



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**“IDENTIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDOS
ÚNICOS EN EL EXÓN 8 DEL GEN *CYP2D6* EN POBLADORES ÉTNICOS
DE LA COMUNIDAD DE TEMPESTAD, LORETO”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:
CHRISTIAN VELA LUNA**

**Asesora
Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.**

**IQUITOS, PERÚ
2020**

"Año de la Universalización de la Salud"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N°058-PCGT-FFyB-UNAP-2020/OFICIO N°066-2020-DIVN-UNAP

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 13 días del mes de octubre de 2020, a horas **19:40** se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulado "IDENTIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDOS ÚNICOS EN EL EXÓN 8 DEL GEN CYP2D6 EN POBLADORES ÉTNICOS DE LA COMUNIDAD DE TEMPESTAD, LORETO", aprobado con Resolución Decanal N°201-2020-FFyB-UNAP, presentado por el Bachiller: **CHRISTIAN VELA LUNA**, para optar el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a) que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°093-FFyB-UNAP-2020 está integrada por:

Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, PhD.	Presidente
Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr.	Miembro
M.C. CHARLES OCAMPO FALCON.	Miembro

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: **ADECUADAMENTE**.....

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis han sido **APROBADA**..... con la calificación **DE MUY BUENA**

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a).

Siendo las **21:20** se dio por terminado el acto **ACADÉMICO**.....


Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, PhD.
Presidente


Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr
Miembro


M.C. CHARLES OCAMPO FALCON
Miembro


Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
Asesora

MIEMBROS DEL JURADO

Tesis aprobada en la Sustentación Virtual – Servidor ZOOM, el 13 de octubre del 2020 por los jurados nombrados por la Dirección de la Facultad de Farmacia y Bioquímica para optar el Título de:

Químico Farmacéutico

Q.F. Rosa del Carmen Miluska Vargas Rodríguez, PhD.
Presidente

Q.F. Brenda Soraya Urday Ruiz, Mgr
Miembro

M.C. Charles Ocampo Falcon
Miembro

AUTORIZACION DE LOS ASESOR

El Químico Farmacéutico, Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra., docente asociada adscrito a la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

INFORMAN:

Que el bachiller **CHRISTIAN VELA LUNA** ha realizado bajo mi dirección, el trabajo contenido de la tesis intitulada: “**IDENTIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDOS ÚNICOS EN EL EXÓN 8 DEL GEN CYP2D6 EN POBLADORES ÉTNICOS DE LA COMUNIDAD DE TEMPESTAD, LORETO**”, y considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentado, ante el jurado calificador, a tal efecto damos pase para su sustentación y posterior obtención del Título Profesional.

AUTORIZO: A el citado bachiller a presentar el trabajo Final de carrera, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula el Reglamento de Grados y Títulos en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.



Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.
Asesora

DEDICATORIA

Este trabajo no hubiese sido posible de hacer sin la entrega y dedicación de mis padres. Gracias por buscar mi superación para ti papa **Juan** y mi querida madre **Effy**.

Para mis hermanas **Karyn y Yadhira** con quienes comparto mis aspiraciones y desvelos, deseando que ellas también se superen.

Para mis abuelos (a) **Aníbal, Casilda, Victoria y Julián** que desde el cielo me guían.

Para mis tíos (a) y primos (a) por ser parte de mis sueños, compartir mis aspiraciones.

Para ti **KEDAZAAR** por compartir mis sueños, anhelos y por siempre creer en mí.

Para a todas aquellas personas que de una u otra forma creyeron en mi superación.

Q.F. Frida Sosa y Q.F. Cinthia Isuiza a ustedes por la confianza y las enseñanzas brindadas.

Christian Vela

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Juan y Effy, con quienes compartí desvelos, preocupaciones y alegrías en el camino a alcanzar parte de mis sueños para ser mejor hombre del mañana.

Un profundo agradecimiento a mis profesores de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, quienes más que impartir conocimientos nos brindaron su experiencia profesional y de vida, espero no defraudarlos.

Un especial agradecimiento a mi asesora Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.; por guiarme y orientarme en este largo recorrido, por ayudarme a perseverar siempre.

Al Blgo. Hicler Napoleón Rodríguez Mashacuri y a la Bach. Lindsay Prado Torres, por sus aportes de conocimientos y apoyo tecnológico en el desarrollo de la presente investigación.

