



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PREVALENCIA DE VARIANTES ALÉLICAS EN ENZIMAS QUE  
METABOLIZAN EL ACETAMINOFÉN ASOCIADAS CON RIESGO DE  
DAÑO HEPÁTICO EN POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA

Tesis que para obtener el título de  
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:  
KATTY MERITXELL SÁNCHEZ SÁNCHEZ

DIRECTORA: Dra. WENDY ARGELIA GARCÍA SUASTEGUI



MARZO, 2019

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN  |    |
| 1.1 Población  | 5  |
| 1.1.1 Ley de Hardy-Weinberg  | 6  |
| 1.1.2 Procesos evolutivos que actúan sobre una población                           | 6  |
| Adaptación   | 7  |
| Mutación   | 7  |
| Migración  | 7  |
| Endogamia  | 8  |
| Deriva génica  | 8  |
| 1.2 Población Mexicana   | 9  |
| 1.3 Farmacogenética  | 10 |
| 1.4 Marcadores de susceptibilidad genética   | 11 |
| 1.5 Papel del metabolismo en la toxicidad de algunos compuestos químicos           | 12 |
| 1.6 Principales reacciones de biotransformación de algunos compuestos xenobióticos | 13 |
| 1.7 Reacciones de Fase I   | 13 |
| 1.7.1 Los citocromos P450 (CYP450)   |    |
| 1.7.1.2 CYP2E1   | 13 |
| Localización celular y síntesis  | 17 |
| Localización tisular   |    |
| Sustratos exógenos y endógenos para los citocromos P450                            |    |
| 1.7.1.3 Polimorfismos reportados en CYP2E1   | 19 |

|    |   |    |
|----|---|----|
| 18 | 1.8 Reacciones de Fase II   |    |
|    | 1.8.1 UDP-Glucuronosil transferasas   | 18 |
|    | UGT1A6  |    |
|    | Localización celular y síntesis   |    |
|    | Localización tisular  |    |
|    | Sustratos exógenos y endógenos para las UGTs  |    |
|    | Polimorfismos reportados en UGT1A6  |    |
|    | 1.9 Acetaminofén  |    |
| 19 |   |    |
|    | 1.9.1 Ruta metabólica del acetaminofén  |    |
|    | 20  |    |
|    | 1.9.2 Efectos tóxicos en el hígado  |    |
|    | 22  |    |
|    | 1.9.3 Medidas preventivas contra la hepatotoxicidad   | 22 |
|    | JUSTIFICACIÓN   |    |
| 24 |   |    |
|    | OBJETIVOS   |    |
| 25 |   |    |
|    | HIPÓTESIS   |    |
| 25 |   |    |
| 2  | MATERIAL Y MÉTODOS  |    |
|    | 2.1 Muestreo de individuos  |    |
|    | 25  |    |
|    | 2.2 Purificación de ADN   |    |
|    | 25  |    |
|    | 2.3 Genotipificación por PCR-RFLP y electroforesis  |    |
|    | 26  |    |
|    | 2.3.1 PCR-RFLP rs675982 (UGT1A6 19T>G)  |    |
| 26 |   |    |
|    | 2.3.2 PCR-RFLP rs1105879 (UGT1A6 552 A>C)   |    |
| 26 |   |    |
|    | 2.3.3 PCR-RFLP rs2031920 (CYP2E1 -1053 C>T)   | 26 |
| 3  | RESULTADOS  |    |
|    | 3.1 Distribución geográfica de la muestra   | 27 |
|    | 3.2 Frecuencias genotípicas y alélicas de los marcadores  |    |
|    | 28  |    |
|    | 3.3 Ley de Hardy-Weinberg   | 29 |
|    | 3.4 Diferencias de las frecuencias encontradas con respecto a las reportadas en otras poblaciones |    |
|    | 30  |    |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 3.5   | Riesgo relativo conferido por susceptibilidad genética                |    |
|       |   | 35 |
| 4     | DISCUSIÓN   |    |
| 4.1   | Frecuencias alélicas en poblaciones humanas                           |    |
|       |   | 37 |
| 4.1.1 | En Latinoamérica  |    |
|       |   | 37 |
| 4.1.2 | En Europa, Asia, Oceanía y África                                     |    |
|       |   | 37 |
| 4.2   | Variación en el metabolismo del acetaminofén por enzimas polimórficas | 38 |
| 4.3   | Hepatotoxicidad por acetaminofén                                      |    |
|       |   | 39 |
| 4.4   | Otros factores implicados en hepatotoxicidad por acetaminofén         | 40 |
| 5     | CONCLUSIONES  |    |
|       |   | 40 |
|       | BIBLIOGRAFÍA  |    |
|       |   | 41 |
|       | APÉNDICE I  |    |

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Toxicología Molecular, del Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción, del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a cargo de la Dra. Wendy Argelia García Suastegui.

Este proyecto fue financiado por el Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP) mediante el apoyo a la incorporación de Nuevos Profesores de Tiempo Completo, otorgado a la Dra. Wendy Argelia García Suastegui con el número de folio PTC-516 y el convenio 511-6/17-8017.

Nuestro grupo de investigación agradece a la Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM por la asesoría científica y técnica para el desarrollo de esta investigación, así como permitirnos utilizar sus equipos para la realización de algunos experimentos.

Durante el desarrollo de mi proyecto de tesis fui becario del proyecto PRODEP con el número de folio PTC-516 y el convenio 511-6/17-8017.

## DEDICATORIA

Antes que nada, quiero agradecer a esta bella institución que me permitiera realizar mi formación académica y profesional del nivel superior, y que ahora me siento con la necesidad y orgullo de regresarles el valor académico que me brindó. Me enorgullece ser parte de la maravillosa Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Al apoyo y confianza incondicional que me dieron mis padres, Hugo y Ángeles, que me comprendieron y aceptaron que eligiera una licenciatura nueva, poco conocida y muy arriesgada, la biotecnología. Por su amor, su sabiduría y su manera tan singular de motivarme por lograr mis metas. Por ayudarme a soñar en grande.

A mi hermano Hugo, que sin él no habría alguien que me recordara la importancia de permanecer paciente y tolerante. Además de que se puede seguir queriendo a alguien aún con tantas diferencias en la mente.

A mis abuelas y abuelos que tuvieron y tienen un papel importante en mi vida. Mama Is por sus preocupaciones y por creer en mí al igual que Don Pepe, que aunque ya no está con nosotros me mostró la enseñanza más importante en esta vida, de estar alegres y disfrutar siempre de esta vida sin importar las adversidades con las que estemos lidiando en esta vida. La vida es bella.

A mis Tíos Norma y Mauricio que admiro y quiero mucho; porque me motivan a continuar por caminos complicados pero muy satisfactorios. A mi primo Dago por su apoyo incondicional e historias que compartimos juntos.

A mis amigos biotecnólogos, Yuliana, Luis Ángel y Juan, que estuvieron conmigo siempre y que siempre nos divertimos juntos. Los voy a extrañar.

A la Dra. Wendy, que tengo bastante que agradecerle por permitirme trabajar con ella y compartir conmigo su pasión por la biología molecular y la toxicología. Por todo lo compartido hasta el momento, desde un desayuno hasta un mazapán, risas y consejos, además de ayudarme y guiarme por el mundo de la investigación.

Al laboratorio donde realicé mi Tesis, y a las mejores personas que pude conocer para compartir un laboratorio, Abi, Karen, Jhonny y Ulises, que ahora los siento como más que amigos, como hermanos, por compartir el tiempo y hacerlo tan divertido entre vasos de precipitados y cámaras electroforéticas.

A Oddie y Molly, que amo y quiero con todo mi corazón y me recuerdan cada día lo importante que es cuidar de los demás y de tomar elecciones sabias no solo para nosotros mismos, sino también para cualquier forma de vida en la Tierra.

A la Dra. Abigail y al Dr. Omar por un apoyo que sentí personal y me hicieron modificar mis perspectivas sobre la ciencia y la labor que se tiene como investigador. A todo los profesores que conocí y me inspiraron a profundizar en temas científicos.

## RESUMEN

c Estos resultados demuestran que la población mexicana presenta un riesgo moderado a hepatotoxicidad por acetaminofén, debido principalmente a la alta frecuencia observada para el alelo de riesgo T en posición -1053 del gen *CYP2E1*, estos resultados deben considerarse para tomar decisiones al momento de elegir los fármacos administrados y ajustar la dosis de acuerdo al acervo genético de la población.

## 1. INTRODUCCIÓN

Para que un fármaco logre llegar al mercado, resulta trascendental, que éste, además de curar el mayor número de enfermos, presente el menor número de efectos adversos posibles. Combinar estas dos ecuaciones no siempre es posible, puesto que, muchos fármacos tienen grandes efectos curativos en muchos pacientes, pero también causan efectos adversos en muchos otros [1]. Una vez que los resultados del Proyecto del Genoma Humano estuvieron disponibles, se vislumbraron un sinnúmero de oportunidades para la ciencia, la tecnología, la medicina, la economía y también para la sociedad. Se conoció que sólo existe una diferencia genética muy pequeña entre los seres humanos, de aproximadamente el 0.01%, diferencia suficiente para crear variaciones en el metabolismo de xenobióticos, entre ellos, los fármacos. Se han

reportado diferencias raciales y étnicas en la farmacocinética del paracetamol, sin embargo, la población mestiza mexicana se encuentra excluida de dichos análisis.

La aplicación de la genómica, en la medicina, conducirá a una práctica médica más individualizada, predictiva y preventiva, ya que las intervenciones estarán basadas en los factores de riesgo específicos del individuo.

Con ese fin, los investigadores han comenzado a coleccionar muestras para análisis moleculares en estudios epidemiológicos, con el objetivo de identificar los factores de riesgo genéticos, ligados a alguna enfermedad en particular o a la respuesta a algún fármaco.

## 1.1 Población

Tanto en ecología como en biología evolutiva, se define a una población como un conjunto de individuos pertenecientes a la misma especie, que viven lo suficientemente cerca unos de otros como para interactuar entre ellos (cuyos genes pueden mezclarse), hacer su vida en un área geográfica delimitada y en un tiempo determinado [2]. Mientras que en genética de poblaciones, se define como un grupo de organismos de la misma especie que habitan dentro de un área geográfica lo suficientemente restringida que propicia que cualquier miembro tenga la capacidad de aparearse con otro miembro del sexo opuesto, sin hacer referencia a una especie entera [3], la definición de población *mendeliana* es una versión más simplificada que la anterior, mencionando que es un conjunto de organismos que viven en un lugar, y entre los cuales, los apareamientos se llevan a cabo [4]. Por la simpleza y naturalidad de la definición de población *mendeliana*, ésta será utilizada a lo largo del presente trabajo para referirse a una población.

A pesar de que los miembros de una población pertenecen a la misma especie, son diferentes entre sí en diversos aspectos. Se observan características físicas contrastantes entre individuos que conforman una comunidad, al mismo tiempo que en comunidades que habitan un mismo territorio [5]. Además de los aspectos visibles como edad, tamaño, sexo, etc. existen otros no tan fáciles de identificar, como lo es la composición genética de cada individuo, siendo los alelos los que originan ésta variación.

Desde el punto de vista biomédico, la catalogación de poblaciones humanas de acuerdo a su acervo genético, facilita la investigación y el desarrollo de terapias, fármacos y dosis adecuadas administradas a un individuo en particular; lo que incrementa la efectividad del tratamiento y disminuye los efectos adversos. De acuerdo a las diferencias genéticas y fenotípicas entre seres humanos, se pueden “clasificar” de acuerdo a su etnia y/o raza. Según el censo estadounidense (US Census), la raza es considerada una característica fija del individuo, ligada a su constitución genética, mientras que la etnicidad representa una construcción más amplia, basada en la

tradición cultural, historia, lenguaje, religión, y con frecuencia también comparten herencia genética [6].

### 1.1.1 Ley de Hardy-Weinberg

Define el estado genético de una población mendeliana cuando se excluyen todos los factores que cambian las frecuencias de la población. Es el estado de fuerzas cero. La ley de equilibrio de Hardy-Weinberg es la base de la genética de poblaciones. Es la ecuación que permite establecer la fuerza ejercida de una acción natural sobre la población.

Su relación se mantiene en todas las demás generaciones, si se cumplen las siguientes cuatro condiciones:

- a) El tamaño de la población es muy grande.
- b) Los apareamientos se realizan azarosamente.
- c) Los alelos son igualmente competentes para dejar descendencia.
- d) No hay introducción de alelos por fuentes externas.

Lo que significa que nada cambia y las frecuencias de los genes permanecen iguales, es decir, no hay *evolución*. Cualquier fuerza o fenómeno que cambie estas frecuencias alélicas  $p$  y  $q$  generarán evolución [4]. La ecuación se vuelve interesante cuando se estudian las maneras en las que puede verse modificada. Existen cuatro fuerzas a considerar que pueden cambiar la frecuencia alélica y son la selección natural, deriva génica, mutación y migración [7, 8].

### 1.1.2 Procesos evolutivos que actúan sobre una población

En una población, la proporción de los alelos de los genes que determinan características adaptativas, se modifican con el tiempo, de acuerdo a la acción del ambiente, operando en contra o en favor de dichas características [5].

La selección natural, aunque cualitativamente importante por ser un mecanismo adaptativo, no es la única fuerza de cambio de las frecuencias alélicas y, por ende, de diferenciación genética entre poblaciones humanas. Para que dicha variación en las poblaciones surja, es necesario que intervengan algunos procesos naturales, que confieren esos cambios en los genotipos de los seres vivos. A pesar de que la selección natural lleva a la población a la mayor adecuación promedio, éste mecanismo por sí solo es incapaz de conducir al mayor pico adaptativo [4].

### Adaptación

Se refiere al proceso por el cual algunos de los miembros de una población se vuelven más *aptos*, a través del cambio en una característica fisiológica que afecta su supervivencia o reproducción. Se podría definir a la adaptación como una característica que ha evolucionado a partir de la selección natural [9], ya que la selección natural es el único mecanismo conocido de causar la evolución a partir de las adaptaciones.

## Mutación

Es un cambio en la secuencia de bases en la cadena de ADN, fenómeno poco frecuente en la naturaleza [3]. Ya sea de carácter natural o artificial, es el único fenómeno capaz de generar variabilidad genética [10].

Las mutaciones se pueden originar en los gametos o en cualquiera de las demás células del cuerpo, que se denominan somáticas. Las mutaciones somáticas son irrelevantes desde el punto de vista de genética de poblaciones, ya que sólo afectan al individuo que porta la mutación cuando perturba la función de uno o más genes y se traducen en enfermedad. Las mutaciones gaméticas, que se detectan en óvulos y espermatozoides, son las que tienen relevancia desde el punto de vista evolutivo, ya que se heredan a la descendencia y son capaces de sobrevivir en el tiempo, acumularse y determinar las características genéticas de individuos, poblaciones y especies. En cuanto al efecto, las mutaciones se pueden clasificar como deletéreas cuando van en detrimento del desarrollo normal del individuo; se dice que son neutrales cuando no tienen un efecto evidente sobre el individuo, y se consideran benéficas cuando al portador le dan alguna ventaja que le permite sobrevivir o reproducirse mejor respecto a la población general, lo que en realidad es un evento muy poco probable [11]. La mayoría de los genes mutan a una tasa baja, produciéndose de  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$  nuevas mutaciones por gen por generación [3]. La fijación de un gen mutante depende de factores como: selección natural, grado de dominancia, sistema de apareamiento y la deriva genética, debiendo ser favorables y constantes para su permanencia [10]. La mutación es importante puesto que genera variación, pero es poco relevante para cambiar las frecuencias alélicas [12].

## Migración

Los humanos son seres vivos muy dinámicos, siendo capaces de trasladarse a distintas regiones del planeta. Ésta gran movilidad, les permite introducir nuevos alelos, infecciones y enfermedades en general, que acarrearán siempre con ellos mismos a otra población. Las migraciones hacia nuevos territorios producen la fundación y población de comunidades, pero las migraciones entre poblaciones ya establecidas derivan en grados variables de mezclas [5].

Las migraciones entre poblaciones tienen el efecto opuesto a la deriva génica, aumentando la variabilidad intrapoblacional y disminuyendo las diferencias interpopulacionales [5].

La migración depende de dos factores: 1) la tasa de migración y 2) la frecuencia génica de los individuos migrantes. La migración tiene efectos homogenizadores entre poblaciones diferentes, y si ésta mezcla continua por un periodo de tiempo prolongado, ambas poblaciones quedarán idénticas [4]. El resultado que representa la cruce entre poblaciones distintas dependerá de sus frecuencias genéticas, debido a que tendrá un efecto positivo si los nuevos alelos introducidos afectan de manera positiva la

adecuación de la población, y tendrá un efecto negativo si los alelos introducidos se encuentran adaptados a un ambiente distinto al que llegaron, lo que resultaría en una disminución de la adecuación promedio.

