

1. ¿Qué es el citocromo P-450 y cómo funciona?

MARÍA TERESA DONATO

1. RESUMEN

El citocromo P-450 (P-450) es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. No se trata de un único enzima, sino que en realidad es una familia de hemoproteínas presentes en numerosas especies, desde bacterias a mamíferos, y de las que ya se han identificado más de 2000 isoformas diferentes. Todos los P-450s conocidos se nombran siguiendo un criterio común y se agrupan en familias y subfamilias en función de la similitud en la secuencia del ADN que los codifica. Las familias 1, 2 y 3 están constituidas por enzimas encargados de la biotransformación de xenobióticos, mientras que el resto de familias incluyen P-450s que intervienen en la biosíntesis y el metabolismo de compuestos endógenos. Una de las características más significativas de los P-450 que metabolizan xenobióticos es su baja especificidad, lo que permite que sean capaces de metabolizar un número casi ilimitado de sustratos, principalmente a través de reacciones de oxidación, pero también de reducción e hidrólisis. Las oxidaciones catalizadas por el P-450 son reacciones de monooxigenación dependientes de NADPH y para las que utiliza oxígeno molecular. Como consecuencia de estas reacciones el P-450 acelera la eliminación del organismo de gran número de fármacos y compuestos tóxicos, pero también es el responsable de la activación de toxinas o precarcinógenos. En el hombre, los P-450s están ampliamente distribuidos por todo el organismo, si bien el hígado es el órgano con mayor expresión de estos enzimas. Su expresión está regulada por factores

genéticos (algunos presentan polimorfismos genéticos), fisiopatológicos (regulación hormonal, enfermedades) o ambientales (factores nutricionales, inducción, inhibición). Por esta causa, sus niveles hepáticos varían extraordinariamente entre diferentes individuos, lo que justifica las notables diferencias que, en ocasiones, se observan en el metabolismo de fármacos y xenobióticos y, en última instancia, la variabilidad en la respuesta farmacológica o la diferente susceptibilidad a la acción de tóxicos o carcinógenos.

2. INTRODUCCIÓN: EL METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

A lo largo de su evolución, los organismos vivos han estado expuestos de forma continua a número creciente de sustancias químicas extrañas presentes en su entorno y susceptibles de acceder a su interior de modo accidental. Para salvaguardarse del libre acceso de estos compuestos, los organismos vivos interponen una serie de barreras de naturaleza física o biológica. No obstante, un número indeterminado de los mismos es capaz de superar dichos mecanismos de protección y contactar con las células y tejidos produciendo efectos de diversa índole. Los compuestos químicos que no forman parte de la composición habitual del cuerpo humano, pero que son capaces de acceder a su interior se conocen con el nombre genérico de xenobióticos. Se trata de compuestos de naturaleza química muy variada, algunos de los cuales son de origen natural, entre los que destacan las micotoxinas o los alcaloides, si bien la inmensa mayoría son productos originados por la propia actividad humana, como los contaminantes ambientales o los compuestos químicos de síntesis.

El vertiginoso desarrollo de la industria química en las últimas décadas ha hecho aumentar de forma excepcional el número de estos compuestos, con el correspondiente aumento del riesgo de contacto con los mismos. Algunas estimaciones elevan a varios miles el número de moléculas nuevas introducidas cada año y que engrosan la ya larga lista de xenobióticos. Estos compuestos pueden acceder a nuestro organismo mediante ingestión, inhalación, por vía parenteral o a través de la piel. Entre los mismos se incluyen fármacos, cosméticos, aditivos alimentarios, pesticidas, productos de uso doméstico, derivados de la combustión de carburantes, residuos procedentes de la industria química, etc. Los xenobió-

ticos no son utilizados como nutrientes, por lo que no se incorporan a las rutas bioquímicas del metabolismo intermediario y no son degradados a través de estas vías metabólicas. Se trata, en general, de compuestos de naturaleza lipofílica por lo que pueden atravesar con relativa facilidad las membranas biológicas, acceder al interior de las células y unirse a estructuras celulares de carácter lipofílico. Al mismo tiempo, su eliminación del organismo es dificultosa, dado que la excreción de compuestos no volátiles se realiza a través de fluidos de naturaleza acuosa, principalmente orina. Ante esta situación, los organismos vivos han desarrollado sistemas metabólicos alternativos para acelerar la eliminación de estos compuestos. Se trata de una serie de enzimas no integrados en las vías del metabolismo energético o intermediario del organismo y cuyos sustratos son los xenobióticos. Su función es la de convertir los xenobióticos en moléculas más polares, más hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables. El papel de estos enzimas es clave para la supervivencia celular. De no existir tales vías metabólicas, una vez en el interior del organismo los xenobióticos tenderían a acumularse alterando el equilibrio celular y provocando alteraciones funcionales e incluso la muerte celular.

Al conjunto de procesos enzimáticos a los que se ven sometidos los xenobióticos en el organismo tendentes, en general, a su neutralización y eliminación se les conoce como reacciones de biotransformación o de metabolización de xenobióticos. Tradicionalmente estos procesos se han agrupado en dos fases o etapas. En la fase 1 los xenobióticos son modificados mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis y convertidos en productos más hidrosolubles gracias a la aparición de nuevos grupos funcionales de carácter polar (hidroxilo, amino, carboxilo). En la fase 2 los xenobióticos, o los metabolitos generados por las reacciones de la fase 1, se combinan con moléculas endógenas de carácter polar para formar productos de conjugación que son rápidamente excretados. En general, los enzimas de fase 1 son capaces de transformar múltiples sustratos y catalizar reacciones diferentes. Se trata de proteínas catalíticas de naturaleza muy diversa entre los que se incluyen enzimas con actividad monooxigenasa, como el citocromo P-450 o la flavin monooxigenasa, diversas oxidasas (alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa, amino oxidasas, aromatasas), la epóxido hidrolasa o esterasas y amidasas hepáticas y plasmáticas (Figura 1). El citocromo P-450 es sin duda el miembro más destacado de este grupo de enzimas y el que ha sido más ampliamente estudiado.

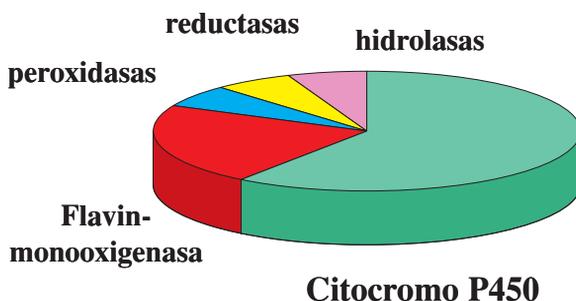


FIGURA 1. Participación relativa de diferentes enzimas de fase I en el metabolismo xenobióticos

3. EL CITOCROMO P-450: CARACTERÍSTICAS GENERALES

Es difícil precisar la fecha concreta en que fue descubierto el citocromo P-450. Los primeros conocimientos sobre el mismo se remontan a estudios realizados por diversos grupos en los años 50 a partir de tejido hepático de mamíferos. Transcurrieron varios años hasta que en 1964 Omura y Sato (1) identificaron la naturaleza hemoproteica de un pigmento presente en los microsomas hepáticos de diferentes especies, que era capaz de unirse al CO tras ser reducido por NADPH o por ditionita. Esta proteína recibió el nombre de citocromo P-450 y su función catalítica pronto se relacionó con el metabolismo de algunos fármacos y compuestos tóxicos. A partir de ese momento el estudio de este enzima despertó un considerable interés entre la comunidad científica. En un principio los resultados obtenidos en diferentes laboratorios no coincidían y se creó cierta confusión con respecto a las funciones y características del citocromo P-450. Esto fue aclarado cuando se comprobó que existían varios tipos de moléculas de citocromos P-450, incluso en individuos de una misma especie. Desde los momentos de incertidumbre inicial hasta la actualidad se ha recorrido un largo camino que ha permitido alcanzar un elevado grado de conocimiento de la estructura, función y propiedades de estos enzimas (2).

El sistema P-450 presenta una enorme versatilidad funcional que se refleja tanto en la gran variedad de procesos que puede catalizar, como en el elevado número de sustratos que es capaz de metabolizar. Si bien el

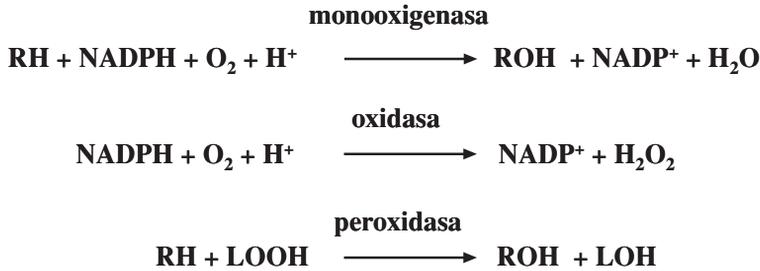


FIGURA 2. *Reacciones enzimáticas de oxidación*

P-450 interviene fundamentalmente en reacciones de oxidación, también es capaz de catalizar reducciones, hidrataciones o hidrólisis. Salvo contadas excepciones, el P-450 requiere oxígeno molecular y NADPH para oxidar el sustrato. Se trata de reacciones de monooxigenación en las que sólo uno de los átomos de oxígeno es incorporado en la molécula del sustrato, mientras que el otro es reducido hasta agua (Figura 2). A los enzimas que catalizan este tipo de oxidaciones se les conoce como monooxigenasas u oxidasas de función mixta. Estas reacciones difieren de las catalizadas por las oxidasas del metabolismo intermediario, con formación de peróxido de oxígeno, y de las reacciones peroxidación en las cuales el átomo de oxígeno introducido en el sustrato procede de peróxidos y no del oxígeno molecular. Entre las oxidaciones catalizadas por el P-450 se incluyen hidroxilaciones aromáticas y alifáticas, N- y S-oxidaciones, epoxidaciones, O-, N- y S-desalquilaciones, desaminaciones, desulfuraciones, deshalogenaciones y deshidrogenaciones. Entre sus sustratos se incluyen tanto moléculas pequeñas como otras mucho mayores (p. e. etanol y ciclosporina, con pesos moleculares de 40 y 1203 D, respectivamente), aromáticas o lineales, tanto planas como globulares, que contengan o no heteroátomos. Esta amplia especificidad de sustrato es debida a la existencia de múltiples formas del enzima, cada una de las cuales se ha adaptado para el metabolismo de grupos de compuestos relacionados estructuralmente. Aún así, esta versatilidad no tiene precedentes y ningún otro enzima puede acomodarse a sustratos de naturaleza química tan dispar. No sería disparatado afirmar, que toda molécula (incluso compuestos químicos de última generación) que entrara en contacto con el organismo podría ser metabolizada, en mayor o menor medida, por el P-450.