A Mix Meza Grefa quien hizo posible contar con el material biológico de estudio al colaborar junto con los miembros de la comunidad de “Tempestad, Loreto” en la investigación.

Christian Vela

ÍNDICE GENERAL

Pág.		
	PORTADA.....	i
	ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	ii
	JURADOS.....	iii
	ASESORES.....	iv
	DEDICATORIA.....	v
	AGRADECIMIENTOS.....	vi
	ÍNDICE GENERAL.....	vii
	ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
	ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
	RESUMEN.....	xi
	ABSTRACT.....	xii
	INTRODUCCIÓN.....	1
	CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	2
	1.1 Antecedentes.....	2
	1.2 Bases teóricas.....	6
	1.3 Definición de termino básicos.....	18
	CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	23
	2.1. Formulación de hipótesis.....	23
	2.2 Variables y su operacionalización.....	23
	CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	24
	3.1 Tipo y Diseño.....	24
	3.2 Diseño muestral.....	24
	3.3 Procedimientos de recolección de datos.....	24
	3.4 Procesamiento y Análisis de los datos.....	25

3.5 Aspectos éticos.....	25
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	26
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	32
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....	35
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES.....	36
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN.....	37
ANEXOS.....	41
1. Operacionalización de variables.....	41
2. Consentimiento informado.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Resumen de reportes de publicaciones revisadas de la proteína CYP2D6.....	16
Tabla 02. Participantes de la comunidad nativa quichua “Tempestad” al estudio por sexo y edad.....	27
Tabla 03. Resumen de mutaciones puntuales presentes en las muestras CYP2D6 exón 8.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Variantes del Exón 8 – SNP del <i>Cyp2D6</i>	11
Figura 02. Actividad debrisoquina 4-hidroxilasa.....	18
Figura 03. Imagen cualitativa del ADN extraído a partir de muestras sanguíneas impregnadas en papel filtro.....	27
Figura 04. Imagen de la electroforesis del PCR.....	27
Figura 05. Imagen de la electroforesis del PCR.....	28
Figura 06. Mutaciones puntuales - SNP encontrados en el exón 8 del gen CYP2D6.....	28

“IDENTIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDOS ÚNICOS EN EL EXÓN 8 DEL GEN *CYP2D6*, EN POBLADORES ÉTNICOS DE LA COMUNIDAD DE TEMPESTAD, LORETO”

RESUMEN

Objetivo: Determinar los polimorfismos de nucleótidos únicos en el exón 8 del gen *CYP2D6*, en pobladores étnicos de la Comunidad de Tempestad, Loreto.

Metodología: El estudio fue de tipo descriptivo y de diseño transversal, la población correspondió a la etnia quichua, con una muestra de 32 individuos adultos, quienes previamente aceptaron voluntariamente participar en el estudio, firmando un consentimiento informado; la muestra de sangre periférica aproximadamente 0,8 mL fue soportada en papel de filtro. Se analizó el ADN cromosómico aislado por el método de QIAGEN, el cual se amplificó en la región del exón 8 del *CYP2D6* identificándose las mutaciones puntuales - SNP. **Resultados:** Alelo original; **(G/C)** significa: alelo original **G** que cambio por **C** y se identificó en un 64% (16) de los haplotipos estudiados y alelo original; **(C/G)** significa: alelo original **C** que cambio por **G** y se identificó en un 24% (6) de los haplotipos estudiados y 12% (3) que no presentan polimorfismos. **Conclusiones:** Es importante resaltar que el SNP (G/C) no muestra polimorfismo genético interindividual en la población estudiada, mientras que el SNP (C/G) si representa un polimorfismo genético, sin embargo, por sí mismos no determinan la variabilidad de detoxificación del organismo, por el simple hecho que estas mutaciones puntuales debe primero probarse si afecta la secuencia de aminoácidos en la expresión genética de la proteína *CYP2D6*.

Palabras clave: Polimorfismo, *CYP2D6*, exón 8, gen, nucleótidos.