### Endogamia

La endogamia tiene lugar cuando se da el apareamiento entre individuos que están relacionados, produciendo descendencia “innata” [3]. En la mayoría de las ocasiones se da debido a que los organismos tienen capacidades de dispersión y colonización limitadas.

Los efectos son conocidos, como lo es el aumento en el número de homócigos dentro de cada familia, pudiéndose calcular las probabilidades de que sea homóciga para un gen dado, aunque no se puede saber para cuál alelo; cuanto más consanguíneos sean los apareamientos, más rápidamente se perderá la heterocigosis [12].

### Deriva génica

El tamaño de la población afecta profundamente a los valores de las frecuencias alélicas y tiene una definición específica dentro del contexto de genética de poblaciones. La deriva génica se da en poblaciones pequeñas y ocasiona fluctuaciones azarosas en las frecuencias alélicas de una generación a la siguiente, a causa de las muestras finitas de individuos, gametos y finalmente, alelos, que contribuyen a la siguiente generación [13].

La deriva génica tiene dos efectos: cambio en las frecuencias alélicas al azar, y eventualmente, que se fije alguno de los alelos (desaparición del otro) [12]. Sólo las mutaciones nuevas o migrantes pueden reintroducir variación a la población [3].

El fenómeno de deriva génica también se aplica cuando se forma una población nueva a partir de otra mayor, las frecuencias génicas pueden ser considerablemente distintas a la población de origen. En las siguientes generaciones, mientras la población mantenga un tamaño reducido, se pueden producir fluctuaciones en sus frecuencias alélicas que serán cada vez menores a medida que la población aumente su tamaño. Cuando los fundadores de una población portan alelos raros, éstos pueden llegar a tener una frecuencia alta o fijarse (frecuencia de 100%) en el nuevo grupo. Lo que se conoce como *efecto fundador*. A su vez, algunos otros pueden llegar a tener una frecuencia muy baja o desaparecer, ya que al azar dejaron de segregarse en alguna (s) generación (es) [11].

## 1.2 Población Mexicana

Para comprender la genética y su relación con la salud de la población mexicana, es necesario entender su diversidad. La población de México se encuentra constituida por una gran diversidad de razas y etnias, que reflejan el resultado del mestizaje suscitado por la llegada de los conquistadores en 1521, momento en el que comienza el surgimiento de la población actual mexicana [8].

Las regiones geográficamente distantes en México cuentan con diferentes dinámicas de poblaciones, a causa de componentes ancestrales distintos y a las condiciones demográficas que afectan a cada región [14]. El componente amerindio es la base de nuestra población, junto con el europeo que trajeron consigo los españoles, y una pequeña proporción proveniente de África, que igualmente trajeron los españoles [8, 15].

Los descubrimientos genéticos y arqueológicos sugieren que los primeros americanos vinieron de Asia y cruzaron por el estrecho de Bering, hace aproximadamente 30000 y 100000 años, a partir de lo cual, hubo tres mayores movimientos migratorios hacia el Norte, Centro y Sur de América [8, 16-18]. Análisis del cromosoma Y y ADN mitocondrial han demostrado que los Nativos Americanos se encuentran muy estrechamente relacionados con personas del borde entre Mongolia y la Rusia Siberiana [19, 20], estos estudios confirman una ancestría en común al origen contemporáneo de las poblaciones indígenas en América Latina y el Caribe.

Durante el periodo prehispánico, la mayoría de la población estaba concentrada en la parte centro y sur del territorio mexicano. Los grupos étnicos que habitaban el norte de México, en ese entonces, no contaban con una unidad lingüística, religiosa o política. Después de 1492, en Latinoamérica y el Caribe se llevó a cabo una gran mezcla de razas sin precedentes.

Los estudios en genética moderna han revelado patrones complejos de ancestría en las colonias españolas fundadoras. La ancestría europea presente en Latinoamérica se originó en la Península Ibérica, donde antes de 1492, la población era extremadamente diversa, la cual consistía de ibéricos, celtas, griegos, romanos, judíos Sefárdicos, árabes, gitanos, entre otros más [6, 21].

Fue hasta dos siglos después de la conquista que la región del norte captó la atención de los españoles, principalmente por los depósitos de plata descubiertos ahí [14]. Los esclavos africanos fueron traídos a México hasta que la población Amerindia se redujo notablemente por las epidemias ocurridas entre los años de 1545 y 1548. Los africanos se mezclaron frecuentemente con individuos indígenas y mestizos, y muchos otros fueron llevados a regiones con minas para que las trabajaran. A pesar de que la mayoría de los esclavos africanos fueron transportados a lo que es hoy Colombia, Brasil, y el Caribe, cerca de 230 000 fueron importados también a México, Chile, Argentina y Bolivia entre 1521 y 1650.

Ésta serie de eventos únicos, son los que dieron lugar a una población que se deriva de más de 60 grupos Amerindios locales, europeos, y aunque en menor medida, africanos. Estos grupos se entremezclaron en los 500 años posteriores a la conquista,

originando a la población “Mestiza” que representa el día de hoy, al 80% de los mexicanos [6].

En el año del 2005 se logró secuenciar el genoma del mexicano, por el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), lo que dio pie al estudio de su constitución, identificación de marcadores de ancestría, de susceptibilidad a padecer enfermedades, historial de infecciones virales, variabilidad de respuesta inmune, variabilidad de los procesos de desintoxicación, etc. Además, se han sumado diversas áreas a su estudio, como la farmacogenética, la cual busca otorgar un mayor beneficio del uso de los medicamentos al individuo considerando su composición genética.

### 1.3 Farmacogenética

Continuamente, se señala que muchos de los medicamentos utilizados hoy en día sólo tienen una eficacia relativa. Por ejemplo, los antidepresivos no son efectivos en un 20-50 por ciento de los pacientes, los beta-bloqueadores fallan en 15-35 por ciento de los que reciben el tratamiento, y uno de cada cinco o incluso tres de cada cinco personas que sufren de migraña, no pueden encontrar un medicamento efectivo que alivie el malestar [22].

Se ha sabido desde hace numerosos años, que ciertos fármacos son capaces de producir efectos adversos letales o más peligrosos en individuos específicos. Lo anterior se puso de manifiesto en la segunda guerra mundial, cuando se les desintegraban los eritrocitos de la sangre (hemólisis) a los soldados afroamericanos al suministrarles un antimalárico (primaquina), debido a que estas personas poseen una deficiencia enzimática en el metabolismo de la glucosa. Por otro lado, un compuesto que se utiliza para combatir la tuberculosis (isoniazida) provoca problemas neurológicos en algunos individuos, ya que esta sustancia no se elimina adecuadamente en el hígado, debido a una modificación en el gen que codifica para la acetilasas; a estos individuos se les nombró como “acetiladores lentos” y constituyen entre el 40-60% de los caucásicos [1].

Estas diferentes respuestas al tratamiento con los fármacos que sufren algunos individuos se deben a sus perfiles genéticos. Las variaciones en el genoma generan que, determinados componentes del metabolismo celular, no se encuentren en las mismas proporciones ni sean igualmente activos en todos los individuos. Por lo tanto, cuando el fármaco llega a ese órgano, tejido o célula se va a encontrar con un escenario diferente en cada caso y así los efectos que esta droga va a causar



Ilustración SEQ Ilustración \* ARABIC 1. Factores exógenos y endógenos que contribuyen a la versatilidad de la respuesta a fármacos. Obtenido de: Brunton, 2007 [24].

en ese sistema serán también diferentes [23]. Es por eso que se espera que la atención médica personalizada tomando en cuenta la composición genética del individuo, mejore la situación [22].

La farmacogenética es el estudio de las variaciones en las respuestas farmacológicas con respecto a su componente hereditario. La respuesta a los fármacos se considera un fenotipo genético como resultado del ambiente. Esto es, la respuesta de cada persona a un medicamento depende de la interrelación entre los factores ambientales y los factores genéticos. Por lo tanto, la versatilidad de las respuestas farmacológicas puede explicarse por las variaciones de los factores ambientales y genéticos, solos o combinados [24].

El análisis más sencillo de la farmacogenética consiste en analizar genes determinados en los diferentes individuos que van a ser sometidos a un tratamiento farmacológico para tratar de correlacionar si las variaciones/mutaciones que aparecen en estos genes dan cuenta de los efectos positivos y/o negativos de este fármaco [23].

### 1.3 Marcadores de susceptibilidad genética

Los marcadores moleculares son útiles tanto en investigación básica como en la aplicada. La posibilidad de identificar marcadores de susceptibilidad genética relacionados con alteraciones en la salud ante la exposición a determinados compuestos, proporciona información para predecir el peligro y poder intervenir para eliminar, disminuir o retrasar el posible daño [25].

Según el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano (NHGRI, por sus siglas en inglés), un marcador genético es un segmento de ADN con una ubicación física conocida en un cromosoma (utilizado como un “punto de referencia”), puede ser parte de un gen o puede no tener ninguna función conocida. Los marcadores genéticos pueden ser variantes polimórficas.

Los polimorfismos proveen variación alélica entre individuos, y sólo puede ser considerado polimorfismo si la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1% [26]. Un alelo se define como las variaciones posibles de un gen o secuencia de ADN en la población, cada individuo tiene dos alelos por cada gen, uno heredado del padre y otro de la madre, y cada par de estos alelos en la célula conformará un genotipo. Un genotipo se define como un conjunto de dos haplotipos, los cuales, a su vez son un conjunto de alelos heredados en conjunto por ubicarse en la misma región cromosómica [6].

Los marcadores que confieren una alta probabilidad de padecer una enfermedad son útiles como herramientas de diagnóstico, o respuesta a la terapia [27].

Los marcadores genómicos, incluyen: Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción (RFLPs), Repeticiones Cortas en Tándem (STRs) o también mejor conocidos como microsatélites, Polimorfismos por Inserción o Delección, Polimorfismos de un Solo Nucleótido (SNPs) y grupos de marcadores que son heredados juntos en un cromosoma como haplotipo, están siendo utilizados para elucidar la base genética de

una enfermedad y de la interacción del fármaco en el individuo. Los marcadores polimórficos que se utilizan más comúnmente incluyen a los microsatélites y SNPs [23].

Los SNPs han recibido mucha atención por su potencial como marcadores genéticos. Tienen la ventaja de estar presentes en el genoma humano a una frecuencia muy alta (con una ocurrencia promedio de 1 cada 1000 nucleótidos) y son fáciles de genotipificar utilizando la tecnología actual [27]. Los SNPs son muy útiles para examinar la susceptibilidad humana a enfermedades complejas y eventualmente pueden ser muy importantes para localizar genes que confieren susceptibilidad a esas enfermedades [23]. Los SNPs se encuentran en regiones codificantes y no codificantes. Los SNPs que se encuentran en regiones codificantes de proteínas, particularmente no-sinónimos (alteración en el aminoácido), y en regiones regulatorias que controlan la expresión génica, son de particular interés para estudios que pretenden asociar la influencia genética en las reacciones de biotransformación.

#### 1.4 Papel del metabolismo en la toxicidad de algunos compuestos químicos

La vida del ser humano exige la exposición diaria a una amplia variedad de sustancias químicas que muchas veces resultan extrañas o ajenas al organismo (xenobióticos), las cuales, pueden ser ingeridas o absorbidas a través de la piel y pulmones. Este contacto entre seres humanos y sustancias químicas puede ser inadvertido, accidental y en algunas situaciones, inevitable. En la actualidad, la mayor parte de los productos xenobióticos a los que se encuentra expuesto el ser humano, provienen de la contaminación ambiental, los aditivos alimentarios, los cosméticos, las sustancias agroquímicas, los alimentos procesados y los fármacos.

La mayoría de las sustancias mencionadas en el párrafo anterior son de naturaleza lipofílica, por lo que, en ausencia del metabolismo no se eliminarían de manera eficaz y, consiguientemente, se acumularían en el organismo y producirían efectos adversos [24]. Muchas de éstas sustancias inducen una respuesta biológica capaz de transformar al compuesto químico lipofílico en un metabolito más polar, que facilitará su excreción del organismo, ya sea a través de bilis u orina.

Los xenobióticos pueden resultar inocuos o tóxicos a los humanos dependiendo de la naturaleza de éste. Algo que es muy importante tomar en cuenta, es que la toxicidad de los compuestos químicos es una *cualidad relativa*, debido a que la relación que existe entre la sustancia y la toxicidad se ve afectada por factores como dosis, edad, sexo, circunstancias fisiológicas y ambientales, etc. [28].

El metabolismo de xenobióticos no siempre es un proceso inofensivo, ya que cambios en: nivel de exposición, mecanismos alternativos de desintoxicación y disponibilidad de co-sustratos detoxificadores endógenos (como el ácido glucurónico, sulfato, glutatión), puede provocar toxicidad orgánica o carcinogénesis. Un ejemplo es la hepatotoxicidad inducida por los metabolitos del paracetamol [29].

#### 1.6 Principales reacciones de biotransformación de algunos compuestos xenobióticos

La biotransformación es el proceso mediante el cual un compuesto xenobiótico, esencialmente poco soluble en agua, se convierte en un metabolito más hidrosoluble y más fácilmente excretable [30], y representa al principal mecanismo para conservar la homeostasia durante la exposición de los organismos a moléculas extrañas pequeñas, como los fármacos [31].

Los fármacos se consideran productos xenobióticos y el ser humano metaboliza la mayor parte de ellos. La capacidad que tiene el ser humano de metabolizar y depurar fármacos es un proceso natural que incluye las mismas vías enzimáticas y sistemas de transporte que se utilizan para el metabolismo normal de los componentes de la dieta [24].

Para su estudio, la biotransformación puede dividirse en dos fases, las reacciones de Fase I y las reacciones de Fase II.

### 1.7 Reacciones de Fase I

La fase I se refiere a todas las reacciones que introducen grupos funcionales o reactivos a las moléculas, en las que intervienen reacciones químicas como la hidrólisis, la oxidación y la reducción. Esta fase es catalizada principalmente por el sistema enzimático de los citocromos P450.

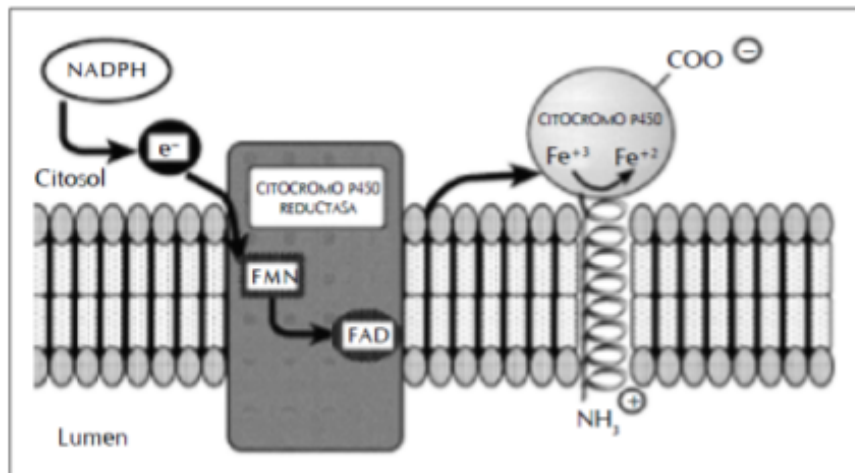
#### 1.7.1 Los Citocromos P450 (CYP450)

La P significa pigmento, y el 450 es la longitud de onda donde tiene su absorción espectral máxima el complejo que este citocromo forma con el monóxido de carbono [28].



Ilustración 2. Reacción llevada a cabo por el complejo enzimático CYP450, el cual requiere de NADPH y oxígeno molecular para oxidar a su sustrato. En su mayoría, el resultado de esta reacción son productos hidroxilados. *Obtenido de: Jaimés-Santoyo, 2014 [32].*

Los citocromos P450 son proteínas transportadoras de electrones que catalizan reacciones de óxido-reducción (Ilustración 2). Durante el transporte de electrones en la respiración se alterna de manera reversible un grupo prostético hemo, entre los estados de oxidación ferroso y férrico (Ilustración 3). Su expresión se encuentra regulada por una respuesta adaptativa al estrés ejercido por los agentes xenobióticos [30].



Tanto los compuestos endobióticos, como xenobióticos son metabolizados por las enzimas oxidasas de función mixta que se encuentran en el retículo endoplásmico y en las mitocondrias de una variedad de células, tejidos y órganos de diversos seres vivos.