Otra de las características más significativas del P-450 es su inducibilidad por los propios xenobióticos. Las primeras alusiones en este sentido se remontan a los años 50-60, al observarse que pacientes que eran tratados con ciertos fármacos desarrollaban una tolerancia al mismo de manera que eran necesarias dosis crecientes para producir el mismo efecto. Este hecho fue constatado en estudios con animales de experimentación y se comprobó la existencia de tipos o grupos de inductores que actuaban de forma selectiva sobre diferentes enzimas P-450 (3, 4).

4. ESTRUCTURA, LOCALIZACIÓN CELULAR Y FUNCIÓN METABÓLICA DEL CITOCROMO P-450

Los P-450s son hemoproteínas catalíticas en las cuales un grupo tiol del aminoácido cisteína sirve como quinto ligando al átomo de hierro del grupo hemo y el sexto ligando es una molécula de agua (al menos así aparece en las estructuras de cristal del enzima libre de sustrato disponibles hasta el momento) (5). En general los P-450s de eucariotas tienen un peso molecular que oscila entre 50 y 60 kD. La similitud en la secuencia de aminoácidos entre los diferentes P-450s es relativamente baja, llegando a ser menor del 20% en algunos casos (6). El extremo C-terminal de la molécula presenta una conservación de las secuencias de aminoácidos entre los distintos P-450s mayor que la región N-terminal. El menor grado de conservación corresponde a las secuencias intermedias. Un 30% de identidad de la secuencia en la zona intermedia puede considerarse como significativa, mientras que un 50% de homología en la región C-terminal podría considerarse como baja. A pesar de ello, los estudios de cristalización de proteínas han permitido comprobar que existe una elevada conservación en la topografía y estructura tridimensional de los P-450s (7). De forma general, la molécula del enzima está constituida por una combinación de regiones α -hélice y de hojas fundamentalmente en la región de la proteína que rodea al grupo hemo, mientras que las regiones más variables son las que constituyen los lugares de anclaje a la membrana o de unión y reconocimiento de sustratos (8). La alta conservación de la región del hemo, que se corresponde con el centro catalítico del enzima, refleja un mecanismo común de transferencia de electrones y de protones y de activación de oxígeno (9). El enzima permanece anclado a la membrana a tra-

vés de una hélice hidrofóbica cercana al extremo N-terminal, por lo que la mayor parte de la proteína se sitúa en la cara citosólica de la membrana (10). Esta hélice transmembrana está seguida, por regla general, por una serie de aminoácidos básicos cuyos residuos interactúan con las cargas negativas de los lípidos de la membrana.

El monóxido de carbono puede unirse al hierro ferroso (forma reducida de la hemoproteína) del P-450 para formar un complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-CO}$, produciendo un cambio en el máximo de absorbancia del grupo hemo (pico de Soret) a 450 nm. Esta propiedad es precisamente la que dio origen a que estas enzimas pasaran a denominarse como citocromo P-450 (P es por pigmento), a pesar de que, como se comprobó posteriormente, estas hemoproteínas no son citocromos, en el sentido estricto de la palabra. Este máximo de absorbancia característico del P-450 es utilizado para su cuantificación espectrofotométrica. El grupo tiol de la cisteína ligado al átomo de hierro es el responsable de este pico de Soret. En el resto de hemoproteínas, en las que la histidina actúa como ligando, el máximo de absorción aparece a 420 nm. El CO se une con gran afinidad e impide la unión y la activación del oxígeno molecular y, de este modo, inhibe de forma reversible la actividad enzimática del P-450. Otros ligandos (substratos e inhibidores) también pueden inducir cambios de absorbancia en el pico de Soret, lo que permite el análisis por espectrofotometría de la unión de tales compuestos.

Los enzimas P-450 catalizan el ataque oxidativo a compuestos de naturaleza orgánica (hidrocarburos y sus derivados) no activados. Estas reacciones de oxidación son regio- y estero-específicas y tienen lugar a temperatura fisiológica. Si estas mismas transformaciones no estuvieran catalizadas no serían específicas y necesitaría temperaturas muy elevadas. Los P-450 requieren electrones para reducir el oxígeno molecular, salvo contadas excepciones en las que el enzima utiliza peróxidos en lugar de oxígeno molecular (11). Los P-450s pueden clasificarse en cuatro clases en función de cómo acceden los electrones desde el NADPH hasta el centro catalítico del enzima (6). Las proteínas de clase I utilizan una reductasa que contiene FAD y una ferrosulfoproteína (ferridoxina). Las de clase II usan una cadena de transferencia de electrones más corta y sólo necesitan una reductasa del citocromo P-450 que contiene FAD/FMN para la transferencia de electrones. Las de clase III son autosuficientes y no requieren un donador de electrones, mientras que las de clase IV reciben los electrones directamente del NAD(P)H.

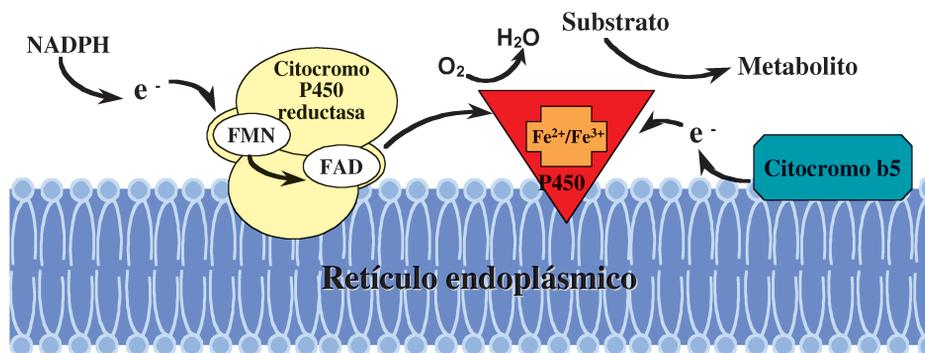


FIGURA 3. Localización del sistema citocromo P-450 en la membrana del retículo endoplásmico

En los organismos eucariotas los P-450s de clase I se encuentran asociados a la membrana interna de la mitocondria. El origen filogenético de las formas de P-450 mitocondrial identificadas en diferentes especies animales (estos enzimas no han sido descritos en plantas) parece no estar relacionado con los P-450s de clase I de los procariontes, a pesar de sus analogías en la cadena de transporte electrónico (6). En los mamíferos estos P-450s catalizan diversos pasos de la biosíntesis de hormonas esteroideas y vitamina D₃.

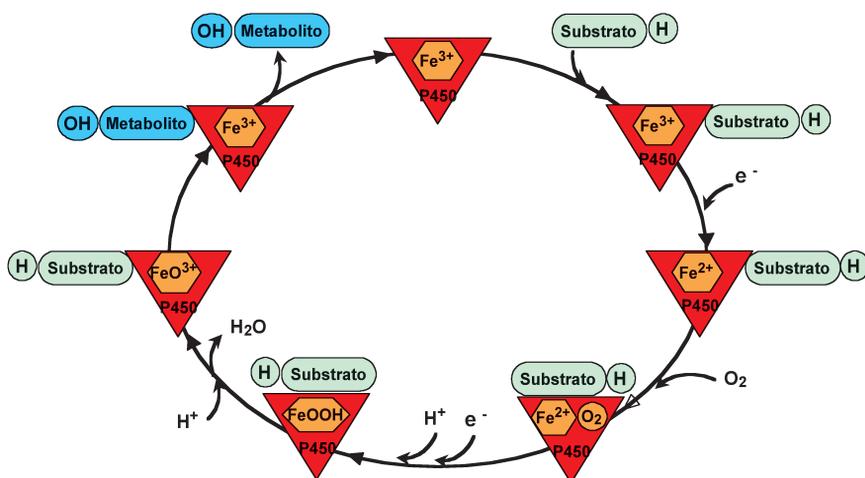
Los enzimas de clase II son los más abundantes en eucariotas. Los P-450s y las NADPH-citocromo P-450 reductasas no están asociados y ambos están anclados de forma independiente en la cara externa de la membrana del retículo endoplásmico mediante la región hidrofóbica del extremo amino-terminal (Figura 3). La actividad de algunos P-450s se ve favorecida por la presencia de citocromo b₅ que facilita la transferencia de electrones desde el NAD(P)H (12). Estos enzimas participan en múltiples funciones biosintéticas. A modo de ejemplo, en los hongos se encargan de la síntesis de esteroides de membrana y micotoxinas, y en los vegetales intervienen en los procesos de síntesis y catabolismo de hormonas, la oxidación de ácidos grasos, las rutas metabólicas que conducen a la lignificación y la síntesis de pigmentos y compuestos de defensa (antioxidantes, fitoestrógenos, aromas) (10). En los animales, entre sus funciones fisiológicas se incluyen la biosíntesis y el catabolismo de moléculas señalizadoras, hormonas esteroideas y ácido retinoico.

Además de sus funciones biosintéticas, los P-450s de clase I y de clase II participan en los procesos de metabolización de xenobióticos tanto en plantas como en animales (13). Se trata de enzimas de gran trascendencia desde el punto de vista farmacológico y toxicológico. Son los responsables del metabolismo de fármacos y de los procesos de detoxificación. No obstante, en ocasiones participan en procesos de activación contribuyendo a la aparición de fenómenos tóxicos o de carcinogénesis.

Los P-450s de clase III participan en la síntesis de prostaglandinas en mamíferos, mientras que el P-450 de clase IV sólo se ha identificado en hongos (14). Ambas clases de enzimas se podrían considerar como las formas más ancestrales de P-450s que participan en la detoxificación de especies activadas de oxígeno.

5. MECANISMO ENZIMÁTICO DEL P-450

Los detalles de los mecanismos por los que los P-450s catalizan tan elevado número de reacciones son todavía desconocidos. La activación del oxígeno, que parece ser similar en todos los P-450s (o al menos en todos los estudiados), es precisamente el aspecto mejor conocido (5). El centro catalítico de los P-450 es el átomo de hierro hexacoordinado (con los 4 anillos de la protoporfirina IX, con el grupo tiol de un residuo de cisteína de la cadena polipeptídica y con el solvente, normalmente agua). El primer paso del proceso catalítico consiste en la unión del sustrato y el desplazamiento del solvente en la sexta posición de coordinación del átomo de hierro. Como consecuencia de ello se originan cambios en el estado de *spin*, en el potencial redox y en el máximo de absorbancia de la hemoproteína. En el segundo paso se produce la reducción del complejo hemoproteína-sustrato al estado ferroso (el Fe^{3+} del grupo hemo pasa a Fe^{2+}) gracias al aporte de un electrón y al aumento en el potencial redox originado en el paso anterior. El tercer paso es la unión del oxígeno molecular para formar un complejo superóxido y en el cuarto paso se produce el aporte de un segundo electrón con la formación de una especie activada de oxígeno. A partir de este punto el mecanismo no se conoce con certeza. La naturaleza de la especie activada de oxígeno es desconocida (se apunta que pudiera ser una mezcla de complejos hierro-peroxo o hierro-oxo con la hemoproteína). En cualquier caso, se trataría de un oxidante electrofílico de vida muy corta formado por la protonación del dióxígeno ($\text{O}=\text{O}$) (15).