**“IDENTIFICATION OF THE UNIQUE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN
EXON 8 OF THE CYP2D6 GENE, IN ETHNIC PEOPLE OF THE
TEMPESTAD COMMUNITY, LORETO”**

ABSTRACT

Objective: To determine the single nucleotide polymorphisms in exon 8 of the CYP2D6 gene, in ethnic inhabitants of the Community of Tempestad, Loreto.

Methodology: The study was descriptive and cross-sectional in design, the population corresponded to the Quichua ethnic group, with a sample of 32 adult individuals, who previously voluntarily agreed to participate in the study, signing an informed consent; the peripheral blood sample approximately 0.8 mL was supported on filter paper. The isolated chromosomal DNA was analyzed by the QIAGEN method, which was amplified in the region of exon 8 of CYP2D6, identifying the point mutations - SNP. **Results:** Original allele, (G / C) means: original allele G that changed to C and was identified in 64% (16) of the haplotypes studied and original allele; (C / G) means: original allele C that changed to G and was identified in 24% (6) of the haplotypes studied and 12% (3) that did not present polymorphisms. **Conclusions:** It is important to highlight that the SNP (G / C) does not show interindividual genetic polymorphism in the population studied, while the SNP (C / G) does represent a genetic polymorphism, however, by themselves they do not determine the detoxification variability of the organism, for the simple fact that these point mutations must first be tested if it affects the amino acid sequence in the genetic expression of the CYP2D6 protein.

Keywords: Polymorphism, CYP2D6, exon, gene, nucleotides.

INTRODUCCIÓN

El CYP2D6 es un gen muy polimórfico y de gran utilidad en diagnósticos moleculares para predecir probables patologías, diferenciar patologías ⁽¹⁾, iniciar quimioterapia ⁽²⁾, hacer seguimiento farmacoterapéutico ⁽³⁾, conocer el tipo de metabolizador ⁽⁴⁾, entre otras aplicaciones en clínica, farmacología y toxicología. Se han reportado más de 80 variables alélicas para el gen *CYP2D6* y la enzima que codifica es la segunda en importancia después del CYP3A4 en el metabolismo de fármacos. Este gen *CYP2D6* codifica la debrisoquina-4-hidroxilasa que cataliza más del 65% de fármacos empleados habitualmente, entre antidepresivos tricíclicos, neurolépticos, inhibidores selectivos de la receptación de serotonina, antiarrítmicos, betabloqueadores, opiáceos y otros ⁽¹⁾.

La debrisoquina-4-hidroxilasa enzima constitutiva de gran actividad sobre sustratos endógenos y exógenos de diferente tipo estructural ^(5, 6, 7), gracias a la adaptabilidad del sitio activo del citocromo que muestra un estado abierto y cerrado ⁽⁸⁾; los sustratos de estas enzimas son moléculas de diversos tamaños, de tipo aromático y alifático, de geometría planar o globular con o sin heteroátomos. Actúa sobre biomoléculas importantes de características lipídica como son mediadores hormonales, colesterol y derivados, feromonas, aminas biogénicas, leucotrienos, vitaminas liposolubles y ácidos grasos. Por ejemplo, tiene una participación muy conocida en la hidroxilación de la progesterona, que es reducida y luego en presencia de O₂ es reoxidada y uno de los oxígenos es transferido al sustrato para ser hidroxilado ⁽⁸⁾.

En farmacología su importancia radica en su intervención en reacciones de fase I, de aproximadamente el 25% de fármacos lipofílicos con un anillo aromático, un carácter básico por el átomo de nitrógeno protonable a pH fisiológico y con un potencial electrostático molecular negativo ⁽⁸⁾. La función de esta enzima es relevante en usuarios con patologías cardiovascular, psiquiátrica, antimalárica y de algunos otros usuarios de xenobióticos de tipo alcaloidal ^(2, 3, 4, 5) que incluso puedan ser tóxicos de abuso o ambientales,

cosméticos, plaguicidas entre otros compuestos sintéticos de uso humano ^(8, 9).