Como familia de enzimas, las CYP participan en el metabolismo de productos de la dieta y xenobióticos, así como en la síntesis de compuestos endógenos como esteroides y el metabolismo de ácidos biliares, que son subproductos de la degradación del colesterol. De este citocromo se han encontrado una gran diversidad de isoenzimas que tienen actividades distintas específicas sobre distintos sustratos. Por lo que se dice que forman una superfamilia de enzimas [28].

| Familia | Función  | Miembros                                 | Nombres   |
|---------|--|--|---|
| CYP1    | Metabolismo de drogas y esteroides (especialmente estrógenos)                | 3 subfamilias, 3 genes, 1 pseudogén      | CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1  |
| CYP2    | Metabolismo de drogas y esteroides   | 13 subfamilias, 16 genes, 16 pseudogenes | CYP2A6, CYP2A7, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1 |
| CYP3    | Metabolismo de drogas y esteroides (incluyendo testosterona)                 | 1 subfamilia, 4 genes, 2 pseudogenes     | CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43   |
| CYP4    | Metabolismo del ácido araquidónico   | 6 subfamilias, 11 genes, 10 pseudogenes  | CYP4A11, CYP4A22, CYP4B1, CYP4F2, CYP4F3, CYP4F8, CYP4F11, CYP4F12, CYP4F22, CYP4V2, CYP4X1, CYP4Z1                               |
| CYP5    | Tromboxano A <sub>2</sub> sintetasa  | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP5A1  |
| CYP7    | Biosíntesis de las sales biliares (7-alfa hidroxilasa del núcleo esteroideo) | 2 subfamilias, 2 genes                   | CYP7A1, CYP7B1  |
| CYP8    | Variada  | 2 subfamilias, 2 genes                   | CYP8A1 (prostaciclín sintetasa), CYP8B1 (biosíntesis de sales biliares)   |
| CYP11   | Biosíntesis de esteroides  | 2 subfamilias, 3 genes                   | CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2   |
| CYP17   | Biosíntesis de esteroides 17-alfa hidroxilasa                                | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP17A1   |
| CYP19   | Biosíntesis de esteroides  | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP19A1   |
| CYP20   | Desconocida  | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP20A1   |
| CYP21   | Biosíntesis de esteroides  | 2 subfamilias, 2 genes, 1 pseudogen      | CYP21A2   |
| CYP24   | Degradación de la vitamina D   | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP24A1   |
| CYP26   | Hidroxilasa del ácido retinoico  | 3 subfamilias, 3 genes                   | CYP26A1, CYP26B1, CYP26C1   |
| CYP27   | Variada  | 3 subfamilias, 3 genes                   | CYP27A1 (biosíntesis de sales biliares), CYP27B1 (vitamina D3 1-alfa hydroxylase), CYP27C1 (función desconocida)                  |
| CYP39   | 7-alfa hidroxilación del 24-hidroxicolesterol                                | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP39A1   |
| CYP46   | Colesterol 24-hidroxilasa  | 1 subfamilia, 1 gen                      | CYP46A1   |
| CYP51   | Biosíntesis del colesterol   | 1 subfamilia, 1 gen, 3 pseudogenes       | CYP51A1 (lanosterol 14-alfa demetilasa)   |

Ilustración 4. Genes y proteínas que pertenecen a las principales familias y subfamilias del CYP450 en el Humano. Obtenido de: Jaimes-Santoyo et al., 2014 [32].

Así para aludir a la familia se propuso utilizar los ordinales romanos: I, II, III, IV, XI, XVII, XIX, XXI, etc. (aunque muchos usan actualmente los números arábigos), seguidos de las letras mayúsculas, de la A a la E, para señalar a la subfamilia, y por números arábigos que indican el gen individual que ordena la síntesis [28]. En la

Ilustración 4 se muestran las diferentes enzimas que pertenecen a la familia de las CYP450.

Las enzimas de las familias I y II de todos los organismos participan en la desintoxicación o en la activación de xenobióticos. Contribuyen en los procesos de carcinogénesis, son determinantes en el metabolismo, en la tolerancia y compatibilidad de drogas y pesticidas. Las familias III y IV se consideran como los restos más ancestrales de las formas de CYP-450 involucradas en la desintoxicación de especies de oxígeno no activo [32].

Los citocromos P450 se encuentran en los eucariontes tanto en el retículo endoplásmico como en las mitocondrias. En el retículo endoplásmico (RE) se encuentran orientados hacia el citoplasma, mientras que en las mitocondrias lo están hacia el interior (la luz) [30].

Las enzimas P450 microsomales hepáticas juegan un papel muy importante en la determinación de acción de los fármacos y su duración, así como en la desintoxicación de xenobióticos [31]. Los microsomas son fracciones de retículo endoplásmico.

Los metabolitos reactivos que se producen pueden dar lugar a dos tipos de reacciones:

- 1) Uniones covalentes a otras biomoléculas como ácidos nucleicos y proteínas, incluida la propia enzima que los produce (CYP450), provocando su inactivación en lo que se conoce como *reacción suicida*.  
Unión a ácidos nucleicos, proteínas, inhibición del citocromo
- 2) Peroxidación de los lípidos celulares.

[28]

Entre las isoformas de CYP, la CYP2E1 juega un papel importante dentro de la biotransformación y activación de compuestos lipófilos e intermediarios tóxicos o carcinógenos.

#### 1.7.1.2 CYP2E1

La CYP2E1 comprende el 7% de todas las isoenzimas expresadas en el hígado de la familia CYP450 [25]. Es una enzima toxicológicamente importante, de gran interés para la medicina industrial y para el medio ambiente, ya que tiene la habilidad de convertir numerosos sustratos presentes en el medio ambiente a citotoxinas, y está relacionado con la activación de una amplia variedad de xenobióticos; más de 70 compuestos orgánicos tales como alcoholes, aldehídos, éteres, ácidos grasos, cetonas, hidrocarburos alifáticos y aromáticos, dialquilnitrosaminas, etilcarbamatos, solventes halogenados o fármacos, son metabolizados por el CYP2E1 [25].

El gen CYP2E1 tiene 4 transcritos (*splice variants*) [33], y es una proteína que ha sido asociada a 237 enfermedades, entre las que destacan carcinomas, neoplasias, melanomas, glioma, enfermedad en el hígado y enfermedad metabólica, entre otras

más. [34]. El metabolismo del CYP2E1 es inducido por el alcohol, la acetona y el ayuno [35].

Los citocromos mitocondriales se sintetizan en los ribosomas libres bajo la forma de precursores peptídicos y se integran a la membrana de forma post-traducciona. La dirección hacia una u otra membrana se efectúa por secuencias señal específicas, localizadas en el extremo N-terminal, que son reconocidas por receptores específicos y propios de cada organelo [30]. La enzima CYP2E1 tiene una mayor presencia en RE y mitocondrias como se esquematiza en la Ilustración 5.

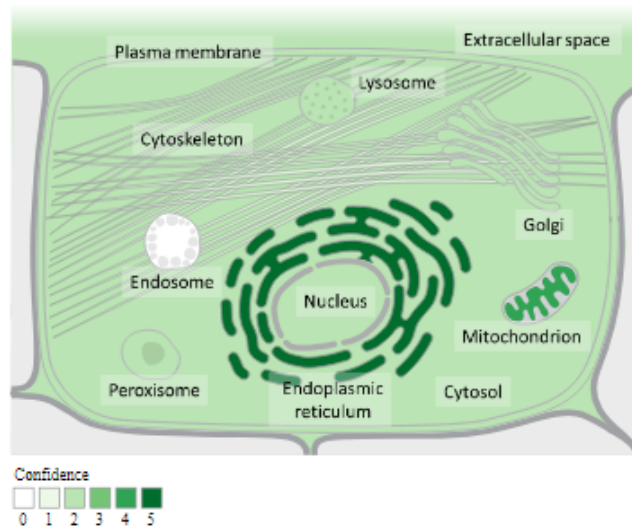


Ilustración 5. Estructuras celulares que cuentan con la presencia de la enzima CYP2E1. Los sitios teñidos de verde muestran la ubicación de la enzima.

Obtenido de: <https://www.genecards.org> [36].

Es un gen que se encuentra muy conservado entre distintas especies de mamíferos, como los humanos, ratas, ratones, perros, cerdos, y otros más. Se expresa en la gran mayoría de los tejidos, siendo más alta su expresión en órganos como el hígado, el intestino, los pulmones, el riñón, los ovarios, los testículos, las glándulas suprarrenales y la placenta [30].

La CYP2E1 es capaz de metabolizar tanto sustratos exógenos como endógenos, reaccionando con más de 70 compuestos orgánicos [25], de entre los cuales, destacan los siguientes:

#### Sustratos exógenos

Agentes terapéuticos, antibióticos, antioxidantes, solventes, anestésicos, pesticidas, derivados del petróleo, alcoholes y acetaminofén.

#### Sustratos endógenos

Esteroides, eicosanoides, ácidos grasos, hidroperóxidos (lípidos), retinoides, acetona.

### 1.7.1.3 Polimorfismos reportados en CYP2E1

Hasta el año de 1999 se habían identificado 9 alelos mutantes para éste gen [35]. A su vez, se han reportado diversos sitios polimórficos en la región flanqueante 5' y en la región intrónica del gen CYP2E1, los cuales, se encuentran asociados con un incremento en los factores de riesgo de cáncer y otras enfermedades [37-39], sin embargo, los resultados que se han obtenido a partir de los estudios de correlación entre estos polimorfismos y sus efectos en la salud no han sido consistentes.

El polimorfismo *RsaI* está localizado en la región flanqueante 5' y ha sido propuesto que esta correlacionado con un incremento de 10 veces en la tasa de transcripción, llevando a un metabolismo incrementado de la enzima [35]. Diversos estudios reportan su participación en el metabolismo del acetaminofén [40] y asocian el incremento en su expresión con mayor riesgo a presentar hepatotoxicidad en humanos.

## 1.8 Reacciones de Fase II

La fase II del metabolismo, es la conjugación de los metabolitos generados en la fase I con aminoácidos, ácido glutámico o glutatión; estas conjugaciones facilitan el transporte y la eliminación de los metabolitos. Las enzimas que participan en esta fase se consideran de naturaleza sintética, debido a que provocan la formación de metabolitos de mayor masa molecular. Todas las reacciones de la fase II ocurren en el citosol de la célula, con excepción de la glucuronidación, que se realiza en el lado luminal del RE.

La velocidad de las reacciones de la fase II es bastante mayor que la de los CYPs. Por consiguiente, si el destino de un fármaco es la oxidación de Fase I a través de los CYPs, seguida de una reacción de conjugación de Fase II, por lo general la velocidad de eliminación dependerá de la reacción inicial de oxidación [24].

Esta fase conjugativa, es catalizada fundamentalmente por la enzima glutatión transferasa; aunque también participan las enzimas UDP-glucuronosil transferasas y las sulfottransferasas, entre otras [30]. Los metabolitos intermedios del acetaminofén son conjugados por UDP-glucuronosil transferasas y las Sulfottransferasas para eliminarlos en la bilis y orina.

### 1.8.1 UDP-Glucuronosil transferasas

La superfamilia de enzimas UDP-glucuronosiltransferasas forman parte de la fase II del proceso de biotransformación. Su función es la de adicionar un grupo glicosil de un azúcar nucleotídico a una molécula pequeña hidrofóbica [41].

Las nueve proteínas funcionales de UGT1 son codificadas por el locus *UGT1*, ubicado en el locus 2q37. Este locus abarca casi 200 kb y más de 150 kb codifican una hilera de regiones de secuencias de exones que codifican cerca de 280 aminoácidos de

la porción amino terminal de las proteínas UGT1A (Ilustración 6). La versatilidad en la especificidad de los sustratos para cada UGT1A se deriva de la gran divergencia en la

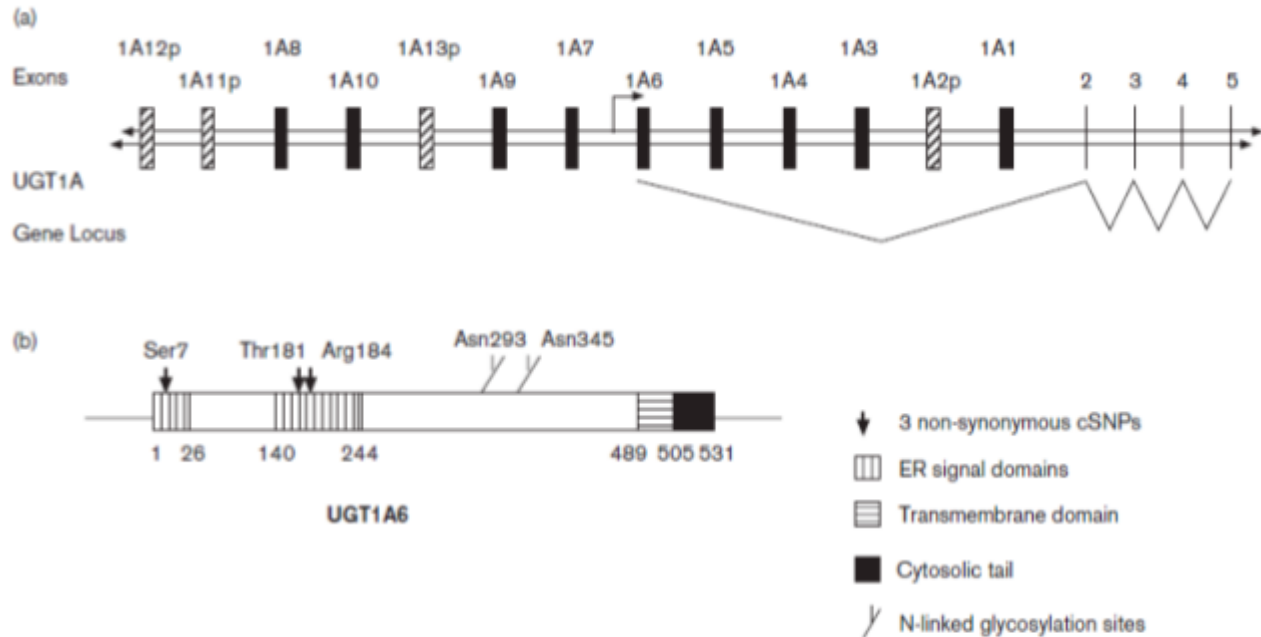


Ilustración 6. (a) Locus del gen UGT1, donde las cajas negras representan a los exones específicos para cada isoforma del gen y las cajas lineares son los cuatro exones que tienen en común todas las isoformas del gen. (b) Región del gen UGT1A6 que contiene las variantes polimórficas del mismo. Los tres cambios en los aminoácidos se localizan en el dominio de señalización del RE.

Obtenido de: Nagar, et al., 2004 [52].

secuencia codificada por las regiones del exón 1 [24].

La reacción de glucuronidación, catalizada por las enzimas UGTs integradas a la membrana del retículo endoplasmático, implica la transferencia del co-sustrato UDPGlcA a moléculas hidrofóbicas (también llamadas agliconas); dando como resultado la formación de ácido  $\beta$ -D-glucopiranosidurónico o derivados de glucuronósidos. Ésta transferencia genera una modificación en la molécula blanco, por lo que modifica su actividad biológica; incrementando la polaridad para facilitar su excreción a través de bilis u orina [42].

Se han descrito dos funciones biológicas primordiales de las enzimas UGTs: 1) Su participación es un factor determinante en la protección contra distintas toxinas que se encuentra en los alimentos, carcinógenos del humo de tabaco, medicamentos y distintos contaminantes ambientales y 2) son factores claves en la homeóstasis de compuestos endógenos, como la bilirrubina, hormonas esteroideas y tiroideas, ácidos grasos y ácidos biliares [42].

### 1.9 Acetaminofén

El Acetaminofén (N-acetil-p-aminofenol, APAP) también conocido como paracetamol (PARA) es un compuesto de bajo peso molecular. Es un ácido extremadamente débil (pka 9.7) y por lo tanto es ionizado en valores fisiológicos de pH [23]. Puede ser

sintetizado dentro del cuerpo por la O-desalquilación a partir de la fenacetina, un analgésico que fue retirado del mercado debido a que provocaba nefrotoxicidad y carcinogénesis [43, 44]. A dosis terapéutica de 1-2 g/día, el paracetamol ingerido de manera oral es indicado para la fiebre y el alivio de dolores leves a moderados. La dosis terapéutica máxima de paracetamol recomendada para un adulto es de 4 g/día y de 50-75 mg/kg/día en niños. El consumo de dosis mayores a 7 g en adultos y de 150 mg/kg/día en niños es considerado potencialmente tóxico para el hígado y los riñones, a causa del metabolito intermedio altamente reactivo **N-acetil-p-benzoquinona Imina (NAPQI)** capaz de unirse a macromoléculas [45]. Una de las enzimas responsables de la formación del metabolito NAPQI es el CYP2E1, la variante alélica CYP2E1 *RsaI* C2 incrementa la síntesis de esta enzima, lo que trae como resultado un incremento en la producción de NAPQI durante el consumo de acetaminofén.

El acetaminofén puede utilizarse eficazmente en vez de la aspirina como agente analgésico-antipirético; sin embargo, son mucho más débiles sus efectos antiinflamatorios. El fármaco es bien tolerado y es pequeña su incidencia de efectos adversos gastrointestinales. Se expende sin receta y se utiliza como analgésico casero común. Sin embargo, en dosis excesivas y a muy breve plazo puede originar daño intenso del hígado, y va en aumento el número de casos de intoxicación accidental o deliberada con este producto. El uso prolongado de menos de 2 g/día de acetaminofén no se acompaña típicamente de disfunción hepática [24].