FIGURA 4. *Ciclo catalítico del citocromo P-450*

El resultado final sería la liberación de uno de los átomos de oxígeno en forma de una molécula de agua y la incorporación del otro en el sustrato. En la Figura 4 está representado el proceso que daría lugar a la formación de un metabolito hidroxilado. El resultado de la actividad enzimática del P-450 no siempre es la inserción de oxígeno en la molécula del sustrato, pudiendo catalizar también reacciones de deshidratación, deshidrogenación, isomerización, dimerización, e incluso reducción.

El desacoplamiento del ciclo catalítico del P-450 se produce cuando los electrones del cofactor NADPH son consumidos sin formación de metabolitos oxidados. Esto ocurre cuando a) el intermediario $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$ se autooxida liberando anión superóxido y regenerando el enzima en estado férrico; b) el intermediario Fe^{3+} -hidroperóxido se disocia en una molécula de H_2O_2 y enzima férrico; o c) la especie $\text{Fe}=\text{O}$ en lugar de oxidar el sustrato es reducida a una molécula de agua por transferencia adicional de electrones (5).

6. LA SUPERFAMILIA P-450: NOMENCLATURA

Desde el momento del descubrimiento del P-450 la purificación e identificación de nuevos isoenzimas ha sido una constante (2). En un principio los enzimas se nombraban en función de la reacción que catalizaban o de

su inducibilidad, lo que motivó que un mismo P-450 recibiera nombres diferentes en cada uno de los laboratorios donde había sido caracterizado. A finales de los años 80 el elevado número de P-450 conocidos hizo que la comunidad científica se planteara la necesidad de establecer unos criterios de nomenclatura que evitara posibles ambigüedades. En 1987 se establecieron los principios del sistema de nomenclatura y clasificación que se utiliza hoy en día, el cual obedece a criterios filogenéticos y se basa en la identidad de la secuencia de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de los diferentes enzimas (16). Según este criterio, los P-450 se identifican con las siglas CYP seguido de un número que designa la familia, una letra que identifica la subfamilia y otro número que se corresponde con el gen (p. e. CYP1A1, CYP2C9). Con este sistema de nomenclatura quedan totalmente identificados todos los P-450s, tanto procariotas como eucariotas. En una misma familia se agrupan aquellos enzimas cuya secuencia de aminoácidos tiene una similitud mayor del 40%, independientemente de la especie de procedencia. Dentro de una familia los P-450s se agrupan en diferentes subfamilias que, siempre que haya más de una, se denominan correlativamente empezando siempre por la letra A (p. e. CYP2A, CYP2B, CYP2C, etc). En este caso, el requisito para que dos P-450 pertenezcan a la misma subfamilia es que tengan una homología en la secuencia de aminoácidos superior al 55%. Por último, dentro de la misma subfamilia, los enzimas individuales se designan según números empezando siempre por el 1 (p. e. CYP1A1, CYP1A2), teniendo en cuenta que dos P-450 se consideran como diferentes siempre y cuando sus respectivas secuencias difieran en más de un 3%.

Los P-450 constituyen una superfamilia de hemoproteínas que pueden encontrarse en numerosas especies (bacterias, hongos, plantas, insectos, nematodos, peces, aves, mamíferos) y para los que se supone un origen común. Todos los P-450 identificados a lo largo de la escala filogenética (desde bacterias hasta mamíferos) se nombran según el mismo criterio y se incluyen dentro de la misma clasificación. Algunos P-450 son comunes a varias especies (p. e. CYP1A2 y CYP2E1 presentes en diferentes mamíferos y roedores) y otros son característicos de una especie en particular (p. e. CYP2A6 o CYP3A4 exclusivos del hombre). En cualquier caso, cada especie presenta su propio patrón de P-450s. Estos enzimas se han utilizado como instrumentos para estudios filogenéticos. En este sentido, la información obtenida tras el análisis de la homología

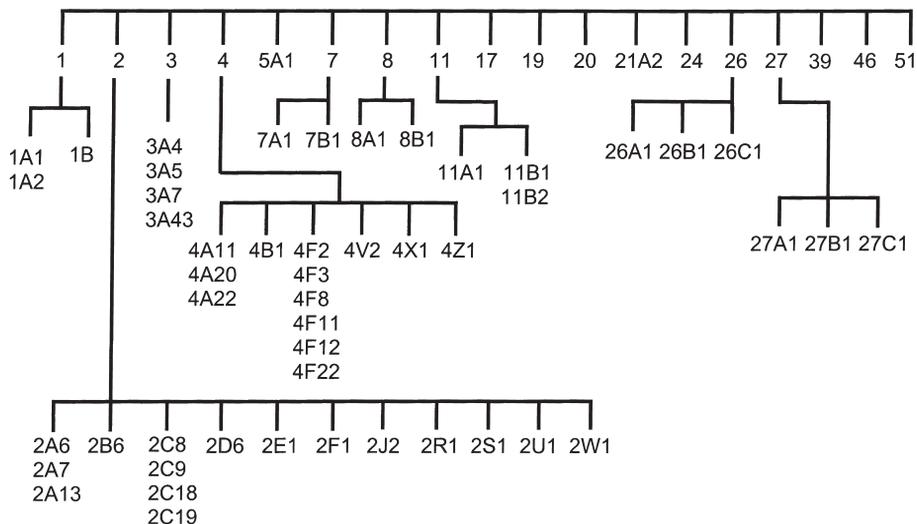


FIGURA 5. *Los enzimas P-450 identificados en la especie humana*

de los genes que codifican los P-450s en diferentes especies ha permitido la generación de mapas de la evolución de dichas especies y las relaciones existentes entre las mismas (17).

Cuando en 1987 se realizó la primera clasificación de los miembros de esta superfamilia de enzimas, se habían descrito a penas 30 genes diferentes que se agruparon en 10 familias (16). En poco más de 15 años el número de P-450 conocidos ha aumentado de forma extraordinaria y en la actualidad ya asciende a más de 2000, incluidos en 200 familias diferentes (<http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP-450.html>). En el caso concreto del hombre se han secuenciado 57 genes y 47 pseudogenes pertenecientes a 18 familias (Figura 5). Los pseudogenes son genes defectivos que no originan proteínas funcionales y que se consideran como una reminiscencia de duplicaciones de genes en los que una de las copias ha degenerado y perdido su función.

Los enzimas P-450 intervienen tanto en el metabolismo de xenobióticos como en la biosíntesis de compuestos endógenos. Hoy en día parece evidente que el P-450 surgió con la finalidad de catalizar reacciones del metabolismo de compuestos endógenos y que en un momento determinado los xenobióticos aparecieron como sustratos fortuitos. No debemos ol-

vidar que la mayor parte de los xenobióticos son compuestos de naturaleza lipofílica que guardan ciertas similitudes (estructurales, fisicoquímicas, etc) con los substratos endógenos de los P-450. Por tanto, y tomando como punto de partida los P-450 preexistentes, los organismos vivos, en su evolución, se han ido adaptado a su nuevo entorno desarrollando nuevos enzimas capaces de favorecer la eliminación de los xenobióticos con los que pueden entrar en contacto. Esta evolución nos ha llevado a la situación actual en la que existen familias de P-450s que siguen catalizando la transformación de moléculas endógenas, mientras que otros enzimas se han “especializado” en el metabolismo de compuestos exógenos (18).

7. LOS ENZIMAS P-450 EN EL HOMBRE. EXPRESIÓN EN DIFERENTES TEJIDOS

En un principio se pensó que los P-450s eran proteínas exclusivamente hepáticas. Esta idea inicial se descartó al comprobarse la presencia de estos enzimas en prácticamente todo el organismo (19) e incluso algunos de ellos sólo se localizan en tejidos extrahepáticos. La amplia distribución tisular de los P-450s se debe probablemente al gran número de funciones que realizan. No obstante, el hígado es el órgano con mayor expresión de estos enzimas y en él se encuentran tanto los P-450s implicados en reacciones fisiológicas como los encargados del metabolismo de xenobióticos, si bien éstos últimos son los más abundantes. Se estima que alrededor del 70% de los P-450 hepáticos pertenecen a las familias 1 a 3 (Tabla 1). Precisamente estas tres familias son las que catalizan la mayor parte de las reacciones de biotransformación de substratos exógenos. Los isoenzimas más abundantes en el hígado humano son el CYP3A4 y los CYP2Cs, que representan un 30% y un 20% respectivamente del contenido total de P-450 (20). Como consecuencia de ello, y a pesar de que algunos P-450s que participan en las reacciones de biotransformación sólo se expresan en tejidos extrahepáticos (p. e. CYP1A1, CYP2F1) (21,22), el hígado se considera como el principal órgano de metabolización de xenobióticos. El papel clave del hígado en la eliminación de estos compuestos deriva de su mayor contenido en enzimas implicados en las reacciones de metabolización y de su privilegiada situación anatómica que le permite el contacto directo con todos los compuestos que acceden al organismo por vía oral.

TABLA 1
Principales P-450s de metabolización de fármacos en el hígado humano

CYP	Abundancia en hígado (%) ^a	Variabilidad interindividual ^b	Expresión	Metabolismo de fármacos (%) ^c	Activación de pre-carcinógenos
1A2	10	30	Inducible, polimórfico	4	Sí
2A6	5	100	Polimórfico	<1	Sí
2B6	1	50	Inducible	<1	
2C8	<1	30	Polimórfico	<1	
2C9	15	30	Polimórfico	11	Sí
2C19	4	30	Polimórfico	6	
2D6	4	200	Polimórfico	25	
2E1	10	50	Inducible, polimórfico	4	Sí
3A4	30	80	Inducible, polimórfico	50	Sí
3A5	<1		Inducible, polimórfico	<1	

^a Estimación del contenido relativo en hígado humano de cada enzima P450 con respecto al P450 total (20).