Este gen presenta 8 intrones y 9 exones ⁽¹⁰⁾ de los cuales ya se han dilucidado el exón 2 y 9 en la población propuesta para el estudio. Los polimorfismos en el gen *CYP2D6* afectan la actividad de esta hemoproteína y permite clasificar a los individuos en los 4 fenotipos metabolizadores, que de conocerse llevarían a disminuir las reacciones adversas, falla terapéutica e interacciones farmacológicas ⁽⁴⁾. En clínica la farmacogenética contribuye con pautas de tratamiento como por ejemplo para orientar la terapéutica y disminuir los episodios desagradables ocasionados por las dramáticas quimioterapias ^(2, 10), ya que en la actualidad se cuenta con listas de medicamentos, que incluyen información sobre *CYP2D6* en la etiqueta del medicamento y que ayudan a mejorar la prescripción ⁽⁸⁾. Esto es de gran ayuda para corregir dosis que conlleva al paciente a un elevado riesgo de desarrollar reacciones adversas y toxicidad ^(10, 11, 12, 13).

Los reportes del polimorfismo del *CYP2D6* de poblaciones peruanas son muy escasos y se desconoce si hay variación interétnica en la región Loreto; el gen en su conjunto no ha sido estudiado, solo de algunos exones (7 y 9) se han reportado frecuencia de mutaciones del exón 2 del gen *CYP2D6* los alelos *CYP2D6*48* y *CYP2D6*10*, *CYP2D6*17* ^(10, 12).

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Flores-Angulo *et al.* (2017), en su artículo “La variación genética del Gen CYP2D6 en la población bosnia”, en su artículo “Variantes alélicas de CYP2D6: *4, *6 Y *10 en una muestra de residentes del estado Aragua, Venezuela”; predijeron el fenotipo metabolizador en una muestra de 145 individuos no consanguíneos, aparentemente sanos, residentes del estado Aragua, Venezuela. Determinaron los fenotipos mediante ensayos de reacción en cadena de la polimerasa seguidos de digestión con endonucleasas de restricción. Realizaron la predicción del fenotipo metabolizador con base del sistema Activity score a frecuencias de CYP2D6 *4, *6 y *10 fueron de 14,5%, 0,3% y 1%, respectivamente; un porcentaje significativo de individuos fueron categorizados como metabolizador rápido heterocigoto/metabolizador intermedio (23,5%) y metabolizador lento (4,1%)⁽¹⁾.

Roblejo H. (2016), en su artículo “Polimorfismos del gen CYP2D6 y su relación con la esquizofrenia”; mostraron el estado del conocimiento acerca de la relación entre los polimorfismos del gen CYP2D6 y la esquizofrenia. Para esta revisión se llevó a cabo una búsqueda de artículos publicados en Pubmed/MEDLINE, que relacionaron la frecuencia de los genotipos CYP2D6 con la esquizofrenia y con el riesgo de reacciones adversas por el consumo de neurolépticos. Se utilizaron los artículos con texto completo e información novedosa sobre el tema. Los individuos metabolizadores lentos tienen un riesgo incrementado de desarrollar reacciones adversas por el consumo de neurolépticos. Por otra parte, aunque los resultados que relacionan los genotipos metabolizadores lentos con el riesgo de esquizofrenia no coinciden en todos los casos, en algunas investigaciones se ha identificado como un factor protector para el desarrollo de esta enfermedad. El estudio de polimorfismos del gen CYP2D6 contribuyó a una terapia individualizada en el tratamiento de la esquizofrenia⁽¹⁰⁾.

Geadigk *et al.* (2015), en su artículo “Determinación del haplotipo CYP2D6 utilizando amplificación de alelo específico de largo alcance resolución de un genotipo complejo y un discordante genotipo que implica el alelo CYP2D6 * 59”; desarrollaron PCR de largo alcance específica de alelo (ASXL-PCR) para amplificar solo el alelo de interés para su posterior caracterización por PCR. En el estudio de tipo experimental utilizaron polimorfismos de un solo nucleótido en la región cadena arriba de CYP2D6 y un cebador inverso universal específico de CYP2D6. La técnica la evaluaron y optimizaron en muestras con genotipos conocidos. Demostraron que el polimorfismo del nucleótido único 2939G> A presente en CYP2D6 * 59 interfirió con el ensayo de genotipo TaqMan que detectó 2850C> T, causando falsa asignaciones de genotipos ⁽¹²⁾.