#### 1.9.1 Ruta metabólica del acetaminofén

El acetaminofén tiene una alta biodisponibilidad oral (88%), es bien absorbido y alcanza los picos más altos de concentración en sangre dentro de los 90 minutos posteriores a la ingestión [43, 45]. Presenta una vida media plasmática de 1.5-2.5 horas en dosis recomendadas [46]; mientras que en las sobredosis el tiempo de su vida media se extiende de 4 a 8 horas y está directamente relacionado con daño en hígado [45].

Entre 90 y 100% del medicamento se recupera en la orina antes de 24 h de la primera dosis terapéutica, predominantemente después de conjugación por el hígado, con ácido glucurónico (aproximadamente 60%), ácido sulfúrico (cerca de 35%) o cisteína (alrededor de 3%); también se han detectado cantidades pequeñas de los metabolitos hidroxilados y desacetilados [24].

La capacidad de glucuronidación del medicamento es menor en niños que en adultos. Una proporción pequeña del acetaminofén experimenta *N*-hidroxilación por acción de CYP hasta formar *N*-acetil-*p*-benzoquinoneimina (NAPQI), un producto intermediario fuertemente reactivo; dicho metabolito reacciona normalmente con los grupos sulfhidrilo en el glutatión (GSH) y lo torna inocuo. Sin embargo, después de ingerir grandes dosis de acetaminofén se forma el metabolito en cantidades suficientes para que se agote la reserva de GSH en el hígado, lo cual contribuye en grado relevante a los efectos tóxicos de las dosis excesivas [24].

Entre 25-35% de la dosis terapéutica de acetaminofén es metabolizada a acetaminofén-sulfato (Ilustración 7). La sulfatación es catalizada por enzimas Sulfotransferasas (SULT). Generalmente estas enzimas transfieren un grupo sulfo del 3'fosfoadenosin-5'-fosfosulfato (PAPS) a un aceptor como el acetaminofén, el PAPS se sintetiza a partir del sulfato derivado de la dieta.

Entre el 5-15% de la dosis terapéutica del acetaminofén es excretado en la orina como ácido mercaptúrico o como conjugados de cisteína. La activación metabólica del acetaminofén es catalizada principalmente por enzimas de la familia de citocromos P450 [24], las cuales, biotransforman al acetaminofén a un metabolito reactivo capaz de producir hepatotoxicidad.

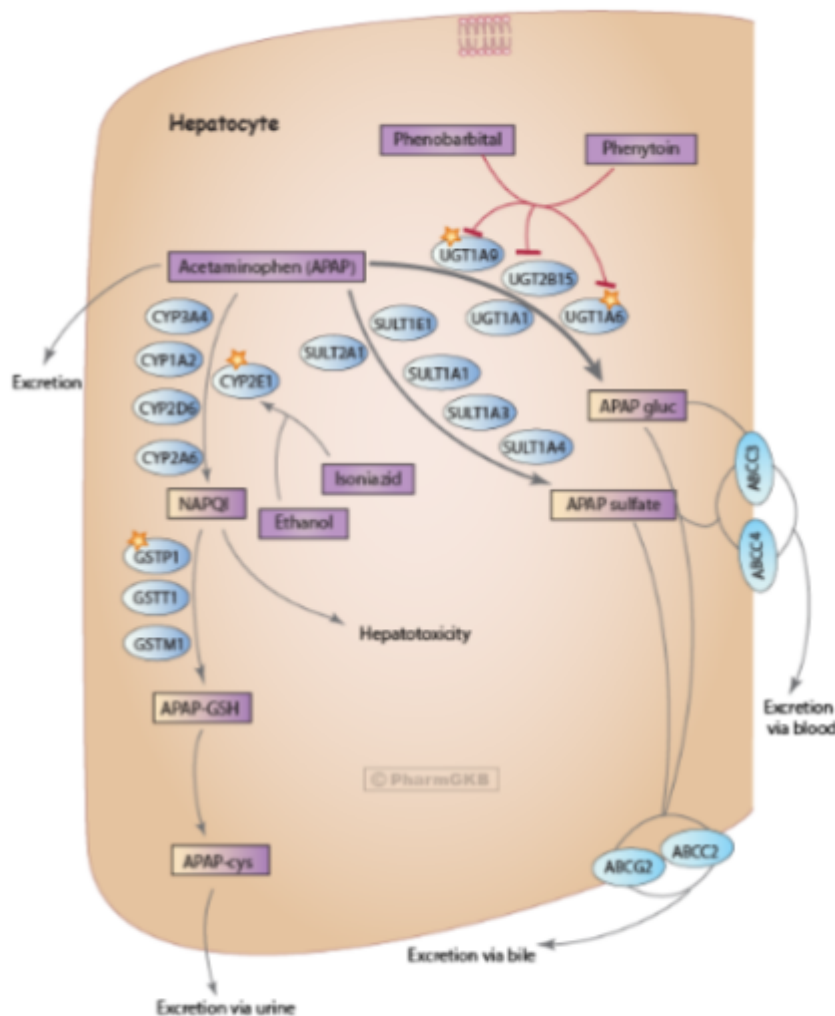


Ilustración 7. Ruta metabólica del acetaminofén que se lleva a cabo en el hepatocito. Obtenido de: Mazaleuskaya, 2015 [43].

### 1.9.2 Efectos tóxicos en el hígado

En los adultos, estos efectos tóxicos surgen después de la toma de una sola dosis de 10 a 15 g (150 a 250 mg/kg) de acetaminofén; dosis de 20 a 25 g o más pueden ser letales. Los síntomas que aparecen en los primeros dos días de la intoxicación aguda con acetaminofén reflejan perturbaciones gástricas (náusea, dolor abdominal y anorexia) y denotan una posible gravedad de la intoxicación. Los signos clínicos de daño hepático, que surgen entre dos y cuatro días después de la ingestión de dosis tóxicas, consisten en dolor subcostal derecho, hepatomegalia dolorosa al tacto, ictericia y coagulopatía. Se observan a veces disfunción o insuficiencia renal. El inicio de la encefalopatía hepática o el empeoramiento de la coagulación después de ese lapso conllevan mal pronóstico. La obtención de muestras para biopsia hepática indica necrosis centrilobulillar. En personas que no mueren, las lesiones del hígado se revierten en un lapso de semanas o meses. Resulta esencial un pronto diagnóstico y tratamiento de la sobredosis de acetaminofén para lograr un desenlace óptimo. Es posible que 10% de los sujetos intoxicados que no reciben tratamiento específico termine por mostrar daño hepático grave; 10 a 20% de ellos terminarán por morir de insuficiencia hepática a pesar de las medidas de apoyo intensivas. La *N-acetilcisteína* (NAC) (mucomyst, mucosil, parvolex) está indicada para pacientes en riesgo de desarrollar lesión hepática [24].

### 1.9.3 Medidas preventivas contra la hepatotoxicidad

En México, el paracetamol se encuentra en más de 400 medicamentos disponibles: de forma individual o en combinación con otras sustancias, y es el medicamento que se toma con mayor frecuencia al tratarse de automedicación en los mexicanos [47]. Es un medicamento de venta libre, el cual, es adquirido entre la población para tratar cefalea, periodo menstrual, resfriado, garganta irritada, dolor dental y muscular, fiebre, tos y gripe.

Para reducir el riesgo de padecer una hepatotoxicidad, la FDA (Food Drug Administration, por sus siglas en inglés) ha pedido a los productores que limiten la cantidad de acetaminofén en las tabletas a 325 mg, y que las formulaciones que lo contengan incluyan una advertencia sobre el riesgo de sufrir un daño hepático potencial. También ha recomendado que los profesionales en la salud eviten prescribir y dispensar productos que contengan más de 325 mg de acetaminofén por dosis [48].

En 2017, el Instituto de la Práctica de la Medicación Segura en Canadá (ISMP, por sus siglas en inglés) lanzó el boletín “Acetaminofén: Prevención de daños a través de su uso seguro”, para disminuir la incidencia de hepatotoxicidad causada por éste fármaco. Algunas alternativas sobre la seguridad en su uso han sido implementadas en jurisdicciones como las de Reino Unido, Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda.

El gobierno de Canadá informa que en Canadá hay más de 700 hospitalizaciones al año por sobredosis de paracetamol [49].

En 2016, Johnson y Johnson, fabricante de Tylenol (medicamento con mayor aceptación en EUA que contiene acetaminofén), redujo voluntariamente la dosis máxima recomendada para un adulto de 4 g a 3 g [50].

## JUSTIFICACIÓN

El surgimiento de las ciencias genómicas ha abierto la posibilidad de tratamientos más adecuados para cada población, teniendo en cuenta su composición genética. Es evidente que el número de estudios genético-poblacionales en población mestizo-mexicana es limitado, estudios en estas disciplinas tienen un alto valor en el área epidemiológica y farmacogenómica debido a que permiten estimar el mayor o menor riesgo al que se encuentra expuesta una población ante alguna enfermedad o sustancia química extraña. Las reacciones adversas producidas por fármacos, están estrechamente relacionadas por la presencia de variantes polimórficas en enzimas que metabolizan a estos compuestos. Uno de los medicamentos reportado como inductor de daño hepático es el acetaminofén. Se han reportado casos de daño al hígado incluso bajo dosis terapéuticas en pacientes, así como en voluntarios sanos. A pesar de su tan amplia distribución, prescripción y consumo, subsiste la interrogante sobre la dosis correcta para conseguir los efectos terapéuticos deseados y disminuir el riesgo de padecer hepatotoxicidad.

El riesgo a padecer hepatotoxicidad por acetaminofén se ha asociado recientemente con variantes alélicas en enzimas que participan en el metabolismo de este fármaco, particularmente en Citocromos P450, Sulfotransferasas y UDP-Glucuronosil transferasas. Se desconocen las frecuencias de los alelos de riesgo en población mestiza mexicana y sus implicaciones en el metabolismo de este medicamento, así como la incidencia de hepatotoxicidad asociada al consumo de este medicamento en nuestra población.

El uso de técnicas de biología molecular, como PCR-RFLP, permite el estudio y análisis de perfiles genéticos asociados a variaciones en el metabolismo de fármacos, lo que permite obtener información sobre la capacidad que tiene nuestra población de metabolizar algún compuesto químico.

En este trabajo de tesis se estimará la frecuencia de tres SNPs reportados como marcadores de riesgo de daño hepático por su participación en el proceso de desintoxicación del acetaminofén, con la finalidad de identificar la variabilidad en enzimas farmacometabolizadoras en el centro de México. La información que se obtenga nos ayudará a entender mejor la composición genética de nuestra población para el metabolismo de fármacos y será relevante para entender

lo que acontece entre el paciente y el medicamento ingerido, si el medicamento administrado fue el correcto, o la dosis fue la idónea, apuntando a una medicina más personalizada donde los médicos tengan la habilidad de poder seleccionar la terapia con mayor efectividad en un paciente determinado.

## HIPÓTESIS

Asumiendo que la inter-variabilidad genética característica de nuestro país se debe a distintas contribuciones genéticas, introducidas primordialmente por flujos migratorios extensivos que se establecieron de manera azarosa a lo largo del país durante el periodo de la conquista y la colonia, es probable que las poblaciones que habitan en regiones geográficas alejadas entre sí, cuenten con frecuencias alélicas distintas (diferencias genéticas más acentuadas)

Dada la historia de nuestra población mestiza mexicana, se observará una alta contribución de ancestría amerindia, asiática y europea, que se reflejará en las frecuencias de los alelos UGT1A6\*2 y CYP2E1 *RsaI* C2 analizados en esta investigación.

## OBJETIVOS

- Estimar la susceptibilidad genética que presenta la población mestizo mexicana del centro del país (CDMX, Puebla, Tlaxcala) a sufrir una intoxicación por acetaminofén con base en tres marcadores moleculares.
- Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de tres polimorfismos de un solo nucleótido en dos enzimas que metabolizan el acetaminofén: UGT1A6, y CYP2E1, en nuestra población.
- Comparación de frecuencias alélicas obtenidas en este estudio con las reportadas en otras poblaciones.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Muestreo de individuos

Se recolectaron un total de 67 muestras de individuos sanos, quienes firmaron un consentimiento informado, en el que aceptaron participar en el estudio además de completar un cuestionario con datos demográficos. Se seleccionaron a los individuos con base en los siguientes criterios.

Criterio de inclusión:

- Tres líneas generacionales ascendentes nacidas dentro del territorio mexicano.

Criterio de exclusión:

- Individuos emparentados.

## 2.2 Purificación de ADN

El ADN se purificó a partir de una muestra de sangre periférica (5 ml), bajo el método de sales y perclorato de sodio [51]. Se utilizó éste método debido a la posibilidad de almacenar las muestras por un periodo de tiempo prolongado a una temperatura de 4°.

Los núcleos celulares se aislaron agregando 35 ml de buffer de lisis (320mM sacarosa, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 1% Tritón X-100, 10mM Tris-HCl, pH 7.4) a los 5 ml de sangre extraída. Se agitaron vigorosamente en un vortex y se centrifugaron a 2000g durante 20 minutos a 4°C. El botón se resuspendió en 2ml de buffer de suspensión (150mM NaCl, 60mM EDTA, 1% de SDS, 400mM Tris-HCl, pH 7.4) y 0.5 ml de perclorato de sodio (NaClO<sub>4</sub>) 5M. Esta suspensión se mezcló por rotación 15 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se incubó a 65° durante 30 minutos. Se agregaron 2 ml de cloroformo frío (a -20°C) y se mezcló nuevamente por rotación a temperatura ambiente durante 10 minutos seguido por centrifugación a 1400g por 10 minutos.

La fase acuosa, que contiene al ADN, se transfirió a un tubo de 15 ml y se agregaron 2 volúmenes de etanol frío (a 4°C). El tubo se invirtió varias veces para precipitar el DNA y transferirlo a un tubo de 2 ml. El ADN se lavó 2 veces con etanol 70% y se dejó secar a temperatura ambiente al vacío para resuspenderlo en 20 µL de buffer TE (10mM tris-HCl, 1mM EDTA pH 7.4) y se incubó por 16 horas a 60°C, posteriormente se cuantificó su concentración de ADN en un espectrofotómetro nanodrop y se guardó a 4°C hasta usarse para la genotipificación de los alelos.

## 2.3 Genotipificación por PCR-RFLP y Electroforesis

La genotipificación se realizó mediante la técnica de Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción (RFLP). El conjunto de SNPs seleccionados para el estudio de ésta población fueron tomados de estudios previos, donde se les relacionó con un riesgo incrementado a padecer hepatotoxicidad por exposición a acetaminofen. La amplificación de los segmentos polimórficos por reacción en cadena de la polimerasa, se llevó a cabo en un termociclador de gradiente Bio-Rad T100.

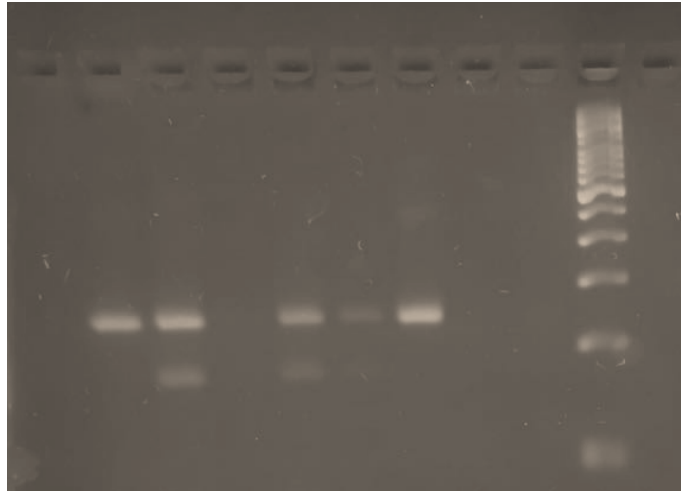
### 2.3.1 PCR-RFLP rs675982 (UGT1A6 19T>G)

Se emplearon los oligonucleótidos descritos por *Nagar et al.*, 2004 [52] (Tabla 1). Las condiciones utilizadas para su amplificación fueron las siguientes:

95 °C por 3 minutos, 95 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto y finalmente 72 °C por 5 minutos, por 40 ciclos. Obteniendo un amplicón de 237 pb.

La restricción con la enzima *HhaI* se llevó a cabo en un termociclador de gradiente a una temperatura de 37 °C por 12 horas.

Los fragmentos de la digestión fueron separados por electroforesis, en gel de agarosa al 4% bajo un voltaje constante de 80 V, por 40 minutos, en la cámara electroforética Mini-Sub Cell GT de BioRad. El gel fue teñido con el colorante *SmartGlow* de CCURIS y fue observado en el transiluminador UVP de *Analytikjena*, se tomaron fotografías para su posterior análisis.