^b Variabilidad de los niveles de cada enzima en el hígado de diferentes individuos (23).

^c Estimación de la participación de cada enzima en el metabolismo de fármacos en el hombre (76).

La expresión hepática de los P-450 varía extraordinariamente entre diferentes individuos como consecuencia de factores genéticos, fisiopatológicos y ambientales (23). Algunos P-450 presentan expresión polimórfica lo que conduce a variantes del enzima que pueden tener alterada su actividad catalítica (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles>). La frecuencia de aparición de las formas polimórficas del enzima varía notablemente entre diferentes grupos étnicos (24). Los diferentes fenotipos pueden traducirse en variaciones significativas del metabolismo de algunos fármacos en determinados individuos y, como consecuencia de ello, pueden observarse alteraciones de sus parámetros farmacocinéticos, disminución de su eficacia terapéutica o un mayor riesgo de aparición de efectos adversos.

No obstante, el patrón de P-450s en un individuo no sólo está controlado a nivel genético, sino que también está modulado por otros factores. En este sentido se ha apuntado la existencia de diferencias en la actividad del P-450 en función de la edad del individuo, si bien los resultados realizados entre diferentes grupos de población (neonatos, niños, adultos, población ge-

riática) no son totalmente concluyentes (26-27). Del mismo modo, el sexo se considera otro posible factor modulador de la actividad de estas enzimas (28). Se ha demostrado que algunas formas del P-450 sólo se expresan en ratas macho, mientras que otras son específicas de las hembras (29). El origen de estas diferencias parece ser la existencia de un control hormonal sexo-dependiente de la expresión de los P-450. En otras especies de roedores o en primates no humanos también se han observado ciertas variaciones ligadas al sexo, aunque en todos los casos la magnitud de las diferencias es inferior a la observada en la rata. Diferentes estados fisiológicos como el embarazo o el ayuno, alteraciones fisiopatológicas que afectan a la homeostasis general del organismo, entre los que se incluyen desequilibrios hormonales, procesos inflamatorios, obesidad, neoplasias, etc. o enfermedades hepáticas, tales como esteatosis, cirrosis o tumores hepáticos modifican la expresión del P-450 y su capacidad funcional (30,31). Asimismo, la influencia de la dieta y del estado nutricional del individuo ha sido ampliamente estudiada (32,33). La expresión del P-450 puede modularse por cambios en los niveles de macro o micronutrientes, por el ayuno y la reducción en la ingesta calórica, o por la presencia en los alimentos de otros componentes que no pueden considerarse como nutrientes y que pueden producir inducción o inhibición de los P-450. Entre estos últimos se pueden incluir aditivos alimentarios (conservantes, estabilizantes, colorantes, antioxidantes, etc), compuestos indólicos presentes en ciertos vegetales, la cafeína, flavonoides naturales de ciertos vegetales, terpenoides y una larga lista de compuestos a la que habría que añadir los productos que se generan como consecuencia de la preparación de los alimentos a elevadas temperaturas (33). Mención especial merecen los efectos inductores producidos por el alcohol y ciertos componentes del humo del tabaco. Finalmente, a todos estos factores habría que sumar los posibles efectos inductores e inhibidores producidos por la ingestión, inhalación o contacto con otros xenobióticos tales como contaminantes ambientales, pesticidas, cosméticos, productos tóxicos o los propios fármacos.

8. LOS ENZIMAS P-450 DE METABOLIZACIÓN DE XENOBIÓTICOS

Los enzimas que catalizan la transformación de xenobióticos en el hombre y el resto de mamíferos pertenecen a las familias 1 a 3, mientras que en el resto de las familias se incluyen enzimas que intervienen en el

metabolismo de compuestos endógenos de naturaleza tan diversa como esteroides, ácidos biliares, ácidos grasos, prostaglandinas, leucotrienos, etc. No obstante, algunos enzimas de las tres primeras familias también metabolizan sustratos endógenos (34,35) y para algunos de los enzimas incluidos en la familia 2 (p. e. CYP2J2, CYP2T, CYP2V, CYP2W) no se ha podido demostrar, al menos hasta el momento, su papel en el metabolismo de xenobióticos.

8.1. Familia CYP1

En esta familia se incluyen dos subfamilias: CYP1A, constituida por los isoenzimas CYP1A1 y el CYP1A2, y CYP1B, a la que pertenece el CYP1B1. Estos tres enzimas comparten una serie de características. En todos ellos, el control transcripcional de la expresión del enzima tiene lugar a través de la vía del receptor nuclear *Ah* (*Aryl hydrocarbon receptor*) (36,37). Además, los tres participan de forma destacada en procesos de activación de procarcinógenos. Sin embargo, presentan notables diferencias en su actividad metabólica y su distribución en diversos tejidos. Los enzimas CYP1A1 y CYP1A2 juegan un papel importante en la activación de algunos procarcinógenos, convirtiéndolos en metabolitos intermediarios que pueden unirse al DNA originando mutaciones (38). El CYP1A1 activa el beno(a)pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos, y el CYP1A2 participa fundamentalmente en la activación de nitrosaminas, aflatoxina B1 y aminas aromáticas (38,39).

El CYP 1A1 es un enzima extrahepático. Su expresión constitutiva es muy baja, pero es muy inducible por ligandos del receptor *Ah* (hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxinas, humo del tabaco) por lo que la exposición a estos compuestos aumenta de forma significativa sus niveles en tejidos como el pulmón, la placenta, la glándula mamaria o los linfocitos (40). Presenta formas polimórficas, algunas de las cuales se han relacionado con una mayor incidencia del cáncer de pulmón en algunos grupos de población (41).

La expresión CYP1A2 parece estar restringida al hígado, donde constituye aproximadamente el 10% del contenido total de P-450 (20). Se trata de un enzima inducible por hidrocarburos (contenidos en el humo del tabaco o producidos durante la carbonización de algunos alimentos), com-

puestos indólicos de algunos vegetales o algunos fármacos (fenitoína, omeprazol) (42-44). Se han identificado variantes alélicas del enzima, algunas de las cuales se correlacionan con una mayor o menor respuesta al efecto inductor del humo del tabaco, lo que podría explicar, al menos en parte, la elevada variabilidad que presenta el enzima entre diferentes individuos (45,46). Entre los sustratos del CYP1A2 no sólo se encuentran precarcinógenos y compuestos tóxicos, sino también moléculas con actividad farmacológica como fenacetina, paracetamol, cafeína, teofilina, olanzapina o propanolol (43). En general, se trata de moléculas neutras o básicas, lipofílicas y planas (47).

El CYP1B1 es el miembro de la familia más recientemente caracterizado. Se expresa de forma constitutiva en el riñón, próstata, glándula mamaria o el ovario, pero no en el hígado (38,48). En general su expresión basal (en situaciones de no inducción) es mayor que la del CYP1A1 y participa tanto en el metabolismo de estrógenos como de hidrocarburos aromáticos policíclicos y de aminas heterocíclicas (38). El gen del CYP1B1 presenta formas alélicas algunas de las cuales se traducen en una alteración funcional (49). Se ha sugerido un posible papel del enzima como modulador de ciertos procesos de crecimiento y diferenciación, así como una sobreexpresión del mismo en algunos tumores (50).

8.2. Familia CYP2

Se trata de la familia constituida por mayor número de miembros, los cuales están organizados en más de 20 subfamilias. En el hombre la familia CYP2C la integran 20 enzimas pertenecientes a 13 subfamilias diferentes. A diferencia de la familia CYP1, sus miembros no comparten vías comunes de regulación de la expresión y la naturaleza química de los sustratos de estos enzimas es muy heterogénea.

Tres miembros de la **subfamilia CYP2A** han sido identificados en el hombre: CYP2A6, CYP2A7 y CYP2A13. El CYP2A6 se expresa en el hígado donde representa aproximadamente el 5% del total y es inducible por fenobarbital y otros fármacos antiepilépticos (20,51). Este enzima interviene en la activación de algunos procarcinógenos como aflatoxina B1 o nitrosaminas del humo del tabaco (52), en la metabolización de la nicotina (53) y en la biotransformación de algunos fármacos (54). Se ha

observado la existencia de polimorfismos genéticos del CYP2A6 que han sido asociados a una diferente susceptibilidad al cáncer de pulmón (55,56). El CYP2A7 es una proteína no funcional y el CYP2A13 no se expresa en el hígado y sí de forma importante en la mucosa olfativa (57).

El CYP2B6 es el único miembro de la **subfamilia CYP2B** identificado en el hombre. Los niveles en hígado son bajos y muy variables, si bien en general representa un contenido < 1% del P-450 total (58). Su inducción está mediada por el receptor nuclear CAR (*constitutive active receptor*) y probablemente también por PXR (*pregnane X receptor*) (59,60). Entre los sustratos del CYP2B6 se han identificado compuestos tóxicos y algunos fármacos (61,62).

La **subfamilia CYP2C** en el hombre está integrada por cuatro genes: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 y CYP2C19. Entre ellos, el CYP2C9 es el que presenta mayor contenido en hígado humano (Tabla 1). Los sustratos del CYP2C9 suelen ser moléculas débilmente lipofílicas que se comportan como ácidos débiles. Se ha identificado la existencia de polimorfismos genéticos del CYP2C9 (63), pero se desconocen sus consecuencias funcionales, a pesar de que este enzima cataliza el metabolismo de gran número de compuestos de gran interés terapéutico tales como fármacos antiinflamatorios o hipoglucemiantes (64). El CYP2C9 metaboliza la mayor parte de estos sustratos a través de reacciones de hidroxilación. Se trata, en general, de moléculas de carácter ácido, ionizadas a pH fisiológico, posiblemente con un heteroátomo y anfipáticas (la región hidrofóbica se corresponde con el lugar de hidroxilación). Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos constituyen el grupo de sustratos más importante, en los cuales la hidroxilación tiene lugar en el anillo aromático o en una cadena alquílica lateral de 2 ó 3 átomos de carbono. El CYP2C19 también se expresa en hígado y es responsable del metabolismo de un número importante de fármacos (64). Presenta polimorfismo genético cuyas consecuencias fenotípicas conducen a la aparición de individuos considerados como “metabolizadores lentos” con una incidencia del 3% y 20% en poblaciones caucásicas y japonesas, respectivamente (65,66). Este polimorfismo afecta al metabolismo de fármacos como la mefenitoína, warfarina u omeprazol (67). A diferencia del CYP2C9, los sustratos del CYP2C19 suelen ser moléculas neutras o de carácter básico y moderadamente lipofílicas (47). El CYP2C8 se expresa en hígado

en niveles variables y poco importantes. Entre sus sustratos se encuentran moléculas endógenas (ácido retinoico, retinol) y algunos fármacos (68,69). Hasta el momento no se ha detectado la existencia de formas polimórficas. El CYP2C18 no se expresa en hígado, al menos de forma apreciable y se desconocen su actividad funcional y las posibles implicaciones fenotípicas de las formas polimórficas identificadas (70,71).