Sarmiento A. (2015), en su artículo “Farmacogenética del CYP2D6 en la población colombiana”; analizaron la variabilidad de los polimorfismos genéticos del CYP2D6 en población colombiana general y comparo las frecuencias con poblaciones Iberoamericanas. Observaron diferencias en las frecuencias de los alelos CYP2D6*3, *5 *6 y *17, así como en todos los alelos multiplicados entre la población colombiana estudiada y la estudiada previamente. Además, observaron por primera vez los alelos CYP2D6*10, *35 y *41 en una población colombiana ⁽²⁾.

Ho Y. (2014), en su tesis “Presencia de Mutaciones en la Región Exónica 7 del gen CYP2D6 en Poblaciones y su Posible Aplicacion en la Salud Pública”; determinaron los polimorfismos de exón 7 del gen *CYP2D6*. La muestra tuvo a 46 individuos peruanos, procedentes de Andoas-Loreto, Chachapoyas- Amazonas, Abancay-Apurímac, Uros-Puno, San José-Lambayeque, y Lima-Lima, previo consentimiento informado, recolectaron muestras sanguíneas y de hisopado bucal. La extracción del ADN fue realizada por técnica convencional, amplificación por PCR del exón 7 del gen *CYP2D6* y el análisis de secuenciamiento genético con herramientas de bioinformática de acceso libre en Internet. Encontraron la presencia de los siguientes polimorfismos: rs199980688, rs141824015, rs72549347, rs267608295, rs267608293 y rs61745683 y se descubrieron 3 nuevos polimorfismos los que calificaron como nuevo 1, nuevo 2, y nuevo 3. Y reportaron un solo probable haplotipo conocido *56 ⁽¹³⁾.

Asimismo, se descubrieron 5 nuevos haplotipos lo cual fueron nombrados como desconocido1, desconocido 2, desconocido 3, desconocido 4 y desconocido 5 ⁽¹³⁾.

Roblejo *et al.* (2014), en su artículo “Frecuencia de la variante alélica CYP2D6*6 en una muestra de la población cubana” analizaron 183 muestras del banco de ADN del Centro Nacional de Genética Médica, que incluían individuos no relacionados de todo el país. Estandarizaron, en el laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica, un PCR múltiple para la identificación del alelo. La frecuencia alélica resultó igual a 0,008, resultado que no mostró diferencias significativas con la mayoría de las poblaciones con las que se comparó. En conclusión, la distribución de las frecuencias genotípicas observadas, se correspondieron con las esperadas según la Ley de Hardy- Weinberg ⁽¹⁴⁾.

Garay J. (2012), en su tesis “Variantes Polimórficas del Citocromo P450 2D6 y su Influencia sobre su Actividad Catalítica Debrisoquina 4-Hidroxilasa *in vivo*”; analizaron a través de PCR-AS semianidada, PCR RFLP y PCRL las variables CYP2D6*2, CYP2D6*3, CYP2D6*4 y la duplicación del gen CYP2D6 en 321 voluntarios sanos. Se recolectaron las muestras de orina de 0-8 horas y se analizaron a través de HPLC, para determinar con exactitud la influencia de los polimorfismos del gen CYP2D6 en su actividad debrisoquina hidroxilasa, se seleccionaron 23 voluntarios del grupo en estudio que presentaban genotipos relevantes, los cuales debieron ingerir el marcador metabólico debrisoquina. Las frecuencias alélicas encontradas son muy similares a las registradas para la población española: para *2 un 40,5%, para *3 un 1,09%, para *4 un 11,8%. No se encontraron duplicaciones del gen CYP2D6 en un subgrupo de 20 voluntarios analizados. Presentaron el fenotipo esperado 18 voluntarios, de los cuales el más relevante es el genotipo *4/*4 que presentó una actividad catalítica muy disminuida en comparación al grupo *wt/wt*. Obtuvieron una correlación genotipo-fenotipo para algunos voluntarios logrando el objetivo fundamental que busca un estudio farmacogenético, es decir, la determinación de la respuesta individual ⁽¹⁵⁾.