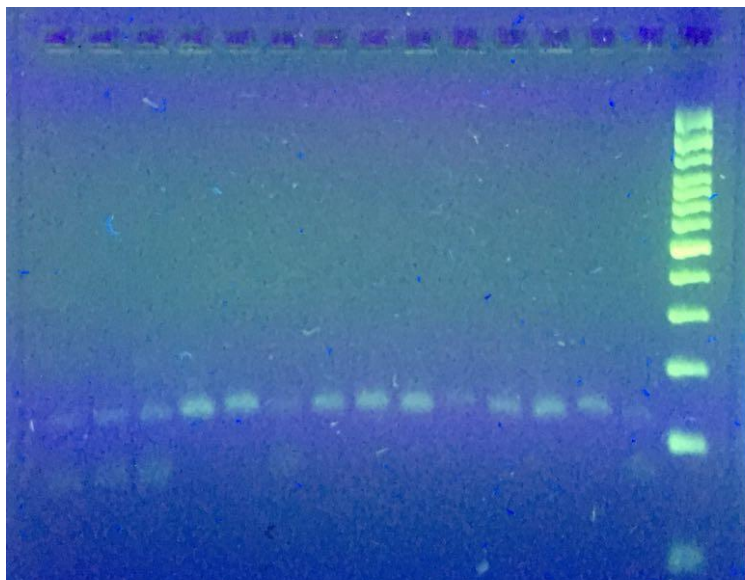


### 2.3.2 PCR-RFLP rs1105879 (UGT1A6 552 A>C)

Se emplearon los oligonucleótidos descritos por *Nagar et al.*, 2004 [52] (Tabla 1). Las condiciones utilizadas para su amplificación fueron las siguientes:

95 °C por 3 minutos, 95 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto y finalmente 72 °C por 5 minutos, con un total de 40 ciclos. Obteniendo un amplicón de 215 pb. La restricción con la enzima *BbvI* se llevó a cabo en un termociclador de gradiente a una temperatura de 37 °C por 12 horas.

Los productos de la restricción fueron separados por electroforesis, en gel de agarosa al 3% bajo un voltaje constante de 80 V, por 35 minutos.



### 2.3.3 PCR-RFLP rs2031920 (CYP2E1 -1053 C>T)

La región polimórfica del gen *CYP2E1* fue amplificada utilizando los oligonucleótidos descritos por *Hayashi et al.*, 1991 [53] (Tabla 1). Las condiciones utilizadas para su amplificación fueron las siguientes:

95 °C por 3 minutos, 95 °C por 30 segundos, 60 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto y finalmente 72 °C por 5 minutos por 40 ciclos. Obteniendo un amplicón de 566 pb.

El amplicón fue digerido con la enzima *RsaI*, a 37 °C por 3-4 horas.

Los productos de restricción fueron separados por electroforesis, en gel de agarosa al 2% bajo un voltaje constante de 80 V, por 35 minutos.

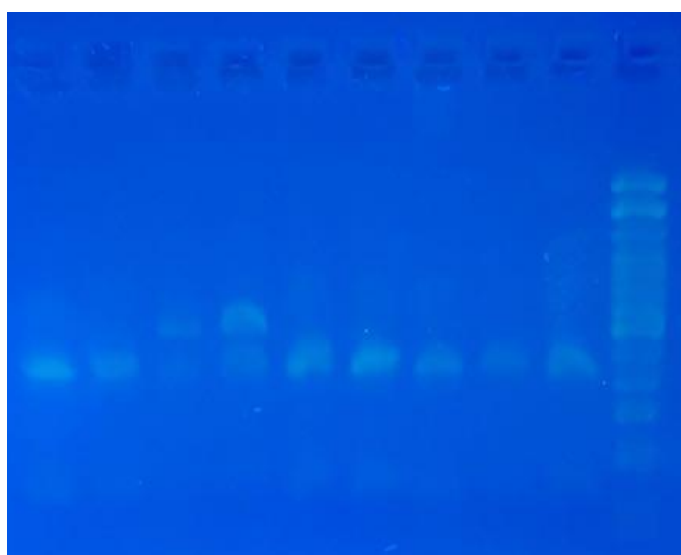


Tabla 1. Secuencias de nucleótidos utilizadas como *primers* para la amplificación de la región polimórfica de cada gen.

| Polimorfismo        |         | Secuencia                      |
|---------------------|---------|--------------------------------|
| UGT1A6<br>19 T>G    | Forward | GAT TTG GAG AGT GAA AAC TCT TT |
|                     | Reverse | CAG GCA CCA CCA CTA CAA TCT C  |
| UGT1A6<br>552 A>C   | Forward | CTT TAA GGA GAG CAA GTT TGA TG |
|                     | Reverse | CAA CTC GTT GGG AAA AAG TC     |
| CYP2E1<br>-1053 C>T | Forward | GTC CCT GCC ACC TCA CAC T      |
|                     | Reverse | CCC TCT TCC ACC TTC TAT        |

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Distribución geográfica de la muestra

Se analizaron un total de 67 muestras sanguíneas, las cuales, representan a la población del centro del país, ya que los individuos participantes nacieron dentro del territorio de Puebla, Tlaxcala o CDMX. De las 67 muestras analizadas, 17 fueron hombres y 50 mujeres. El resumen de datos demográficos obtenidos se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos demográficos de la muestra estudiada.

|             | Hombres       | Mujeres       |
|-------------|---------------|---------------|
| Voluntarios | 17            | 50            |
| Edad        | 43.87 ± 18.08 | 39.39 ± 17.89 |
| Peso        | 68.87 ± 9.23  | 64.15 ± 8.58  |
| I.M.C.      | 26.45 ± 3.09  | 26.55 ± 4.33  |

La muestra poblacional estuvo conformada mayoritariamente por mujeres, tuvo un rango de edad de 17 a 87 años y un I.M.C. promedio de 26.50, lo que indica sobrepeso en la mayoría de los individuos que participaron. A pesar de que en un principio se planteó el objetivo de muestrear a individuos que contaran con una historia familiar de ancestría meramente poblana (de abuelos y padres nacidos en Puebla), fue complicado cumplir con este criterio, ya que, en algún escalón del árbol familiar se encontraba la procedencia de un progenitor foráneo a la zona de estudio, poniendo en evidencia el gran flujo génico que se da en nuestro territorio. Razón por la cual se decidió añadir muestras con procedencia de los estados perteneciente a la zona centro del país. Ilustración 11.



Ilustración 11. Distribución geográfica de la muestra analizada, proveniente de tres estados del país que se ubican en la región centro de México.

### 3.2 Frecuencias genotípicas y alélicas de los marcadores

La extracción de ADN de las muestras permitió la genotipificación por PCR-RFLP de los polimorfismos situados en los genes *UGT1A6* y *CYP2E1*. Las frecuencias genotípicas y alélicas fueron calculadas de la siguiente manera, tomando en cuenta que, para cada gen, sólo existen dos alelos:

#### Frecuencia genotípica

$$AA = \frac{NAA}{Nt}$$

$$Aa = \frac{NAa}{Nt}$$

$$aa = \frac{Naa}{Nt}$$

Dónde:

AA = Homócigo silvestre; Aa = Heterocigoto; aa = Homócigo mutante

NAA = No. de individuos con el genotipo hómocigoto silvestre

NAa = No. de individuos con el genotipo heterocigoto

Naa = No. de individuos con el genotipo homocigoto mutante

Nt = No. total de individuos muestreados

Una vez obtenidas las frecuencias genotípicas, se continua con el cálculo de las frecuencias alélicas:

#### Frecuencia alélica

$$A = p = D + \frac{1}{2}H$$

$$a = q = R + \frac{1}{2}H$$

$$p + q = 1$$

Donde:

A = Variante alélica Silvestre

a = Variante alélica Mutante

#### Frecuencias Genotípicas

|                          |     |       |
|--------------------------|-----|-------|
| rs675982<br>UGT1A6 19T>G | T/T | 0.683 |
|                          | T/G | 0.3   |
|                          | G/G | 0.017 |

|                             |     |       |
|-----------------------------|-----|-------|
| rs1105879<br>UGT1A6 552 A>C | A/A | 0.717 |
|                             | A/C | 0.283 |
|                             | C/C | 0     |
| rs2031920<br>CYP2E1 RsaI    | C/C | 0.617 |
|                             | C/T | 0.333 |

|  |     |      |
|--|-----|------|
|  | T/T | 0.05 |
|--|-----|------|

|                             |   |       |
|-----------------------------|---|-------|
| rs1105879<br>UGT1A6 552 A>C | A | 0.858 |
|                             | C | 0.142 |

### Frecuencias Alélicas

|                          |   |       |
|--------------------------|---|-------|
| rs675982<br>UGT1A6 19T>G | T | 0.834 |
|                          | G | 0.166 |

|                          |   |       |
|--------------------------|---|-------|
| rs2031920<br>CYP2E1 RsaI | C | 0.783 |
|                          | T | 0.217 |

De las 60 muestras analizadas para cada polimorfismo, las frecuencias genotípicas más altas se encontraron en los alelos silvestres: *UGT1A6* 19 T>G T/T, *UGT1A6* 552 A>C A/A y *CYP2E1* -1053 C>T C/C; y las frecuencias más bajas fueron las presentadas por los homocigotos mutantes de cada variante alélica tipificada: *UGT1A6* 19 T>G G/G, *UGT1A6* 552 A>C C/C y *CYP2E1* -1053 C>T T/T. Solo se observaron homocigotos mutantes para las variantes *UGT1A6* 19 T>G y *CYP2E1* RsaI C2, ya que los alelos mutantes en la mayoría de los casos se observaron en condición heterocigota.

### 3.3 Ley de Hardy-Weinberg

Como ya se describió anteriormente, la ley del equilibrio de Hardy-Weinberg es la base de la genética de poblaciones. Para su cálculo se consideran los resultados anteriormente expuestos (frecuencias genotípicas). Se realizó de la siguiente manera:

$$D = p^2$$

$$H = 2pq$$

$$R = q^2$$

Sí  $p = 0$ : el alelo se ha eliminado; sí  $p = 1$ : el alelo se ha fijado en la población.

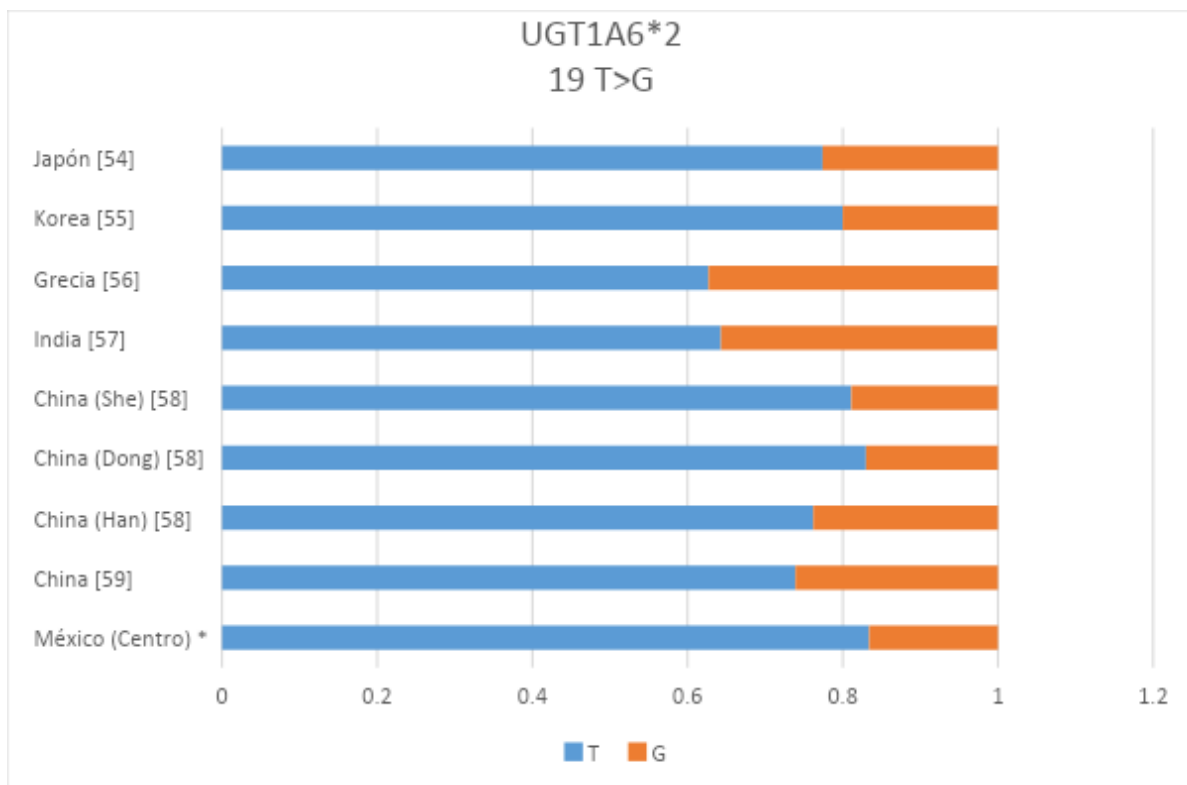
Los alelos analizados en este estudio se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, como se observa en la Tabla 3, tanto para la enzima *UGT1A6* como para la *CYP2E1*; donde ningún valor tiende a 1. De esta manera se observa que no hay alguna fuerza presente ejerciendo presión sobre las frecuencias alélicas. Significa que no hay evolución en la población estudiada para los genes analizados.

Tabla 3. Aplicación de la Ley de Hardy-Weinberg para las frecuencias alélicas estudiadas.

|          | <b>UGT1A6 19<br/>T&gt;G</b> | <b>UGT1A6<br/>552 A&gt;C</b> | <b>CYP2E1<br/>-1053 C&gt;T</b> |
|----------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| <i>D</i> | 0.694                       | 0.736                        | 0.613                          |
| <i>H</i> | 0.277                       | 0.244                        | 0.34                           |
| <i>R</i> | 0.028                       | 0.02                         | 0.047                          |

### 3.4 Diferencias de las frecuencias encontradas con respecto a las reportadas en otras poblaciones

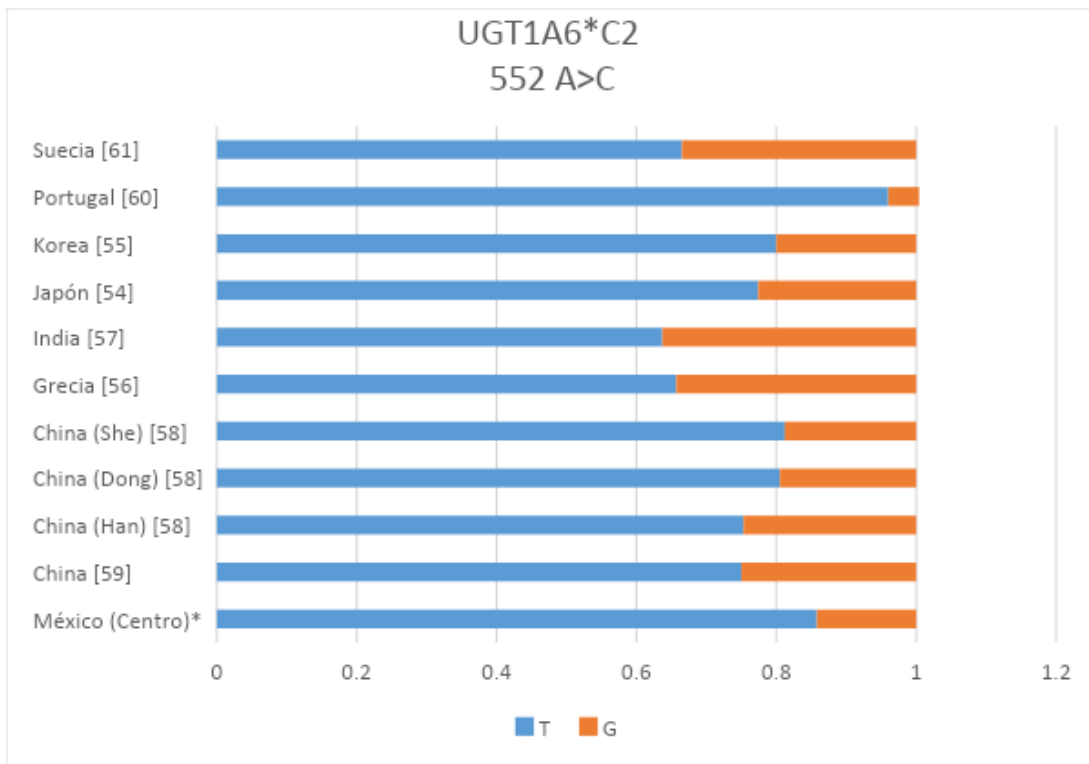
Para el polimorfismo  $UGT1A6^*2$  (19 T>G; 552 A>C) se realizó una búsqueda bibliográfica con el fin de obtener información sobre las frecuencias alélicas observadas en otras poblaciones, y los datos se muestran en la Gráfica 1. Para la modificación nucleotídica T>G en la posición 19 del gen *UGT1A6* (Gráfica 1), la población mestiza mexicana es la que cuenta con una menor frecuencia en el alelo mutante (0.166) a comparación de las reportadas por otras poblaciones. En Grecia se encuentra la mayor prevalencia del alelo mutante (0.373), seguida de la India (0.356) y China (0.261).