Dentro de la **subfamilia CYP2D**, en el hombre sólo se ha identificado el CYP2D6, el cual se expresa en hígado y no es inducible. Se trata posiblemente del P-450 más popular entre los médicos y profesionales de la salud debido a su polimorfismo genético. En la actualidad se conocen unas 80 variantes alélicas del gen, la mayor parte de las cuales afectan a la actividad de la correspondiente proteína (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles>). Se han establecido tres fenotipos del enzima que se conocen como metabolizadores lentos (con alelos defectivos), metabolizadores rápidos (forma nativa o variantes alélicas sin consecuencias funcionales) y metabolizadores ultrarrápidos (con múltiples copias del gen). El impacto clínico de estas alteraciones en la actividad del CYP2D6 se hace patente al observar la larga lista de agentes terapéuticos que son sustratos del enzima (72,73). Entre los fármacos cuyo metabolismo se ve afectado por estos fenotipos funcionales se incluyen antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos, neurolépticos o beta-bloqueantes (64). El polimorfismo genético del CYP2D6 se ha relacionado también con una diferente susceptibilidad a la enfermedad de Parkinson y al cáncer de hígado o de pulmón (74,75). Es de destacar el hecho de que el CYP2D6 es considerado el segundo enzima en importancia en el metabolismo de fármacos (después del CYP3A4), ya que se estima que más del 25% de los fármacos son sustratos del mismo, cifra superior a la de otros enzimas más abundantes como CYP1A2, CYP2C9 o CYP2E1 (Tabla 1) (76). Este dato contrasta con el contenido relativamente bajo del enzima en hígado, donde sólo representa en torno al 2-5% del P-450 total. Los sustratos del enzima son en general moléculas ligeramente hidrófilas con al menos un átomo de nitrógeno de carácter básico (47).

El CYP2E1, el único miembro de la **subfamilia CYP2E** identificado en la especie humana. Se expresa en el hígado (ardedor del 10% del P-450 total en este tejido) y también en otros tejidos, aunque de forma menos importante (19). Este enzima participa en la activación de ciertos carcinógenos (hidrocarburos halogenados, nitrosaminas) y en el metabolismo

de solventes de uso común como etanol, acetona o benceno (77). Se conocen pocos fármacos metabolizados por el CYP2E1 entre los que cabe destacar el paracetamol, clorzoxazona o ciertos anestésicos (p.e. halotano, enflurano) (64,78). Se trata, en general, de moléculas pequeñas (peso molecular < 200 kD) y neutras (47). Una de las características del CYP2E1 es su inducibilidad por etanol y otros compuestos (acetona, isoniazida), pero también por ciertos estados fisiopatológicos tales como la diabetes o el ayuno (79,80).

En el resto de subfamilias pertenecientes a la familia CYP2 se incluyen diversos enzimas con muy baja expresión (muchos son sólo extrahepáticos) y con poca relevancia desde el punto de vista funcional. Entre ellos se encuentran enzimas que intervienen en el metabolismo de substratos endógenos (p.e. CYP2J2) (35) y otros que metabolizan xenobióticos (p.e. CYP2F1) (81), si bien no se ha identificado la participación de enzimas de estas subfamilias en el metabolismo de compuestos de interés farmacológico.

8.3. Familia CYP3

En el hombre esta familia contiene una única subfamilia que comprende cuatro genes: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43, de los cuales sólo se han caracterizado las proteínas correspondientes a los tres primeros. Son enzimas con una alta homología en la secuencia de aminoácidos (>85%), con características funcionales (actividad catalítica) muy similares e inducibles por ciertos fármacos (barbitúricos, rifampicina, dexametasona) (82). Se trata del grupo de enzimas con mayor importancia en el metabolismo de agentes terapéuticos, si bien también metabolizan xenobióticos de relevancia toxicológica (p.e. aflatoxina B1, 1-nitropireno (82,83), o compuestos endógenos (p.e. cortisol, testosterona, progesterona) (84). La expresión tisular de estos enzimas presenta notables diferencias. El CYP3A4 es el P-450 más abundante en el hígado humano (constituye un 30-40% del total) y se expresa también en la mucosa intestinal (85). El CYP3A5 es menos abundante que el CYP3A4 y se localiza en el hígado (donde se expresa de forma polimórfica), pulmón, riñón, colon, esófago o glándula pituitaria (19,86). El CYP3A7 se encuentra fundamentalmente en el hígado fetal, donde es la forma ma-

yoritaria, aunque existen evidencias de que también se expresa en hígado adulto (87,88). Los CYP3A son inducibles por ciertos fármacos entre los que se encuentran anticonvulsivantes (fenobarbital, fenitoina, carbamazepina), agentes antimicrobianos (rifampicina) y glucocorticoides (dexametasona) (82). La inducción de CYP3A4 y CYP3A7 está regulada a través del receptor nuclear PXR y la del CYP3A5 a través del receptor para glucocorticoides (60,89,90).

El papel destacado de estos P-450 en el metabolismo de fármacos, y de forma particular del CYP3A4, se debe no sólo a su mayor abundancia en el tejido hepático (en situaciones de inducción puede llegar a suponer más del 50% del P-450 hepático), sino también al gran número de moléculas de interés clínico que han sido identificadas como sustratos del mismo. En este sentido, se estima que la mitad de los fármacos con rutas metabólicas conocidas son metabolizados por el CYP3A4 y en esta larga lista se incluyen agentes terapéuticos de notable importancia como la eritromicina, midazolam, ciclosporina A, lidocaina o nifedipina (91-93). La administración simultánea de dos o más fármacos es una práctica terapéutica común y cabe la posibilidad de que dichos fármacos sean metabolizados por el mismo enzima, probablemente el CYP3A4. Este hecho origina la aparición de interferencias metabólicas motivadas por la competencia de dos fármacos por el enzima, lo que puede dar lugar a variaciones importantes, y no esperadas, en los niveles plasmáticos de los fármacos. Estas interacciones pueden ser especialmente peligrosas en el caso de fármacos con índices terapéuticos muy estrechos. A modo de ejemplo, la coadministración de antifúngicos azólicos (potentes inhibidores del CYP3A4) y cisaprida (fármaco utilizado para el tratamiento de la dispepsia no ulcerosa y metabolizado por el CYP3A4) conduce a un aumento de los niveles de éste último, lo que aumenta el riesgo aparición de arritmias ventriculares potencialmente fatales (82,94). Otra posible causa de interacción metabólica es la coadministración de un fármaco inductor del CYP3A4 y otro metabolizado por el enzima (93). El aumento de la actividad CYP3A4 dará lugar a una rápida metabolización del fármaco, por lo que sus niveles plasmáticos no alcanzarán los niveles deseados y el fármaco se mostrará ineficaz. Por ejemplo, el tratamiento con fenitoina reduce considerablemente los niveles plasmáticos y la biodisponibilidad de la ciclosporina y la rifampicina acelera la eliminación del etinilestradiol, quinidina y otros fármacos (93,95).

Los tres enzimas CYP3A presentan formas polimórficas. Se conoce la existencia de más de 20 variantes del CYP3A4, sin embargo se estima que su contribución a la variabilidad interindividual del enzima es escasa, aunque no se descarta que pueda jugar un papel importante en la respuesta atípica a algunos fármacos o la sensibilidad a ciertos carcinógenos (86,96). En el caso del CYP3A5 el polimorfismo afecta a su expresión en el hígado y se traduce en una expresión relativamente baja en la mayor parte de la población, en una expresión muy elevada en grupos reducidos o la ausencia de la proteína en otros individuos (97). Del mismo modo, la expresión polimórfica del CYP3A7 es el motivo de las notables diferencias entre individuos que presentan los niveles hepáticos e intestinales del enzima (88).

8.4. Otros enzimas P-450

El resto de P-450s tiene una escasa repercusión en el metabolismo de fármacos y otros xenobióticos, al tratarse de enzimas implicados fundamentalmente en el metabolismo de substratos endógenos. La única subfamilia con interés fármaco-toxicológico es la CYP4A, que incluyen enzimas inducibles por hidrocarburos aromáticos (plaguicidas, herbicidas, solventes) (98), pero cuya posible participación en el metabolismo de xenobióticos no se ha podido demostrar. En la Tabla 2 se muestran las rutas o reacciones metabólicas en las que intervienen los P-450 de metabolismo endógeno. Estos CYPs son indispensables en los organismos eucariotas para la biosíntesis de esteroides (constituyentes fundamentales de la membrana plasmática), e intervienen en otros procesos endógenos, tales como procesos de síntesis o de metabolización de esteroides, prostaglandinas, leucotrienos, sales biliares, vitaminas liposolubles (A y D), alcaloides endógenos, etc. (2). Se trata de enzimas específicos, que catalizan una sola reacción y que tienen un solo substrato (en ocasiones dos). Este comportamiento contrasta de forma notable con la baja especificidad de los P-450 metabolización de xenobióticos (los pertenecientes a las tres primeras familias).

