obese patients as assessed by chlorzoxazone hydroxylation. *Fundam Clin Pharmacol* 1998; 12: 553-8.
21. Pomposiello SI, Carroll MA, Falck JR, McGiff JC. Epoxyeicosatrienoic acid-mediated renal vasodilatation to arachidonic acid is enhanced in SHR. *Hypertension* 2001; 37: 887-92.
22. Farrell G. Effects of disease on expression and regulation of CYPs. *Mol Aspects Med* 1999; 20: 55-70.
23. Roman R. P450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev* 2002; 82: 131-85.
24. Imig JD. Eicosanoid regulation of the renal vasculature. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279: F965-F981.
25. Parmentier JH, Muthalif MM, Nishimoto AT, Malik KU. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid mediates angiotensin II-induced phospholipase D activation in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 2001; 37: 623-32.
26. Lasker JM, Chen WB, Wolf I, Bloswick BP, Wilson PD, Powell PK. Formation of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid, a vasoactive and natriuretic eicosanoid, in human kidney. Role of CYP 4F2 and CYP 4A11. *J Biol Chem* 2000; 275: 4118-26.
27. Catella F, Lawson JA, Fitzgerald DJ, Fitzgerald GA. Endogenous biosynthesis of arachidonic acid epoxides in humans: increased formation in pregnancy induced hypertension. *Proc Natl Acad Sci* (USA) 1990; 87: 5893-7.
28. Maier K, Henderson L, Narayanan J, Alonso Galicia M, Falck JR. Fluorescent HPLC assay for 20 HETE and other p450 metabolites of arachidonic acid. *Am J Physiol Heat Circ Physiol* 2000; 279: H863-H871.
29. Laffer CL, Laniado-Schwartzman M, Wang MH, Nasjletti A, Elijovich F. Differential regulation of natriuresis by 20-hidroxyeicosatetraenoic acid in human salt sensitive versus salt resistant hypertension. *Circulation* 2003; 107: 574-8.
30. Morgan ET. Regulation of cytochrome P450 by inflammatory mediators: Why and how? *Drug Metab Dispos* 2001; 29: 207-12.
31. Barclay TB, Peters JM, Sewer MB, Ferrari L, González FJ, Morgan ET. Modulation of cytochrome P450 gene expression in endotoxemic mice is tissue specific and peroxisome proliferator activated receptor alpha dependent. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 1250-7.
32. Palmer CN, Hsu MH, Griffin KJ, Raucy JL, Johnson EF. Peroxisome proliferator activated receptor alpha expression in human liver. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 14-22.
33. Kraemer MJ, Furukawa CT, Koup JR, Shapiro GG, Person WE, Bierman CW. Altered theophylline clearence during an influenza B outbreak. *Pediatrics* 1982; 69: 476-80.
34. Mirghani RA, Hellgren U, Westerberg PA, Ericsson O, Bertilsson L, Gustafsson LL. The roles of cytochrome P450 3A4 and 1A2 in the 3-hydroxylation of quinine *in vivo*. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 66: 454-60.
35. Okuno H, Takasu M, Kano H, Seki T, Shiozaki Y, Inoue K. Depression of drug metabolizing activity

in the human liver by interferon beta. *Hepatology* 1993; 17: 65-9.
36. Shimojo N. Cytochrome P450 changes in rats with streptozocin induced diabetes. *Int J Biochem* 1994; 26: 1261-8.
37. Donahue BS, Skottner-Lundin A, Morgan ET. Growth hormone dependent and independent regulation of cytochrome P450 isozyme expression in streptozotocin diabetic rats. *Endocrinology* 1991; 128: 2065-76.
38. Robertson G, Leclercq I, Farrell GC. Non alcoholic steatosis and steatohepatitis II. Cytochrome P450 enzymes and oxidative stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: 1135-9.
39. Kroetz DL, Yook P, Costet P, Bianchi P, Pineau T. Peroxisome proliferator activated receptor alpha controls the hepatic CYP4A induction adaptive response to starvation and diabetes. *J Biol Chem* 1998; 273: 31581-9.
40. Korrapati MR, Vestal RE, Loi CM. Theophylline metabolism in healthy non smokers and in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 413-8.
41. Enríquez A, Leclercq I, Farrell GC, Robertson G. Altered expression of hepatic CYP2E1 and CYP4A in obese, diabetic ob/ob mice, and fa/fa Zucker rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 255: 300-6.
42. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-70.
43. Leclercq IA, Field J, Enríquez A, Farrell GC, Robertson GR. Constitutive and inducible expression of hepatic CYP2E1 in leptin-deficient ob/ob mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 337-44.
44. Lucas D, Ferrara R, González E, Bodenez P, Albores A, Manno M, Berthou F. Chlorzoxazone, a selective probe for phenotyping cyp2E1 in humans. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 377-88.
45. Niemela O, Parkkila S, Junoven RO, Vitala K, Gelboin HV, Pasanen M. Cytochrome P450 2A6, 2E1, and 3a, and production of protein-aldehyde adducts in the liver of patients with alcoholic and non alcoholic liver diseases. *J Hepatol* 2000; 33: 893-901.
46. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P4502E1 is increased in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998; 27: 128-33.