Gráfica 1. Comparación de las frecuencias alélicas (*UGT1A6* 19 T>G) obtenidas en este estudio con las reportadas por otras poblaciones. \*Este estudio.

Con respecto al polimorfismo presente en la posición 552 del gen *UGT1A6* (Gráfica 2), India presenta la mayor frecuencia para el alelo mutante (0.363), seguida de Suecia (0.335) y Grecia (0.343), mientras que la población de Portugal presenta la

menor frecuencia (0.044). La población mestiza mexicana es la segunda población con menor prevalencia del alelo mutante (0.142).

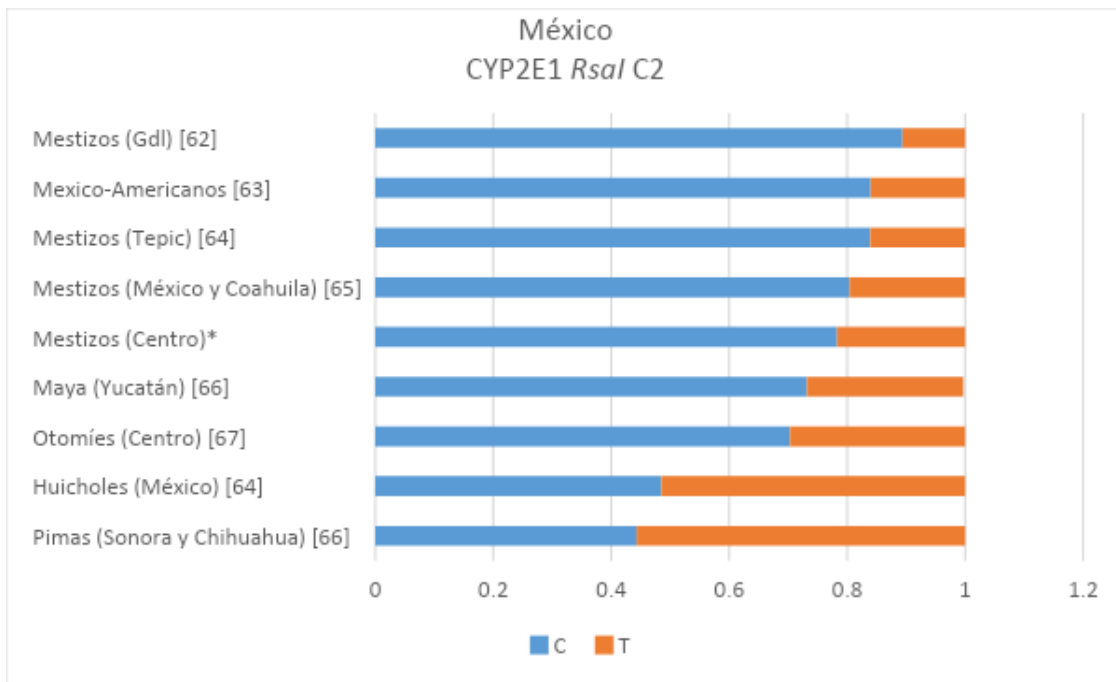


Gráfica 2. Comparación de las frecuencias alélicas (UGT1A6 552 A>C) obtenidas en este estudio con las reportadas por otras poblaciones. \*Este estudio.

Para el caso del polimorfismo CYP2E1 *RsaI* C2 se realizó también una búsqueda bibliográfica, con el fin de obtener información sobre las frecuencias alélicas en distintas poblaciones alrededor del mundo. Los datos fueron clasificados de acuerdo al continente donde se realizó el muestreo, debido a la gran cantidad de estudios y datos que fueron encontrados.

En primera instancia, se hizo una gráfica con datos pertenecientes a las poblaciones que habitan dentro de México (Gráfica 3). El alelo mutante se encuentra con mayor frecuencia que el alelo silvestre en las poblaciones que han preservado más su acervo genético, como en las etnias de los Pimas y los Huicholes, con frecuencias por un poco arriba del 0.5 (0.557 y 0.515, respectivamente). Los Otomíes y los Mayas tienen frecuencias muy parecidas entre ellos con respecto a la frecuencia del alelo mutante (0.297 y 0.265, respectivamente). De entre las poblaciones que no se presume pertenecer a alguna etnia definida (debido al mestizaje que se ha experimentado en su región), la población que cuenta con una mayor frecuencia del alelo mutante es la estudiada en este trabajo, la mestiza-mexicana del centro del país (0.217), seguida de la que reside en los estados de México y Coahuila (0.196).

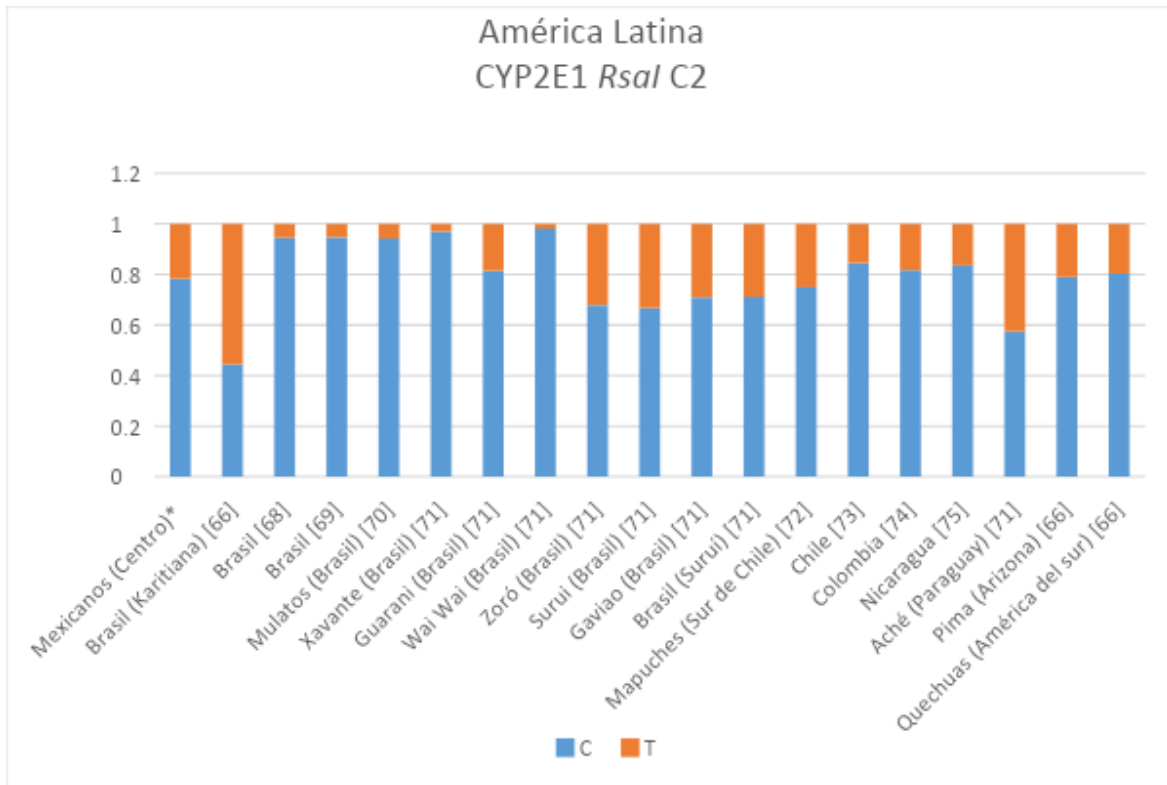
Finalmente, la población que cuenta con la menor incidencia del alelo mutante CYP2E1 *RsaI* C2 es la perteneciente a Guadalajara (0.106).



Gráfica 3. Polimorfismo CYP2E1 *RsaI* C2 en poblaciones mexicanas.

La población mexicana cuenta con más semejanzas en cuanto a historia y cultura con las poblaciones de América Latina, por lo que la siguiente gráfica que se realizó es la Gráfica 4.

Sucede lo mismo que en la comparación anterior. La población con mayor prevalencia del alelo mutante es la perteneciente a una etnia, la Karitiana de Brasil, en Amazonas Occidental, con una frecuencia del alelo mutante de 0.556; seguida de la etnia Aché de Paraguay (0.425). Sin embargo, la población que cuenta con menor presencia del alelo mutante también pertenece a una etnia, la Wai Wai en Brasil (0.019), seguida de la Xavante de Brasil (0.03). Las poblaciones de Chile, Colombia y Nicaragua cuentan con una frecuencia de CYP2E1 *RsaI* C2 muy parecidas entre ellas (0.155, 0.183 y 0.164, respectivamente), dejando al valor de la población mestiza mexicana por encima de ellas.



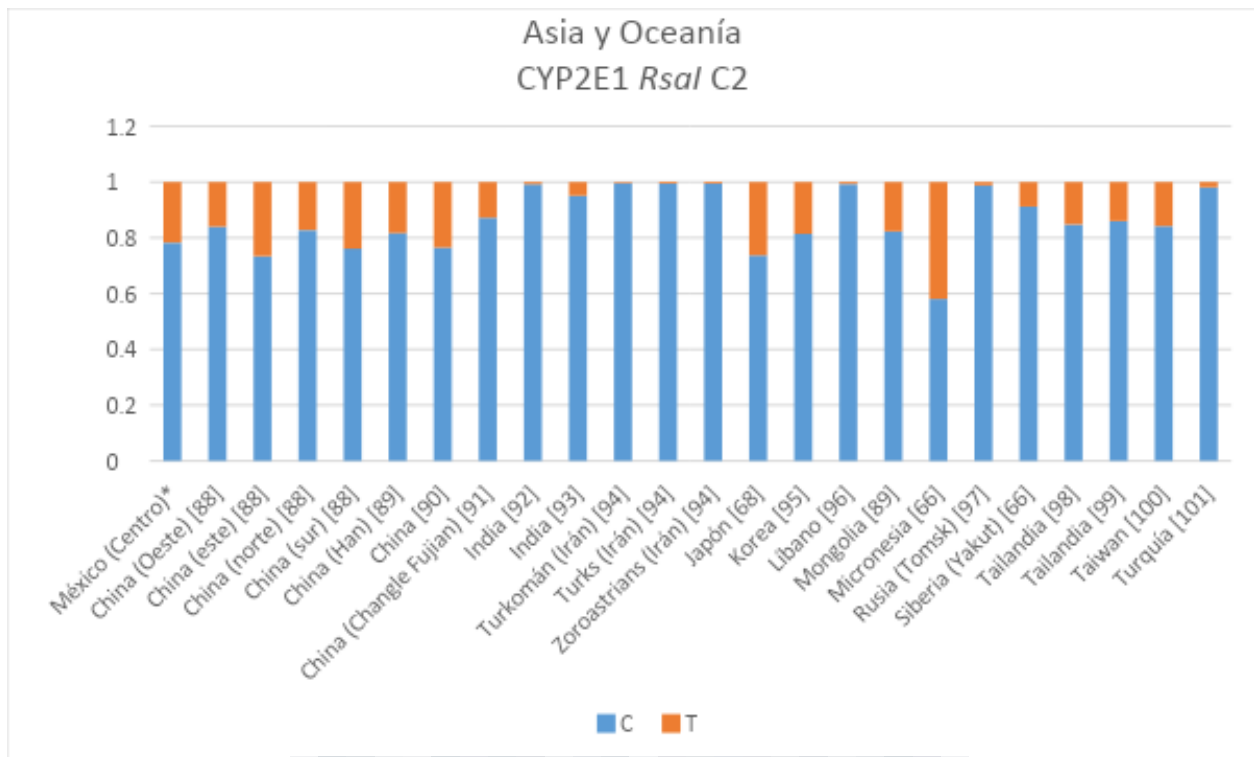
Gráfica 4. Polimorfismo CYP2E1 RsaI C2 en América Latina.

Las poblaciones pertenecientes al continente europeo muestran una frecuencia muy limitada en cuanto a la presencia del alelo mutante, siendo Suecia la que cuenta con una mayor frecuencia, y está siendo solo de 0.054. Los investigadores que reportaron a este grupo de frecuencias mencionaron que en la mayoría de los casos, no encontraron individuo alguno que fuera portador en su genotipo de los dos alelos mutantes (homócigo mutante). En la Gráfica 5 se observa claramente que la población mestiza mexicana sobresale en cuanto al valor de su frecuencia en el alelo mutante, en comparación con lo observado en poblaciones europeas.



Europa no fue el único continente que presentó una baja frecuencia del alelo mutante, el continente africano resultó representar a las poblaciones humanas con menor frecuencia de este alelo de riesgo (Gráfica 6). La frecuencia del alelo silvestre es 1 en poblaciones como la etíope, y etnias como la *Coloured*, Zulu, Xhosa, y otras más.

Finalmente, en el continente asiático y australiano (Gráfica 7) se encuentran valores en las frecuencias muy parecidas a lo reportado para nuestra población. Micronesia es la población con mayor frecuencia del alelo mutante (0.419) en esta región, seguida de la población china (0.311) y japonesa (0.263). En las poblaciones de Irán, Turquía e India se observa una casi nula presencia del alelo mutante.



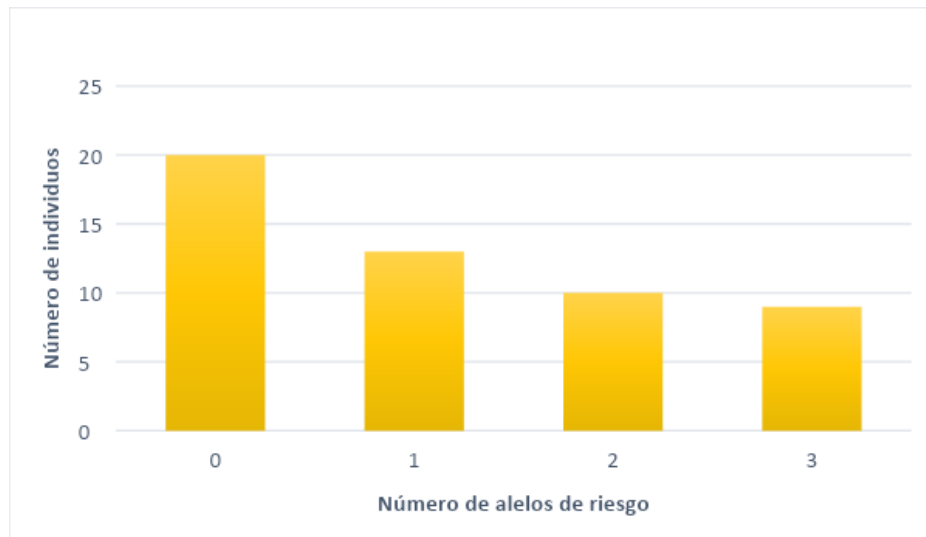
### 3.5 Número de alelos de riesgo encontrados en la población de estudio

De las 67 muestras obtenidas, 52 fueron analizadas para los tres polimorfismos. Por cada variante de riesgo que presenta el individuo, se suma un punto; en el caso que no se encuentre alguna variante de riesgo, el valor permanecerá sin cambio alguno. Con el

fin de ejemplificar lo anterior, se demuestran dos casos particulares de perfiles genéticos en los que se determina su riesgo relativo con base en su genotipo.

| Muestra | SNP      |           |           | Riesgo |
|---------|----------|-----------|-----------|--------|
|         | rs675982 | rs1105879 | rs2031920 |        |
| 20      | +/+      | +/+       | +/+       | 0      |
| 15      | +/-      | +/-       | +/-       | 3      |

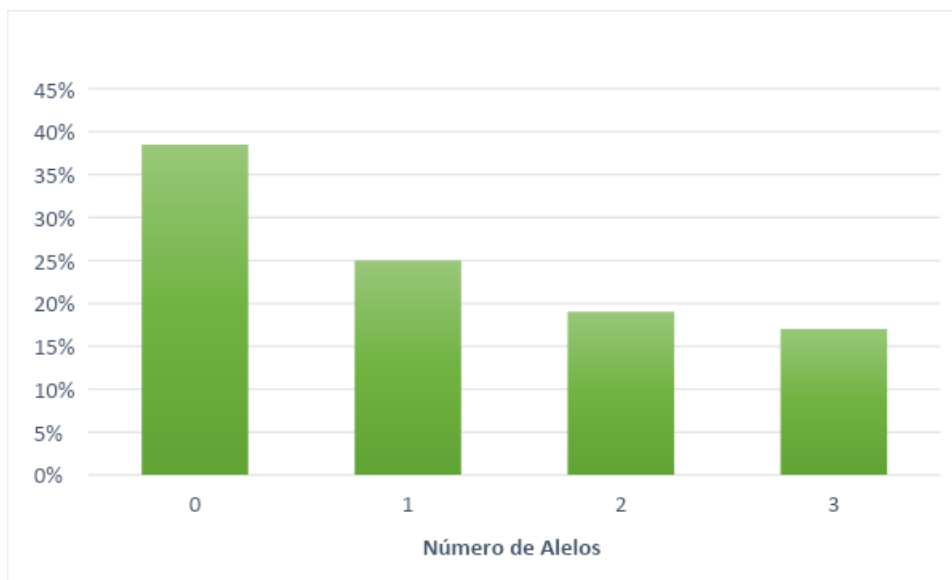
De esta forma se sumaron el número de alelos mutantes para 52 muestras analizadas. Los resultados se observan en la Gráfica 8.