La aparición de alteraciones en los genes que codifican estos P-450s puede afectar la función de la proteína correspondiente. Por regla general, se produce un déficit total o parcial de la actividad del enzima, si bien también pueden aparecer casos de sobreactividad. En cualquier caso, estas alteraciones funcionales pueden conducir a la aparición de enfermedades o

TABLA 2

Papel de los P-450s en el metabolismo endógeno del hombre

<i>Isoenzima</i>	<i>Función metabólica</i>
CYP4A11	Metabolismo ácidos grasos (β -hidroxilación y ω -hidroxilación)
CYP4B1	Metabolismo ácido araquidónico (síntesis de 12(R)-HETE)
CYP4F2	Metabolismo ácido araquidónico (síntesis de 20-HETE)
CYP4F3	Metabolismo de leucotrienos (LTB4)
CYP4F8	Metabolismo prostaglandinas (19R-hidroxilación)
CYP5	Metabolismo del ácido araquidónico (Tromboxano A2 sintetasa)
CYP7A	Biosíntesis de ácidos biliares (primer paso y limitante de la vía)
CYP7B	Síntesis neuroesteroides (cerebro)
CYP8A	Metabolismo del ácido araquidónico (Prostaciclina sintasa)
CYP8B	Biosíntesis de ácidos biliares (12- α hidroxilasa)
CYP11A1	Biosíntesis esteroides (conversión de colesterol a pregnenolona)
CYP11B1	Síntesis cortisol (11- β hidroxilación de 11-desoxicortisol)
CYP11B2	Síntesis de aldosterona (18-hidroxilación de costicosterona)
CYP17	Síntesis de testosterona y estrógenos (12- α hidroxilasa)
CYP19	Síntesis de estrógenos (actividad aromatas)
CYP20	Enzima específico de vertebrados (posible papel en el desarrollo)?
CYP21	Síntesis cortisol (C21 esteroides sintetasa)
CYP24	Degradación/inactivación de metabolitos de la vitamina D
CYP26A1	Metabolismo del ácido retinoico (trans hidroxilasa)
CYP26B1	Posible papel en el metabolismo del ácido retinoico?
CYP26C1	Posible papel en el metabolismo del ácido retinoico?
CYP27A1	Biosíntesis de ácidos biliares (esterol 27-hidroxilasa)
CYP27B1	Activación vitamina D3 (1- α hidroxilación del precursor)
CYP27C1	?
CYP39	Metabolismo del colesterol (24-hidroxicolesterol 7-hidroxilasa)
CYP46	Metabolismo del colesterol (colesterol 24-hidroxilasa)
CYP51	Síntesis de colesterol (lanosterol 14- α desmetilasa)

trastornos fisiológicos con distinto grado de severidad. A modo de ejemplo, se ha descrito que defectos en los genes que codifican los enzimas CYP11B1 o CYP21, ambos implicados en la biosíntesis de colesterol (Tabla 2), dan lugar a hiperplasia adrenal congénita, y alteraciones a nivel del gen del CYP11B2 producen hipoaldosteronismo congénito (99,100). En contraste, mutaciones similares en los P-450s de las familias 1 a 3 normalmente no

tienen consecuencias tan graves, aunque se vea afectada la biotransformación de xenobióticos, con posibles consecuencias farmacológicas y toxicológicas, y se afecte la susceptibilidad a determinadas enfermedades (18).

9. CITOCROMO P-450 Y TOXICIDAD

Como apuntábamos en la introducción de este capítulo, el objetivo final del P-450, y del resto de enzimas implicados en el metabolismo de xenobióticos, es transformar el sustrato en metabolitos más fácilmente excretables del organismo. Durante estas reacciones de biotransformación, el fármaco o el tóxico sufre cambios en su estructura química que, con frecuencia, no sólo lo convierten en una molécula más polar, sino que además lo inactivan y lo convierten en un metabolito sin actividad farmacológica e inocuo desde el punto de vista toxicológico. Así pues, se acelera su eliminación al tiempo que se produce un fenómeno de detoxificación. Durante un cierto tiempo se pensó que esta situación ideal tenía lugar siempre que se producía el metabolismo de un xenobiótico, por lo que a las reacciones de biotransformación también se les llamó reacciones de detoxificación. Posteriormente se comprobó que metabolización no es sinónimo de inactivación y, por desgracia, son numerosos los ejemplos de xenobióticos que se convierten en moléculas tóxicas tras su metabolización (101,102). Esta desafortunada circunstancia se produce cuando los metabolitos formados son especies reactivas que interaccionan con elementos o procesos celulares. Se forman radicales libres y otros metabolitos electrofílicos (epóxidos alifáticos o aromáticos, quinonaimidas) capaces de modificar covalentemente macromoléculas (proteínas, DNA) o de producir interacciones no covalentes (p. e. estrés oxidativo) (103). Los mecanismos de defensa celular tratarán de neutralizar el metabolito lo más rápidamente posible. Si la vida media de la especie reactiva es extremadamente corta sólo afectará al propio enzima que lo ha generado produciendo la inactivación del mismo (inhibidores conocidos como sustratos suicidas del P-450) (104). Si la vida del metabolito es un poco más larga podrá afectar a otras macromoléculas, pero será neutralizada antes de salir de la célula o del tejido donde se ha formado produciendo únicamente toxicidad local. Los metabolitos más estables pueden llegar a actuar sobre otros tejidos del organismo por lo que sus efectos tóxicos serán generalizados. En última instancia es el balance entre las reacciones de activación metabólica y los procesos de neutralización-eliminación (inactivación) el que determina la severidad y el alcance de la toxicidad. Este balance depende

¿QUÉ ES EL CITOCROMO P-450 Y CÓMO FUNCIONA?

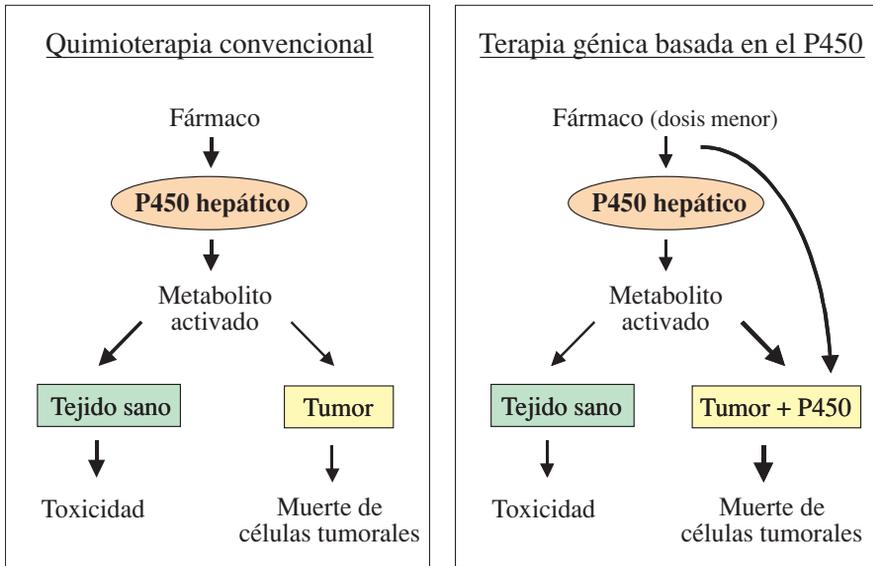


FIGURA 6. Estrategia de tratamiento del cáncer basada en la transducción selectiva de genes P-450 en células tumorales

de múltiples factores (polimorfismos genéticos, inducción, inhibición, factores dietéticos, interacciones entre fármacos, etc) y puede mostrar notables diferencias a nivel individual (39,103).

La bioactivación afecta tanto a fármacos como a otros xenobióticos. Entre los primeros el ejemplo mejor conocido es el del paracetamol. Este fármaco puede ser metabolizado por enzimas de fase 2 con formación de conjugados con glucurónido o con sulfato, los cuales son fácilmente eliminados, o puede ser oxidado por el P-450 (CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4) produciéndose una quinonaimina altamente reactiva capaz de interactuar con las proteínas celulares (105). Los procesos de activación también conducen a la conversión de procarcinógenos en carcinógenos (77). Estas reacciones están catalizadas por diferentes P-450, si bien los enzimas de la subfamilia CYP1A juegan un papel muy destacado por su capacidad de activar gran número de procarcinógenos procedentes de la combustión de diferentes hidrocarburos y que pueden acceder al organismo (principalmente por inhalación) (77).

El fenómeno de la bioactivación ha sido propuesto como una nueva estrategia para el tratamiento del cáncer (Figura 6). Esta terapia se basa

en el desarrollo de moléculas que adquieran actividad antitumoral tras ser metabolizadas por un determinado P-450 y, al mismo tiempo, lograr la inducción de dicho enzima en el tumor, pero no en células normales (106). Un vector adecuado permite la transducción selectiva en las células tumorales del gen P-450 responsable de la activación metabólica de la molécula (y también del gen del enzima citocromo P-450 reductasa). A continuación se administra el fármaco no tóxico, pero que es convertido en una molécula citotóxica por el P-450. Con esta estrategia terapéutica se consigue un aumento selectivo de la exposición de las células tumorales a la molécula activa generada de forma local, sin aumento significativo de la toxicidad sobre el resto del tejido.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Omura, T. & Sato, R. (1964) The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* **239**, 2370-2378.
- (2) Omura, T. (1999) Forty years of cytochrome P-450. *Biochem Biophys Res Commun* **266**, 690-698.
- (3) Okey, A.B. (1990) Enzyme induction in the cytochrome P-450 system. *Pharm Ther* **45**, 241-298.
- (4) Conney, A.H. (1986) Induction of microsomal cytochrome P-450 enzymes. *Life Sci* **39**, 2493-2518.
- (5) Ortiz de Montellano, P.R. & De Voss J.J. (2002) Oxidizing species in the mechanism of cytochrome P-450. *Nat Prod Rep* **19**, 477-493.
- (6) Werck-Reichhart, D. & Feyereisen R. (2001) Cytochromes P-450: a success story. *Gen Biol* **1**, 1-8.
- (7) Graham, S.E. & Peterson, J.A. (1999) How similar are P-450s and what can their differences teach us. *Arch Biochem Biophys* **369**, 24-29.
- (8) Gotoh, O. (1992) Substrate recognition sites in cytochrome P-450 family 2 (CYP2) protein from comparative analysis of amino acid and coding nucleotide sequences. *J Biol Chem* **267**, 83-90.
- (9) Williams, P.A., Cosme, J., Sridhar, Y., Johnson, E.F. & McRee, D.E. (2000) Mammalian microsomal cytochrome P-450 monooxygenase: structural adaptations for membrane binding and functional diversity. *Mol Cell* **5**, 121-131.
- (10) Chapple, C. (1998) Molecular-genetic analysis of plant cytochrome P-450-dependent monooxygenases. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**, 311-343.