Alanis-Bañuelos *et al.* (2007), en su artículo “Polimorfismo del CYP26 en Menonitas Mexicanos de Origen Caucásico del Estado de Durango”; identificaron las frecuencias de los alelos CYP2D6*4, *6 y *10 en 21 individuos menonitas mexicanos que fueron genotipificados mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y RFLP (fragmentos de restricción de longitud polimórfica). Las frecuencias de los alelos *4 y *10 fueron de 0,21 y 0,05 respectivamente. Después del genotipo *1/*1 (0,57), el más frecuente fue el *1/*4 (0,33), el genotipo *4/*4 solo se identificó en una persona al igual que el *10/*10 (0,05). Entre las variantes alélicas estudiadas la más común fue la *4 (0,21), este alelo inactivo aparece con una frecuencia del 20 al 25% en Caucásicos. El alelo *6 no se identificó en ningún individuo estudiado. La frecuencia de la variante alélica *10 (0,05) en esta población fue similar a la descrita en población USA (0,042) (16) y más alta que la descrita en alemanes (0,015) (15) ⁽⁴⁾.

1.2 Bases teóricas

Farmacogenética

Es el término que relaciona las reacciones adversas de fármacos y la variabilidad determinada genéticamente, fue Friedrich Vogel, quién por primera en 1959 usó el término farmacogenética, pero recién en 1962 se definió a la farmacogenética como el estudio de las variaciones genéticas que afecta la respuesta a los fármacos. Esta variabilidad interindividual de respuesta a los fármacos requiere de la investigación de genes candidatos seleccionados por su importancia en la cinética y dinámica de los fármacos; cuya finalidad es identificar individuos con riesgo de experimentar efectos adversos o con probabilidad de ser resistentes al tratamiento ⁽¹³⁾.

En sus inicios la farmacogenética tuvo un enfoque basado en el metabolismo de fármacos, pero luego se adicionaron una serie de factores que afectan la biodisponibilidad de fármacos, que incluyen los transportadores que influyen en su absorción, distribución y excreción. Se reconocen más de 30 familias de enzimas metabolizadoras de fármacos en humanos, siendo una de las más

importantes enzimas el sistema citocromo P450, el glutatión S-transferasa y la tiopurina metil-transferasa ⁽¹³⁾.

Estos catalizadores metabólicos presentan variaciones en su actividad con base en las mutaciones puntuales de nucleótidos que determinan variantes alélicas que se traducen en cambios funcionales de las proteínas codificadas ⁽¹³⁾.

Familia de citocromos P450

Las enzimas citocromo constituyen un sistema general eficiente y participan en una versatilidad de procesos y de reacciones metabólicas de fase I. Cada isoenzima del Cit P450 es producto de un gen y tanto el gen como la isoenzima se les suele denominar como CYP. Esta gran familia de hemoproteínas monooxidasas de acción mixta están expuestas en la cara externa de la bicapa lipídica del retículo sarcoplásmico liso y membrana interna mitocondrial y de las que están identificadas más de 2000 isoformas diferentes ^(6, 9).

Se han reportado más de 18 000 genes citocromo P450 sistematizados en familias y subfamilias de acuerdo al porcentaje de semejanza en la secuencia de sus aminoácidos. En su nomenclatura se denotan con la raíz CYP, la familia con un número, la subfamilia con una letra y la isoenzima con un número ej. CYP 2 D 6 Para el caso del gen se antepone la palabra gen. Todas las isoenzimas de CYP de la misma familia tienen por lo menos una semejanza estructural del 40%, y de ellas, para la misma subfamilia, tienen una semejanza estructural al menos del 60% ⁽⁶⁾.

Las isoenzimas del Cit P450 están muy presentes en los hepatocitos, y también distribuidas en intestino, riñón, pulmón y cerebro. Se han identificado más de treinta (30) isoenzimas diferentes de CYP en humanos ⁽⁶⁾.

Los polimorfismos del CYP pueden producir cambios en la cantidad de enzima expresada (de origen genotípico o fenotípico). El polimorfismo se refiere a la ocurrencia de alelos múltiples en un locus, donde al menos dos

alelos aparecen con una frecuencia >1% en la población general. Como consecuencia se suele producir una disminución de la eficiencia catalítica de la enzima o una disminución de la afinidad de la enzima por los sustratos ⁽⁹⁾.

Las consecuencias del polimorfismo enzimático interindividual pueden variar la biodisponibilidad y la vida media de un xenobiótico – XB, variar la respuesta tóxica intensificándola o haciendo que la terapéutica sea ineficaz. Por otro lado, se pueden producir interacciones entre diferentes XBs, metabolización exagerada con producción de metabolitos reactivos o pueden darse sinergias o antagonismos entre diferentes sustancias xenobióticas en los organismos ⁽⁹⁾.