Gráfica 8. Número de individuos que son portadores de 0-3 alelos de riesgo.

La mayor susceptibilidad genética a padecer hepatotoxicidad por acetaminofén estaría conferida por la posesión de ambos genes mutantes, es decir, que el individuo con mayor riesgo a desarrollar esto, sería aquel que fuera portador de ambos alelos mutantes para cada gen. Sin embargo, no se encontró ningún individuo que fuera homocigoto mutante para los tres polimorfismos analizados *UGT1A6* 19 T>G G/G, *UGT1A6* 552 A>C C/C y *CYP2E1* -1053 C>T T/T.

En la Gráfica 9 se representa el porcentaje de individuos que portaron 0, 1, 2 y 3 alelos de riesgo. De nuestra muestra total, se genotipificaron los tres SNPs en 52 individuos, de los cuales, sólo el 17% (9 individuos) contó con la presencia de tres alelos de riesgo, convirtiéndose en los individuos portadores con mayor riesgo. Mientras que el mayor porcentaje de individuos (39%) resultaron homocigotos silvestres.



Gráfica 9. Porcentaje de individuos que cuentan en su perfil genético con 0-3 alelos de riesgo.

#### 4. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio para identificar la incidencia de polimorfismos en enzimas farmacometabolizadoras asociados con riesgo de daño hepático por consumo de acetaminofén en población mexicana. Las tres variantes alélicas analizadas en esta investigación se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, es decir ninguna fuerza evolutiva está actuando sobre ellas. Las poblaciones no son estáticas, sino dinámicas, y la aplicación de la Ley de Hardy-Weinberg permite esclarecer las fuerzas que impulsan el cambio genético, y, por lo tanto, su variabilidad [5].

De los SNPs analizados, únicamente el CYP2E1 *RsaI* C2 se encontró altamente representado en nuestra población. Esta enzima de metabolismo de fase I, aunque tiene poca participación (5%) en el metabolismo del acetaminofén (en comparación con la UGT1A6 50-55%), es la responsable de la formación del metabolito reactivo **N-acetil-p-benzoquinona Imina** (NAPQI), por lo que el riesgo a desarrollar hepatotoxicidad por este medicamento en nuestra población mestiza mexicana del centro, se estimó en 5% correspondiente a la frecuencia genotípica de individuos homocigotos para el alelo mutante del CYP2E1.

La frecuencia de los polimorfismos varía en las poblaciones de seres humanos [6, 104]. Una vez obtenidas las frecuencias de los tres alelos en nuestra población las comparamos con las reportadas previamente en otras poblaciones como se observa en las gráficas 1-7. En el caso de los polimorfismos en el gen UGT1A6, no se pudo realizar un análisis poblacional más extensivo por la cantidad limitada de trabajos reportados de polimorfismos para este gen.

La glucuronidación es la ruta principal de desintoxicación del paracetamol, ya que más del 50% de éste es eliminado de esta forma. Estudios en microsomas de hígado de humanos y hepatocitos cultivados indican que las enzimas UGT1A1, UGT1A6, UGT1A9 y UGT2B15 se encuentran relacionados con la glucuronidación del acetaminofén [43, 105, 106]. Sin embargo, las principales isoformas de conjugación del paracetamol son UGT1 A6 y A9 [43]. Por lo anterior, es de vital importancia la genotipificación de las variantes alélicas de esos genes para predecir la reacción de nuestra población ante tal fármaco.

La sustitución nucleotídica en la posición 19 T>G conlleva a una modificación no-sinónima S7A [52]. El efecto de la modificación S7A es aún incierto, debido a que se encuentra localizada en la región putativa del péptido-señal (residuos 1-26) de la proteína recién sintetizada, que probablemente se escinde poco después de la inserción en la membrana microsomal. Sin embargo, se especula que la sustitución de alanina dentro de la región péptido señal podría facilitar la función de la péptido-señal, por lo que potenciaría la señalización e inserción en la membrana [107].

El SNP no-sinónimo de 552 A>C ubicado en el gen *UGT1A6* fue descubierto por Ciotti y colab. en 1997, modificación que genera el cambio del aminoácido de arginina por serina en la posición del aminoácido número 184. Se ha observado que las enzimas portadoras de las sustituciones T181A y R184S presentan una menor actividad catalítica [107]. En el metabolismo del acetaminofén, esto significaría que las enzimas mutantes no reaccionarían con la misma afinidad que lo harían las enzimas silvestres, dejando a rutas alternas (sulfatación y óxido-reducción) con un mayor número de moléculas de acetaminofén para ser biotransformadas.

Las variaciones en las frecuencias alélicas encontradas para el CYP2E1 son notables. Debido a lo anterior, se sugiere que el origen del alelo mutante podría haber sido en el continente asiático, antes de la migración de las primeras poblaciones humanas de Asia a América por el estrecho de Bering, ya que las frecuencias alélicas de este polimorfismo son muy similares en las poblaciones indígenas americanas y asiáticas.

La predominancia del alelo mutante CYP2E1 *RsaI* C2 en las etnias como los Huicholes, Pimas, Otomíes, la población perteneciente a micronesia podría deberse a la disminución de individuos en su población, lo que en algún momento llevaría a la fijación de uno de los alelos. En el otro extremo, poblaciones como la africana y europea, la presencia de este alelo mutante es casi nula. Por otro lado, la población mestiza mexicana, junto con las latinas, amerindias y asiáticas son las que presentan frecuencias parecidas para el gen CYP2E1.

En 1991, Hayashi y colaboradores., identificaron una modificación genética en la región flanqueante 5', exactamente en la posición -1053 (CYP2E1 -1053 T>C). Ésta sustitución es capaz de potenciar la expresión del gen 10 veces más, lo que implicaría una mayor cantidad del metabolito reactivo NAPQI.

La expresión hepática de cada enzima CYP viene determinada genéticamente. Este hallazgo explica en gran medida las diferencias de cuatro veces o más en las tasas del metabolismo de fármacos entre personas sanas. La expresión de varias CYP se regula durante el desarrollo. Durante la vida adulta, la expresión de algunas CYP disminuye ligeramente (hasta el 10%) con el avance de la edad, pero este cambio es pequeño en comparación con los efectos de la variación genética, las influencias ambientales y la hepatopatía. Las diferencias de sexo en la expresión de CYP 3A1 y 2E1 pueden explicar el ligero aumento del metabolismo de ciertos fármacos (eritromicina, clordiacepóxido, midazolam) en las mujeres, pero sigue sin estar claro si esta diferencia contribuye al aumento de riesgo de reacciones hepáticas medicamentosas en las mujeres.

Cuando se estima el riesgo a padecer hepatotoxicidad por medicamentos es importante considerar el estado nutricional de una persona, ya que este influye en la expresión de ciertas CYP. La expresión de la CYP2E1 es aumentada por la obesidad, la elevada ingesta de grasa y el ayuno. En pacientes con diabetes mellitus se incrementa la expresión de CYP2E1 [108].

La toxicidad generada por el CYP2E1 es resultado de la reacción que implica la unión del oxígeno molecular al hierro en el grupo prostético hemo, con la subsiguiente reducción del oxígeno por la aceptación de un electrón de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) citocromo P450 reductasa, una flavoproteína reductasa. El oxígeno activado resultante es incorporado al fármaco o a otro compuesto lipófilo. La reducción del oxígeno y la inserción en un fármaco que actúa como sustrato (oxidación de función mixta) generan productos intermedios químicamente reactivos, como radicales libres, intermediarios oxi electrófilos (p. ej., epóxidos inestables, quinona-iminas), y especies reactivas de oxígeno (ROS). NAPQI es un metabolito oxidante y arilante responsable de la hepatotoxicidad del acetaminofén [108].

La combinación de ayuno, obesidad, alcohol, fenobarbital, fenitoína, opioides y ciertos antidepresivos con acetaminofén podrían fomentar el desarrollo de una hepatopatía [105, 111]. Los trastornos en que hay inducción de CYP (como el consumo inmoderado de alcohol) o agotamiento de GSH (como el ayuno o la malnutrición) agravan el riesgo de que surja lesión hepática, como se ha corroborado (aunque pocas veces) con dosis dentro de límites terapéuticos [23].

Los efectos en la farmacocinética y farmacodinamia producidos por la actividad de enzimas polimórficas dependen de la participación que tengan en reacciones de biotransformación de Fase I o Fase II y si alguno de los metabolitos producidos en dichas reacciones se vuelve altamente reactivo, ya que modificarán la posible toxicidad del compuesto, las rutas y la rapidez de eliminación [109]. El hígado, y en menor medida el riñón y el intestino, son los órganos implicados en el metabolismo del acetaminofén [110]. Es por eso que el órgano blanco de los metabolitos intermedios reactivos del acetaminofén es el hígado.

Los SNPs que se encuentran dentro de regiones implicadas en la expresión de las enzimas metabolizadoras de fármacos son importantes, debido a que podrían afectar la expresión o constitución de esta. Con base en polimorfismos y metabolismo, se obtienen variaciones en el fenotipo del individuo (metabolizador lento, metabolizador intermedio, metabolizador rápido o extensivo o metabolizador ultrarrápido). El polimorfismo CYP2E1 *RsaI* C2 se localiza en la región flanqueante 5' del gen CYP2E1 en la posición -1053, (es decir, río arriba del inicio de la transcripción) esta sustitución en la región reguladora del gen es capaz de potenciar su expresión 10 veces más en comparación con el alelo silvestre.

El conocimiento de las variantes genéticas de las enzimas metabolizadoras de fármacos, ha sido importante desde los años cincuenta del siglo XX para explicar las diferencias interindividuales con respecto a concentraciones de fármacos y sus efectos farmacodinámicos [24, 102]. La respuesta de un individuo a un fármaco podrá ir desde un fracaso terapéutico hasta una reacción de toxicidad [103], en función de sus variantes alélicas en genes que codifican enzimas metabólicas. La farmacogenética intenta identificar la influencia que tienen los factores genéticos en la eficiencia y padecimiento de efectos adversos de un fármaco. Se requieren más estudios que puedan predecir el riesgo de las poblaciones a padecer efectos adversos por el consumo de medicamentos para elegir mejor los fármacos administrados y ajustarlos al origen étnico de cada población.

## 5. CONCLUSIONES

La población humana no es homogénea en cuanto a riesgo de enfermedades. Existe la posibilidad de que cada ser humano tenga un determinado riesgo único, basado en su herencia genética y los factores no-genéticos y ambientales a los que se encuentra expuesto a lo largo de su vida.

La muestra analizada presenta un riesgo de leve moderado a sufrir una hepatotoxicidad por acetaminofén, debido principalmente a la alta frecuencia observada para el alelo de riesgo T en posición -1053 del gen CYP2E1.

Las etnias (al tener más conservado su acervo genético) presentan una mayor prevalencia del alelo de riesgo CYP2E1 *RsaI* C2, por lo cual se deben tomar en cuenta las consideraciones necesarias al prescribir medicamentos que contienen acetaminofén.

Estos resultados, podrían considerarse en un futuro para tomar decisiones al momento de elegir los fármacos administrados y ajustar la dosis de acuerdo al acervo genético de la población.

## BIBLIOGRAFÍA

1. García, J., y Baeza, F., (2012). Genoma Humano: del laboratorio al paciente. España: Netbiblo.
2. Batista, W. 2006. Dinámica de poblaciones. Capítulo 2 en M. van Esso (ed.), Ecología, Enseñanza con un Enfoque Novedoso. Editorial Facultad de Agronomía y Editorial Novedades Educativas, Buenos Aires. 29-47.
3. Hartl, D., y Clark, A. (2007). Principles of population genetics, USA: Sinauer Associates, Inc.
4. Núñez-Farfán, J., y Eguiarte, L. (1999). *La Evolución Biológica*. México: UNAM, Instituto de Ecología.
5. Herrera-Paz, E. (2013). La genética de poblaciones y el origen de la diversidad humana. *Revista Médica de Honduras*, 81(1), 40-45.
6. González, E., Borrell, L., Choudhry, S., et al. (2005). Latino populations: A unique opportunity for the study of race, genetics, and social environment in epidemiological research. *American Journal of Public Health*, 95(12), 2161–2168.
7. Templeton, A., (2006). Population genetics and microevolutionary theory.
8. Guardado-Estrada, M., Queipo, G., Meraz-Ríos, M., et al. (2008). Diversidad genética en la población mexicana: Utilización de marcadores de ADN. *Revista Médica del Hospital General de México*, 71(3), 162-174.
9. Futuyma, D. J. 1986. Evolutionary Biology 2nd edition, Sinauer Associates Inc. Sunderland, Mass.
10. Molina, J., (1992). *Introducción a la genética de poblaciones y cuantitativa*, México D.F., México: A. G. T. Editor, S. A.
11. Olvia, R. (2008). *Genética Médica*. Barcelona: Editorial Médica Panamericana.
12. Eguiarte, L., (1986). Una guía para principiantes a la genética de poblaciones, Revista de difusión.
13. Gillespie, J. (1998). Population Genetics. Estados Unidos de América, The Johns Hopkins University Press.
14. Gerhard, P. (1996). La frontera norte de la Nueva España. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Mexico City.

15. Beltran, A (1944). The slave trade in Mexico. *The Hispanic American Historical Review*, 24, 412–431.
16. Olson, S. (2002). Mapping Human History: Discovering the Past Through Our Genes. Boston, Mass: Houghton Mifflin Co.
17. Morner, M. (1967). Race Mixture in the History of Latin America. Boston, Mass: Little, Brown and Co.
18. Cavalli-Sforza, L., Menozzi, P., y Piazza, A. (1994). The History and Geography of Human Genes. Princeton, NJ: Princeton University Press.
19. Starikovskaya, Y., Sukernik, R., Schurr, T., *et al.* (1998). mtDNA diversity in Chukchi and Siberian Eskimos: implications for the genetic history of ancient Beringia and the peopling of the New World. *American Journal of Human Genetics*, 63, 1473–1491.
20. Lell, J., Sukernik, R., Starikovskaya, Y., *et al.* (2002). The dual origin and Siberian affinities of Native American Y chromosomes. *American Journal of Human Genetics*, 70, 192–206.
21. Sowell, T. (1981). Ethnic America. Nueva York, NY: Basic Books Inc.
22. Sasson, A. (2005). Medical Biotechnology, Achievements, Prospects and Perceptions. Hong Kong: United Nations University.
23. Houry, M., Little, J., y Burke, W. (2004). Human Genome Epidemiology. Nueva York, NY: Oxford University Press.
24. Brunton, L. (2007). Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Colombia: McGraw-Hill Interamericana.
25. Yerena, C., Hernández-Kelly, L., Ramírez, J., *et al.* (2005). Influencia del polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas. *Bioquímica*, 30(3), 68-75.
26. Checa, M. (2007) Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 20(3), 213-221.
27. Gibbons, G., Liew, C., Goordarzi, M., *et al.* (2004). Genetic Markers. Progress and Potential for Cardiovascular Disease. *Genetic Markers*, 4, 47-57.
28. Repetto, M., y Repetto, G. (2009). Toxicología Fundamental. Madrid, España: Díaz de Santos.
29. Bertram, G., Trevor, A. (2007). Farmacología básica y clínica. México: McGraw-Hill Global Education Holdings.
30. Rodríguez, R. (2004). Metabolismo de toxinas ambientales. México: Fondo de Cultura Económica.
31. Klaassen, C., y Waatkins, J. (2005). Casarett y Doull. Fundamentos de Toxicología. México: McGraw-Hill Interamericana.
32. Jaimes-Santoyo, J., Montesinos-Sampedro, A., Barbosa-Cabos, R., *et al.* (2014). El Citocromo P-450. *Revista del Hospital Juárez de México*, 81(4), 250-256.
33. <https://www.ensembl.org/>
34. <https://www.targetvalidation.org>

35. Nebert, D. (1999). Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drugmetabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. *Drug Metabolism Reviews*, 31(2), 467-487.
36. www.genecards.org
37. Lee, M-Y., Mukherjee, N., Pakstis, AJ., *et al.* Global patterns of variation in allele and haplotype frequencies and linkage disequilibrium across the *CYP2E1* gene. *The Pharmacogenomics Journal*, 8, 349-356.
38. Danko, I., y Chaschin, N. (2005). Association of *CYP2E1* gene polymorphism with predisposition to cancer development. *Experimental Oncoly*, 27, 248–256.
39. Song, B. (1996). Ethanol-inducible cytochrome P450 (*CYP2E1*): biochemistry, molecular biology and clinical relevance: 1996 update. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20, 138A–146A.
40. Lee, S., Buters, J., Pineaus, T., *et al.* (1996). Role of *CYP2E1* in the Hepatotoxicity of Acetaminophen. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(20), 12063-12067.
41. Dutton, G. (1980). *Glucuronidation of Drugs and other Compounds*. Boca Raton, FL: The CRC Press.
42. Guillemette, C. (2003). Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes. *The Pharmacogenomics Journal*, 3, 136-158.
43. Mazaleuskaya, L., Sangkuhl, K., Thorn, C., *et al.* (2015). PharmGKB summary: Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenet Genomics*, 25(8), 416-426.
44. Prescott, L. (1980). Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 10(2), 291S–298S.
45. Hodgman, M., y Garrard, A. (2012). A review of acetaminophen poisoning. *Critical Care Clinics*, 28, 499–516.
46. McGill, M., y Jaeschke, H. (2013). Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharmaceutical Research*, 30, 2174–2187.
47. PROFECO. (2010). Sondeo en línea sobre hábitos de consumo de medicamentos. [Archivo PDF]. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/112684/cons\\_med\\_2010.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/112684/cons_med_2010.pdf)
48. Mitka, M. (2014). FDA asks physicians to stop prescribing high-dose acetaminophen products. *Journal of the American Medical Association*, 311, 563.
49. <https://www.canada.ca>
50. <https://www.tylenol.com>
51. Daly, A., Steen, V., Fairbrother, K., *et al.* (1996). *CYP2D6* Multiallelism. *Methods of enzymology*, 272, 199-210.