- (11) Matsunaga, I., Ueda, A., Fujiwara, N., Sumimoto, T. & Ichihara, K. (1999) Characterization of the ybdT gene product of *Bacillus subtilis*: novel fatty acid beta-hydroxylating cytochrome P-450. *Lipids* **34**, 841-846.
- (12) Vergeres, G. & Waskell, L. (1995) Cytochrome b5, its functions, structure and membrane topology. *Biochimie* **77**, 604-620.
- (13) Honkakoski, P. & Negishi, M. (2000) Regulation of cytochrome P-450 (CYP) genes by nuclear receptors. *Biochem J* **347**, 321-37
- (14) Mansuy, D. (1998) The great diversity of reactions catalized by cytochrome P-450. *Comp Biochem Physiol Part C Pharmacol Toxicol Endocrinol* **121**, 5-14.
- (15) Schlichting, I., Berendzen, J., Chu, K., Stock, A.M., Mayes, S.A., Benson, D.E., Sweet, R.M., Ringe D., Petsko, G.A. & Sligar SG. (2000) The catalytic pathway of cytochrome P-450cam at atomic resolution. *Science* **287**, 1615-1622.
- (16) Nebert, D.W., Adesnik, M., Coon, M.J., Estabrook, R.W., Gonzalez, F.J., Guengerich, F.P., Gunsalus, J.C., Johnson, E.F., Kemper, B. Levin W, Philips, J.R., Sato, R. & Waterman, M.R. (1987) The P-450 gene superfamily: recommended nomenclature. *DNA* **6**, 1-11.
- (17) Nelson, D.R. (2003) Comparison of P-450s from human and fugu: 420 million years of vertebrate P-450 evolution. *Arch Biochem Biophys* **409**, 18-24.
- (18) Nelson, D.R. (1999) Cytochrome P-450 and the individuality of species. *Arch Biochem Biophys* **369**, 1-10.
- (19) Ding, X. & Kaminsky, L.S. (2003) Human extrahepatic cytochromes P-450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **43**, 149-173.
- (20) Shimada, T, Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y. & Guengerich, F.P. (1994) Inter-individual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 japanese and 30 caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* **270**, 4 14-423
- (21) Hakkola, J., Pasanen, M., Purkunen, R., Saarikoski, S., Pelkonen, O., Maenpaa, J., Rane, A. & Raunio H. (1994) Expression of xenobiotic-metabolizing cytochrome P-450 forms in human adult and fetal liver. *Biochem Pharmacol* **48**, 59-64.
- (22) Edwards, R.J., Adams, D.A., Watts, P.S., Davies, D.S. & Boobis, A.R. (1998) Development of a comprehensive panel of antibodies against the major xenobiotic-metabolising forms of cytochrome P-450 in humans. *Biochem Pharmacol* **56**, 377-387.
- (23) Clarke, S.E. (1998) In vitro assessment of human cytochrome P-450. *Xenobiotica* **28**, 1167-1202.
- (24) Ma, M.K., Woo, M.H. & McLeod, H.L. (2002) Genetic basis of drug metabolism. *Am J Health Syst Pharm* **59**, 206 1-2069.

- (25) Schmucker, D.L. (2001) Liver function and phase I drug metabolism in the elderly: a paradox. *Drugs Aging* **18**, 837-851.
- (26) Blanco, J.G., Harrison, P.L., Evans, W.E. & Relling, M.V. (2000) Human cytochrome P-450 maximal activities in pediatric versus adult liver. *Drug Metab Dispos* **28**, 379-382.
- (27) Gow, P.J., Ghabrial, H., Smallwood, R.A., Morgan, D.J. & Ching, M.S. (2001) Neonatal hepatic drug elimination. *Pharmacol Toxicol* **88**, 3-15.
- (28) Meibohm, B., Beierle, I. & Derendorf, H. (2002) How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet* **41**, 329-342.
- (29) Mugford, C.A. & Kedderis, G.L. (1998) Sex-dependent metabolism of xenobiotics. *Drug Metab Rev* **30**, 441-498.
- (30) Pelkonen, O. & Breimer, D.D. (1994) Role of environmental factors in the pharmacokinetics of drugs: considerations with respect to animal models, P-450 enzymes, and probe drugs. In: Welling PG, Balant LP editors. *Handbook of experimental pharmacology*, vol 110. Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 289-322
- (31) Kotlyar, M. & Carson, S.W. (1999) Effects of obesity on the cytochrome P-450 enzyme system. *Int J Clin Pharmacol* **37**, 8-19.
- (32) Walter-Sack, I. & Klotz, U. (1996) Influence of diet and nutritional status on drug metabolism. *Clin Pharmacokinet* **31**, 47-64.
- (33) Ioannides C. (1999) Effect of diet and nutrition on the expression of cytochromes P-450. *Xenobiotica* **29**, 109-154.
- (34) Gonzalez, F.J. (1992) Human cytochromes P-450: problems and prospects. *Trends Pharmacol Sci* **13**, 346-352.
- (35) Capdevila, J.H., Faick, J.R. & Harris, R.C. (2000) Cytochrome P-450 and arachidonic acid bioactivation. Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *J Lipid Res* **41**, 163-181.
- (36) Schmidt, J.V. & Bradfield CA. (1996) Ah receptor signaling pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol.* **12**, 55-89.
- (37) Gonzalez, F.J. & Fernandez-Salguero, P. (1998) The aryl hydrocarbon receptor: studies using the AHR-null mice. *Drug Metab Dispos* **26**, 1194-1198.
- (38) Shimada, T., Hayes, C.L., Yamazaki, H., Amin, S., Hecht, S.S., Guengerich, F.P. & Sutter, T.R. (1996) Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Res* **56**, 2979-2984.
- (39) Pelkonen, O. & Raunio, H. (1997) Metabolic activation of toxins: tissue-specific expression and metabolism in target organs. *Environ Health Perspect* **4**, 767-774.
- (40) Whitlock, J.P. (1999) Induction of cytochrome P-4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **39**, 103-125.

- (41) Vineis, P., Veglia, F., Benhamou, S., Butkiewicz, D., Cascorbi, I., Clapper, M.L., Dolza, V., Haugen, A., Hirvonen, A., Ingelman-Sundberg, M., Kihara, M., Kiyohara, C., Kremers, P., Le Marchand, L., Ohshima, S., Pastorelli, R., Rannug, A., Romkes, M., Schocket, B., Shields, P., Strange, R.C., Stucker, I., Sugimura, H., Garte, S., Gaspani, L. & Taioli, E. (2003) CYP 1A1 T3801 C polymorphism and lung cancer: A pooled analysis of 2,451 cases and 3,358 controls. *Int J Cancer* **104**, 650-657.
- (42) Kall, M.A. & Clausen, J. (1995) Dietary effect on mixed function P-450 1A2 activity assayed by estimation of caffeine metabolism in man. *Hum Exp Toxicol* **14**, 801-807.
- (43) Landi, M.T., Sinha, R., Lang, N.P. & Kadlubar, F.F. (1999) Human cytochrome P-4501A2. *IARC Sci Publ* **148**, 173-195.
- (44) Han, X.M., Ouyang, D.S., Chen, X.P., Shu, Y., Jiang, C.H., Tan, Z.R. & Zhou, H.H. (2002) Inducibility of CYP1A2 by omeprazole in vivo related to the genetic polymorphism of CYP1A2. *Br J Clin Pharmacol* **54**, 540-543.
- (45) Nakajima, M., Yokoi, T., Mizutani, M., Kinoshita, M., Funayama, M. & Kamataki, T. (1999) Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem (Tokyo)* **125**, 803-808.
- (46) Nyeki, A., Buclin, T., Biollaz, J. & Decosterd, L.A. (2003) NAT2 and CYP1A2 phenotyping with caffeine: head-to-head comparison of AFM1J vs. AAMU in the urine metabolite ratios. *Br J Clin Pharmacol* **55**, 62-67.
- (47) Smith, D.A., Ackland, M. & Jones, B.C. (1997) Properties of cytochrome P-450 isoenzymes and their substrates. Part 2: properties of cytochrome P-450 substrates. *Drug Discov Today* **2**, 479-486.
- (48) Cheung, Y.L., Kerr, A.C., McFadyen, M.C., Melvin, W.T. & Murray G.I. (1999) Differential expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 in human kidney tumours. *Cancer Lett* **139**, 199-205.
- (49) Stoilov, I., Akarsu, A.N. & Sarfarazi, M. (1997) Identification of three different truncating mutations in cytochrome P4501B1(CYP1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A locus on chromosome 2p21. *Hum Mol Genet* **6**, 641-647.
- (50) Murray, G.I., Taylor, M.C., McFadyen, M.C., McKay, J.A., Greenlee, W.F., Burke, M.D. & Melvin, W.T. (1997) Tumor-specific expression of cytochrome P-450 CYP1B1. *Cancer Res* **57**, 3026-3031.
- (51) Sotaniemi, E.A., Rautio, A., Backstrom, M., Arvela, P. & Pelkonen, O. (1995) CYP3A4 and CYP2A6 activities marked by the metabolism of lignocaine and coumarin in patients with liver and kidney diseases and epileptic patients. *Br J Clin Pharmacol* **39**, 71-6.

- (52) Kamataki, T., Fujita, K., Nakayama, K., Yamazaki, Y., Miyamoto, M. & Ariyoshi, N. (2002) Role of human cytochrome P-450 (CYP) in the metabolic activation of nitrosamine derivatives: application of genetically engineered *Salmonella* expressing human CYP. *Drug Metab Rev* **34**, 67-76.
- (53) Kitagawa, K., Kunugita, N., Katoh, T., Yang, M. & Kawamoto, T. (1999) The significance of the homozygous CYP2A6 deletion on nicotine metabolism: a new genotyping method of CYP2A6 using a single PCR-RFLP. *Biochem Biophys Res Commun* **262**, 146-151.
- (54) Pelkonen, O., Rautio, A., Raunio, H. & Pasanen, M. (2000) CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology* **144**, 139-147.
- (55) Oscarson, M., Gulisten, H., Rautio, A., Bernal, M.L., Sinues, B., Dahi, M.L., Stengard, J.H., Pelkonen, O., Raunio, H. & Ingelman-Sundberg, M. (1998) Genotyping of human cytochrome P-450 2A6 (CYP2A6), a nicotine C-oxidase. *FEBS Lett.* **438**, 201-205.
- (56) Miyamoto, M., Umetsu, Y., Dosaka-Akita, H., Sawamura, Y., Yokota, J., Kunitoh, H., Nemoto, N., Sato, K., Ariyoshi, N. & Kamataki, T. (1999) CYP2A6 gene deletion reduces susceptibility to lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun* **261**, 658-660.
- (57) Gu, J., Su, T., Chen, Y., Zhang, Q.Y. & Ding, X. (2000) Expression of biotransformation enzymes in human fetal olfactory mucosa: potential roles in developmental toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* **165**, 158-162.
- (58) Mimura, M., Baba, T., Yamazaki, H., Ohmori, S., Inui, Y., Gonzalez, F.J., Guengerich, F.P. & Shimada, T. (1993) Characterization of cytochrome P-450 2B6 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* **21**, 1048-1056.
- (59) Sueyoshi, T., Kawamoto, T., Zelko, I., Honkakoski, P. & Negishi, M. (1999) The repressed nuclear receptor CAR responds to phenobarbital in activating the human CYP2B6 gene. *J Biol Chem* **274**, 6043-6046.
- (60) Pascussi, J.M., Gerbal-Chaloin, S., Fabre, J.M., Maurel, P. & Vilarem, M.J. (2000) Dexamethasone enhances constitutive androstane receptor expression in human hepatocytes: consequences on cytochrome P-450 gene regulation. *Mol Pharmacol* **58**, 1441-1450.
- (61) Bathelt, C., Schmid, R.D. & Pleiss, J. (2002) Regioselectivity of CYP2B6: homology modeling, molecular dynamics simulation, docking. *J Mol Model (Online)* **8**, 327-335.
- (62) Spatzenegger, M., Liu, H., Wang, Q., Debarber, A., Koop, DR. & Halpert, J.R. (2003) Analysis of differential substrate selectivities of CYP2B6 and CYP2E1 by site-directed mutagenesis and molecular modeling. *J Pharmacol Exp Ther* **304**, 477-487.

- (63) Goldstein, J.A. (2001) Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* **52**, 349-355.
- (64) Anzenbacher, P. & Anzenbacherova, E. (2001) Cytochromes P-450 and metabolism of xenobiotics. *Cell Mol Life Sci* **58**, 737-747.
- (65) Ingelman-Sundberg, M., Oscarson, M. & McLellan, R.A. (1999) Polymorphic human cytochrome P-450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* **20**, 342-349.
- (66) Inoue, K., Yamazaki, H. & Shimada, T. (1998) Linkage between the distribution of mutations in the CYP2C18 and CYP2C19 genes in the Japanese and Caucasian. *Xenobiotica* **28**, 403-411.
- (67) Desta, Z., Zhao, X., Shin, J.G. & Flockhart, D.A. (2002) Clinical significance of the cytochrome P-450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* **41**, 913-958.
- (68) Marill, J., Cresteil, T., Lanotte, M. & Chabot, G.G. (2000) Identification of human cytochrome P-450s involved in the formation of all-trans-retinoic acid principal metabolites. *Mol Pharmacol* **58**, 1341-1348.
- (69) Soyama, A., Hanioka, N., Saito, Y., Murayama, N., Ando, M., Ozawa, S. & Sawada, J. (2002) Amiodarone N-deethylation by CYP2C8 and its variants, CYP2C8*3 and CYP2C8 P404A. *Pharmacol Toxicol* **91**, 174-178.
- (70) Klose, T.S., Blaisdeli, J.A. & Goldstein, J.A. (1999) Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs. *J Biochem Mol Toxicol* **13**, 289-295.
- (71) Minoletti, C., Dijols, S., Dansette, P.M. & Mansuy, D. (1999) Comparison of the substrate specificities of human liver cytochrome P-450s 2C9 and 2C18: application to the design of a specific substrate of CYP 2C18. *Biochemistry* **38**, 7828-7836.
- (72) Bertilsson, L., Dahi, M.L., Dalen, P. & Al-Shurbaji, A. (2002) Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* **53**, 111-122.
- (73) Scordo, M.G. & Spina, E. (2002) Cytochrome P-450 polymorphisms and response to antipsychotic therapy. *Pharmacogenomics* **3**, 201-218.
- (74) Foltynie, T., Sawcer, S., Brayne, C. & Barker, R.A. (2002) The genetic basis of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **73**, 363-370.
- (75) Silvestri, L., Sonzogni, L., De Silvestri, A., Gritti, C., Foti, L., Zavaglia, C., Leven, M., Cividini, A., Mondelli, M.U., Civardi, E. & Silini, E.M. (2003) CYP enzyme polymorphisms and susceptibility to HCV-related chronic liver disease and liver cancer. *Int J Cancer* **104**, 310-317.
- (76) Smith, D.A., Abel, S.M., Hyland, R. & Jones, B.C. (1998) Human cytochrome P-450s: selectivity and measurement in vivo. *Xenobiotica* **12**, 1095-1128.

- (77) Sheweita, S.A. (2000) Drug-metabolizing enzymes: mechanisms and functions. *Curr Drug Metab* **1**, 107-132.
- (78) Tanaka, E., Terada, M. & Misawa, S. (2000) Cytochrome P-450 2E1: its clinical and toxicological role. *J Clin Pharm Ther* **25**, 165-175.
- (79) Hu, Y., Ingelman-Sundberg, M. & Lindros, K.O. (1995) Induction mechanisms of cytochrome P-450 2E1 in liver: interplay between ethanol treatment and starvation. *Biochem Pharmacol* **50**, 155-161.
- (80) Wang, Z., Hall, S.D., Maya, J.F., Li, L., Asghar, A. & Gorski, J.C. (2003) Diabetes mellitus increases the in vivo activity of cytochrome P-450 2E1 in humans. *Br J Clin Pharmacol* **55**, 77-85.
- (81) Lanza, D.L., Code, E., Crespi, C.L., Gonzalez, F.J. & Yost, G.S. (1999) Specific dehydrogenation of 3-methylindole and epoxidation of naphthalene by recombinant human CYP2F1 expressed in lymphoblastoid cells. *Drug Metab Dispos* **27**, 798-803.
- (82) Thummel, K.E. & Wilkinson, G.R. (1998) In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **38**, 389-430.
- (83) Parkinson, A. (1996) An overview of current cytochrome P-450 technology for assessing the safety and efficacy of new materials. *Toxicol Pathol* **24**, 48-57.
- (84) Ohno, M., Yamaguchi, I., Ito, T., Saiki K., Yamamoto, I. & Azuma, J. (2000) Circadian variation of the urinary 6beta-hydroxycortisol to cortisol ratio that would reflect hepatic CYP3A activity. *Eur J Clin Pharmacol* **55**, 861-865.
- (85) Thompson, P.D., Jurutka, P.W., Whitfield, G.K., Myskowski, S.M., Eichhorst, K.R., Dominguez, C.E., Haussler, C.A. & Haussler, M.R. (2002) Liganded VDR induces CYP3A4 in small intestinal and colon cancer cells via DR3 and ER6 vitamin D responsive elements. *Biochem Biophys Res Commun* **299**, 730-738.
- (86) Lamba, J.K., Lin, Y.S, Schuetz, E.G. & Thummel, K.E. (2002) Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism *Adv Drug Deliv Rev* **54**, 1271-1294.
- (87) Hakkola, J., Raunio, H., Purkunen, R., Saarikoski, S., Vahakangas, K., Pelkonen, O., Edwards, R.J., Boobis, A.R. & Pasanen, M. (2001) Cytochrome P-450 3A expression in the human fetal liver: evidence that CYP3A5 is expressed in only a limited number of fetal livers. *Biol Neonate* **80**, 193-201.
- (88) Burk, O., Tegude, H., Koch, I., Hustert, E., Wolbold, R., Glaeser, H., Klein, K., Fromm, M.F., Nuessler, A.K., Neuhaus, P., Zanger, U.M., Eichelbaum, M. & Wojonowski, L. (2002) Molecular mechanisms of polymorphic CYP3A7 expression in adult human liver and intestine. *J Biol Chem* **277**, 24280-24288.
- (89) Hukkanen, J., Vaisanen, T., Lassila, A., Piipari, R., Anttila, S., Pelkonen, O., Raunio, H. & Hakkola, J. (2003) Regulation of CYP3A5 by glucocorticoids and cigarette smoke in human lung-derived cells. *J Pharmacol Exp Ther* **304**, 745-752.

¿QUÉ ES EL CITOCROMO P-450 Y CÓMO FUNCIONA?

- (90) Krusekopf, S., Roots, I. & Kleeberg, U. (2003) Differential drug-induced mRNA expression of human CYP3A4 compared to CYP3A5, CYP3A7 and CYP3A43. *Eur J Pharmacol* **466**, 7-12.
- (91) Bertz, R.J. & Granneman, G.R. (1997) Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinetics* **32**, 210-258.
- (92) Guengerich, F.P. (1999) Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **39**, 1-17.
- (93) Finch, C.K., Chrisman, C.R., Baciewicz, A.M., & Self, T.H. (2002) Rifampin and rifabutin drug interactions: an update. *Arch Intern Med* **162**, 985-992.
- (94) Desta, Z., Soukhova, N., Mahal, S.K. & Flockhart, D.A. (2000) Interaction of cisapride with the human cytochrome P-450 system: metabolism and inhibition studies. *Drug Metab Dispos* **28**, 789-800.
- (95) Shader, R.I. & Oesterheld, J.R. (2000) Contraceptive effectiveness: cytochromes and induction. *J Clin Psychopharmacol* **20**, 119-121.
- (96) Eiselt, R., Domanski, T.L., Zibat, A., Mueller, R., Presecan-Siedel, E., Hustert E., Zanger, U.M., Brockmoller, J., Klenk, H.P., Meyer, U.A., Khan, K.K., He, Y.A., Halpert, J.R. & Vojnowski, L. (2001) Identification and functional characterization of eight CYP3A4 proteinvariants. *Pharmacogenetics* **11**, 447-458.
- (97) Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz J., Watkins, P.B., Daly, A., Wrighton, S.A., Hall, S.D., Maurel, P., Relling, M., Brimer, C., Yasuda, K., Venkataramanan, R., Strom, S., Thummel, K., Boguski, M.S. & Schuetz, E. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* **27**, 383-391.
- (98) Simpson, A.E. (1997) The cytochrome P-450 (CYP4) family. *Gen Pharmacol* **28**, 351-359.
- (99) Peter, M., Dubuis, J.M. & Sippell, W.G. (1999) Disorders of the aldosterone synthase and steroid 11-beta-hydroxylase deficiencies. *Horm Res* **51**, 211-222
- (100) Dacou-Voutetakis, C., Maniati-Christidi, M. & Dracopoulou-Vabouli, M. (2001) Genetic aspects of congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Endocrinol Metab* **5**, 1303-1308.
- (101) Welch, R.M. (1979) Toxicological implications of drug metabolism. *Pharmacol Rev* **30**, 457-467.
- (102) Gelboin, H.V. (1980) Benzo(a)pyrene metabolism, activation, and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiol Rev* **60**, 1107-1166.

- (103) Gonzalez, F.J. (1998) The study of xenobiotic-metabolizing enzymes and their role in toxicity in vivo using targeted gene disruption. *Toxicol Lett* **102-103**, 161-166.
- (104) Kent, U.M., Juschyshyn, M.I. & Hollenberg, P.F. (2001) Mechanism-based inactivators as probes of cytochrome P-450 structure and function. *Curr Drug Metab* **2**, 215-243.
- (105) Manyike, P.T., Kharasch, E.D., Kalthorn, T.F. & Slattery, J.T. (2000) Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. *Clin Pharmacol Ther* **67**, 275-282.
- (106) Waxman, D.J, Chen, L., Hecht, J.E. & Jounaidi, Y. (1999) Cytochrome P-450-based cancer gene therapy: recent advances and future prospects. *Drug Metab Rev* **31**, 503-522.