52. Nagar, S., Zalatoris, J., y Blanchard, R. (2004). Human UGT1A6 pharmacogenetics: identification of a novel SNP, characterization of allele frequencies and functional analysis of recombinant allozymes in human liver tissue and in cultured cells. *Pharmacogenetics*, 14(8), 487-499.
53. Hayashi, S., Watanabe, J., y Kawajiri K. (1991). Genetic Polymorphisms in the 5'-Flanking Region Change Transcriptional Regulation of the Human Cytochrome P450IIE1 Gene. *The Journal of Biochemistry*, 110, 559-565.
54. Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., et al. (2005). Genetic polymorphisms of UGT1A6 in a Japanese population. *Drug Metab. Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 20(1), 85-90.
55. Yea, S., Lee, S., Kim, W., et al. (2008). Genetic variations and haplotypes of UDP-glucuronosyltransferase 1A locus in a Korean population. *Therapeutic Drug Monitoring*, 30(1), 23-34.
56. Chatzistefanidis, D., Lazaros, L., Giaka, K., et al. (2016). UGT1A6 and UGT2B7-related valproic acid Pharmacogenomics according to age groups and total drug concentration levels. *Pharmacogenomics*, 17, 827-835.
57. Jain, P., Shastri, S., Gulati, S., et al. (2015). Prevalence of UGT1A6 polymorphisms in children with epilepsy on valproate monotherapy. *Neurology India*, 63(1), 35-39.
58. Xing, Y., Yang, L., Wang, L., et al. (2009). Systematic screening for polymorphisms within the UGT1A6 gene in three Chinese populations and function prediction through structural modeling. *Pharmacogenomics*, 10, 741-752.
59. Guo, Y., Hu, C., He, X., et al. (2012). Effects of UGT1A6, UGT2B7, and CYP2C9 genotypes on plasma concentrations of valproic acid in Chinese children with epilepsy. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 27, 536-542.
60. Pacheco, P., Brilhante, M., Ballart, C., et al. (2009). UGT1A1, UGT1A6 and UGT1A7 genetic analysis: repercussion for irinotecan pharmacogenetics in the Sao Miguel Island Population (Azores, Portugal). *Molecular Diagnosis and Therapy*, 13, 261-268.
61. Odeberg, J., Andrade, J., Holmberg, K., et al. (2006). UGT1A polymorphisms in a Swedish cohort and a human diversity panel, and the relation to bilirubin plasma levels in males and females. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 62, 829-837.
62. García-Bañuelos, J., Panduro, A., Gordillo-Bastidas, D., et al. (2012). Genetic polymorphisms of genes coding to alcohol-metabolizing enzymes in Western Mexicans: association of CYP2E1\*c2/CYP2E1\*5B allele with cirrhosis and liver function. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 36(3), 425-431.
63. Wan, Y., Poland, R., y Lin, K. (1998). Genetic polymorphism of CYP2E1, ADH2, and ALDH2 in Mexican-Americans. *Genetic Testing*, 2(1), 79-83.

64. Gordillo-Bastidas, E., Panduro, A., Gordillo-Bastidas, D., *et al.* (2010). Polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in indigenous Mexican population: unusual high frequency of CYP2E1\*c2 allele. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 34(1), 142-9.
65. Mendoza-Cantú, A., Castorena-Torres, F., Bermudez, M., *et al.* (2003). Genotype and allele frequencies of polymorphic cytochromes P450 CYP1A2 and CYP2E1 in Mexicans. *Cell Biochemistry and Function*, 22, 29–34.
66. <http://alfred.med.yale.edu>
67. Montano, A., Ramirez, M., Perez, I., *et al.* (2006). Association of alcohol-metabolizing genes with alcoholism in a Mexican Indian (Otomi) population. *Alcohol*, 39(2), 73–79.
68. Nishimoto, I., Hanaoka, T., Sugimura, H., *et al.* (2000). Cytochrome P450 2E1 polymorphism in gastric cancer in Brazil: Case-control studies of Japanese Brazilians and non-Japanese Brazilians. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 9, 675-680.
69. Colombo, J., Baptista, A., Caetano, A., *et al.* (2004). *GSTT1*, *GSTM1* and *CYP2E1* genetic polymorphisms in gastric cancer and chronic gastritis in a Brazilian population. *World Journal of Gastroenterology*, 10(9), 1240-1245.
70. Gattás, G., y Soares-Vieira, J. (2000). Cytochrome P450-2E1 and glutathione S-transferase mu polymorphisms among Caucasians and mulattoes from Brazil. *Occupational medicine*, 50(7), 508-11.
71. Gaspar, P., Hutz, M., Salzano, F., *et al.* (2002). Polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1*, and *TP53* Genes in Amerindians. *American Journal of Physical Anthropology*, 119(1), 249-256.
72. Muñoz, S., Vollrath, V., Vallejos, M., *et al.* (1998). Genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *CYP1A1* and *CYP2E1* in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics*, 8(1), 343-351.
73. Quiñones, L., Lucas, D., Godoy, J., *et al.* (2001) *CYP1A1*, *CYP2E1* and *GSTM1* genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. *Cancer Letters*, 174(1), 35-44.
74. Gaviria-Calle, M., Duque-Jaramillo, A., Aranzazu, M., *et al.* (2018). Polimorfismos en los genes alcohol deshidrogenasa (*ADH1*) y citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*) en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular. *Biomédica*, 38(4) (Cita provisional).
75. Martínez, C., Agúndez, J., Olivera, M., *et al.* (1998). Influence of genetic admixture on polymorphisms of drug metabolizing enzymes: Analyses of mutations on *NAT2* and *CYP2E1* genes in a mixed Hispanic population. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 63(6), 623-638.
76. Matthias, C., Bockmühl, U., Jahnke, V., *et al.* (1998). Polymorphisms in cytochrome P450 *CYP2D6*, *CYP1A1*, *CYP2E1* and glutathione S-transferase,

- GSTM1, GSTM3, GSTT1 and susceptibility to tobacco-related cancers: studies in upper aerodigestive tract cancers. *Pharmacogenetics*, 8, 91-100.
77. González, M., Pello, M., Menéndez, M., *et al.* (1998) Genetic polymorphism of N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase-M1, and cytochromes P450IIE1 and P450IID6 in the susceptibility to head and neck cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 51, 294-298.
  78. Yang, B., Reilly, D., Demaine, A., *et al.* (2000). Study of polymorphisms in the CYP2E1 gene in patients with alcoholic pancreatitis. *Alcohol*, 23, 91-97.
  79. Zavras, A., Wu, T., Laskaris, G., *et al.* (2002). Interaction between a single nucleotide polymorphism in the alcohol dehydrogenase 3 gene, alcohol consumption and oral cancer risk. *International Journal of Cancer*, 97, 526-530.
  80. Hirvonen, A., Husgafvel-Pursainen, K., Anttila, S., *et al.* (1993). The human CYP2E1 gene and lung cancer: *Dra*I and *Rsa*I restriction fragment length polymorphism in a Finish study population. *Carcinogenesis*, 14(1), 85-88.
  81. Bouchardy, C., Hirvonen, A., Coutelle, C., *et al.* (2000). Role of alcohol dehydrogenase 3 and CYTOCHROME P-450E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *International Journal of Cancer*, 87, 734-740.
  82. Rydzanicz, M., Wierzbicka, M., Gajecka, M., *et al.* (2005). The impact of genetic factors on the incidence of multiple primary tumors (MPT) of the head and neck. *Cancer Letters*, 224, 263-278.
  83. Brocic, M., Supic, G., Zeljic, K., *et al.* (2011). Genetic Polymorphisms of *ADH1C* and *CYP2E1* and Risk of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 145(4), 586-593.
  84. Persson, I., Johansson, I., Bergling, H., *et al.* (1993). Genetic polymorphism of cytochrome P450E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. *FEBS Letts*, 3, 207-211.
  85. Hamdy, S., Hiratsuka, M., Narahara, K., *et al.* (2002) Allele and genotype frequencies of polymorphic cytochromes P450 (CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1) and dihydropyrimidine dehydrogenase (DPYD) in the Egyptian population. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 53, 596-603.
  86. Heathfield, L., Dalvie, S., Kalideen, K., *et al.* Novel CYP2E1 haplotype identified in a South African cohort. *South African Journal of Science*, 110(9), 1-6.
  87. Ben Chaaben, A., Abaza, H., Douik, H., *et al.* (2015) Polymorphisme génétique du cytochrome P450 2E1 et le risque du cancer du nasopharynx. *Bull Cancer*, XX, 1-6.
  88. Tang, K., Li, X., Xing, Q., *et al.* (2010). Genetic polymorphism analysis of cytochrome P450E1 (CYP2E1) in Chinese Han populations from four different geographic areas of Mainland China. *Genomics*, 95, 224-229.
  89. Su, X., Bin, B., y Ran, M. (2011). Cytochrome P450 2E1 *Rsa*I/*Pst*I and *Dra*I Polymorphisms Are Risk Factors for Lung Cancer in Mongolian and Han Population in Inner Mongolia. *Chinese Journal of Cancer Response*, 23(2), 107-111.

90. Gao, C., Takezaki, T., Wu, J., *et al.* (2002). Interaction between Cytochrome P-450 2E1 Polymorphisms and Environmental Factors with Risk of Esophageal and Stomach Cancers in Chinese. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 11(1), 29-34.
91. Cai, L., Yu, S., y Zhang, Z. (2001). Cytochrome P450 2E1 genetic polymorphism and gastric cancer in Changle, Fujian Province. *World Journal of Gastroenterology*, 7(6), 792-795.
92. Deka, M., Bose, M., Baruah, B., *et al.* (2010). Role of *CYP2E1* gene polymorphisms association with hepatitis risk in Northeast India. *World Journal of Gastroenterology*, 16(38), 4800-4808.
93. Malik, M., Upadhyay, R., Mittal, R., *et al.* (2009). Role of Xenobiotic-Metabolizing Enzyme Gene Polymorphisms and Interactions with Environmental Factors in Susceptibility to Gastric Cancer in Kashmir Valley. *Journal of Gastroenterology Cancer*, 40(1), 26-32.
94. Sepehr, A., Kamangar, F., Abnet, C., *et al.* (2004). Genetic polymorphisms in three Iranian populations with different risks of esophageal cancer, an ecologic comparison. *Cancer Letters*, 213, 195-202.
95. Park, G., Lee, O., Kwon, S., *et al.* (2003). Analysis of CYP2E1 polymorphism for the determination of genetic susceptibility to gastric cancer in Koreans. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 18, 1257-1263.
96. Zgheib, N., Mitri, Z., Geryess, E., *et al.* (2010) Cytochrome P4502E1 (*CYP2E1*) Genetic Polymorphisms in a Lebanese Population: Frequency Distribution and Association with Morbid Diseases. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 14(3), 393-397.
97. Marussin, A., Stepanov, V., Spiridonova, M., *et al.* (2006). Association Analysis of Alcohol Metabolizing Enzymes *ADH1B*, *ADH7*, *CYP2E1* Gene Polymorphism with Risk for Coronary Atherosclerosis. *Human Genetics*, 43(3), 409-416.
98. Kongruttanachok, N., Sukdikul, S., Setavarin, S., *et al.* (2001). Cytochrome P450 2E1 polymorphism and nasopharyngeal carcinoma development in Thailand: a correlative study. *BMC Cancer*, 1-4.
99. Sangrajang, S., Jedpiyawongse, A., y Srivatanakul, P. (2006). Genetic Polymorphisms of *CYP2E1* and *GSTM1* in a Thai Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7, 415-419.
100. Wu, M., Chen, C., Lin, M., *et al.* (2002). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2E1, glutathione S-transferase M1 and T1, and susceptibility to gastric carcinoma in Taiwan. *International Journal of Colorectal Disease*, 17, 338-343.
101. Ulusoy, G., Adali, O., Tumer, T., *et al.* (2007). Significance of Genetic Polymorphisms at Multiple Loci of *CYP2E1* in the Risk of Development of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Oncology*, 72, 125-131.
102. Kalow, W. (1956). Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *The Lancet*, 576-577.
103. Gurrola, S., Torres, E., y Chávez, H. (2010). Farmacogenética y Farmacogenómica: hacia una medicina personalizada. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 53(2), 55-59.

104. Rosenberg, N., Pritchard, J., y Weber, J. (2002). Genetic Structure of Human Populations. *Science*, 298, 2381-2385.
105. Mutlib, A., Goosen, T., Bauman, J., *et al.* (2005). Kinetics of Acetaminophen Glucuronidation by UDP-Glucuronosyltransferases 1A1, 1A6, 1A9 and 2B15. Potential Implications in Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 19, 701-709.
106. Court, M., Duan, S., Von Moltke, L., *et al.* (2001). Interindividual Variability in Acetaminophen Glucuronidation by Human Liver Microsomes: Identification of Relevant Acetaminophen UDP-Glucuronosyltransferase Isoforms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 299(3), 998-1006.
107. Krishnaswamy, S., Hao, Q., Al-Rohaimi, Q., *et al.* (2005). UDP Glucuronosyltransferase (UGT) 1A6 Pharmacogenetics: I. Identification of Polymorphisms in the 5'-Regulatory and Exon 1 Regions, and Association with Human Liver UGT1A6 Gene Expression and Glucuronidation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313, 1331-1339.
108. Feldman, M., Friedman, L., y Brandt, L. (2018). *Sleisenger y Fordtran. Enfermedades digestivas y hepáticas.* Elsevier, España.
109. Inaba, T., Nebert, D., Burchell, *et al.* (1995). Pharmacogenetics in clinical pharmacology and toxicology. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 73, 331-338.
110. Bessems, J., y Vermeulen, N. (2001). Paracetamol (Acetaminophen)-Induced Toxicity: Molecular and Biochemical Mechanisms, Analogues and Protective Approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(1), 55-138.
111. Lee, W. (2017). Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity – Isn't it time for APAP to go away? *Journal of Hepatology*, 67(6), 1324-1331.

## ANEXOS

Este trabajo fue presentado en distintas reuniones académicas:

Congreso Interdisciplinario de Cuerpos Académicos CICA-2018 que se llevó a cabo en Guanajuato, Gto. los días 20 y 21 de septiembre de 2018.

XXXII Congreso Nacional de Bioquímica, que se realizó en Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero del 4 al 9 de noviembre de 2018.

V Encuentro Internacional sobre Biotecnología en la UATx que se llevó a cabo en Tlaxcala, Tlax. del 2 al 5 de diciembre de 2018.

Derivado de la participación en congresos se publicaron dos memorias en extenso.

“Prevalencia de la variante alélica de la enzima UDP-Glucuronosil transferasa UGT1A6 552A>C (Arg184Ser) en población mestiza mexicana del estado de Puebla.”

“Diferencias interétnicas en polimorfismos genéticos de enzimas de metabolismo del acetaminofén.”