Muchos antidepresivos y medicaciones antipsicóticas son metabolizadas por CYP 2C19 o CYP 2D6. Esto da lugar a menudo a interacciones droga-droga con significancia clínica ⁽⁹⁾.

Inducción enzimática del CIT P-450, provoca incremento de la síntesis de una enzimática que obedece a la presencia de su sustrato o de algún compuesto análogo estructural. Puede darse por hormonas esteroideas con receptor nuclear que inducen la síntesis de proteínas o por XBs El complejo entra al núcleo, uniéndose de forma específicamente al DNA dando inicio a la transcripción de genes del P450 ⁽⁹⁾.

Monooxigenasas del citocromo P450, las reacciones de oxidación que catalizan pueden formar metabolitos reactivos. Estas enzimas se encuentran en animales, plantas, levaduras y bacterias. Se les asocia a la síntesis de esteroides, pero su relevancia es por participar en el metabolismo de drogas. Los componentes del citocromo P450 están ligados al retículo endoplasmático: constituidos por el citocromo P450, hemoproteína de cadena de 35 a 40 KDa, el citocromo P450 reductasa (flavoproteína, FAD, FMN) y el citocromo b5 ^(16, 17).

El CitP450 presenta un Fe ²⁺ con alta afinidad por el monóxido de carbono, con el cual forma un complejo que expuesto al espectro luminoso tiene una absorbancia máxima a 450 nm y cuando está oxidado absorbe a 420 nm. Para

efectos de su detección, su reducción se consigue con ditionito y saturación de CO. En sus funciones metabólicas requiere O₂ molecular y NADPH, coenzima que le permite reducir un átomo de O₂ hasta formar una molécula de agua ^(16, 17).

Los tipos de reacciones que cataliza son predominantemente de oxidación, como son hidroxilaciones aromáticas y alifáticas, N- y S- oxidaciones, formación de epoxis en insaturaciones, O-, N- y S- desalquilaciones, desaminaciones, desulfuraciones, deshalogenaciones y deshidrogenaciones. N- hidroxilación. De manera que participa en reacciones de oxidación de esterres carboxílicos, deformilación de aldehídos, formación de anillos, deshalogenación de arilos, reordenamiento de eucosanoides oxidados, deshidratación e hidrólisis de fosfatidilcolina. Así mismo participa en reacciones de reducción en ausencia de O₂, azoreduccion, reducción de nitroaromáticos, deshalogenación reductora, formación de radicales quinónicos, como en el caso de la generación de los metabolitos reactivos del paracetamol ^(6, 16).

Las isoenzimas del P450 son las más activas en los procesos de oxidación de los XBs en humanos, más del 90% de la oxidación de drogas en humanos es debido a seis isoenzimas de CYP: •1A2 2C9 •2C19 * 2D6 * •2E1 3A4 * ⁽⁶⁾.

En el mecanismo de acción de las monooxigenasas en la membrana del retículo endoplasmático el NADPH es el dador de los electrones (e-) que le llegan al Cyt P450 desde el cyt b5 y desde la Cyt P450 reductasa (FMN, FAD). El Fe³⁺ del Cit P450, unido al sustrato (S), se reduce a Fe²⁺, luego éste se une a un mol de O₂, ocurre una segunda reducción formándose una molécula de H₂O y el Fe²⁺ pasa a (FeO)³⁺ y el sustrato se hidroxila y se desprende, quedando el Cit con Fe³⁺ ⁽¹⁶⁾.

Las familias CYP 1, 2 y 3 se le asocia al metabolismo de xenobióticos. La familia CYP2; es una familia conformada por el mayor número de miembros, los cuales están organizados en más de 20 subfamilias. La subfamilia CYP2A han sido identifica en el hombre CYP2A6, CYP2A7 y CYP2A13. El CYP2A6

se expresa en el hígado y es inducible por fenobarbital y otros fármacos antiepilépticos ^(6, 16).

El CYP2B6 es el único miembro de la subfamilia CYP2B encontrado en el hombre. La subfamilia CYP2C en el hombre está integrada por cuatro genes: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 y CYP2C19. Entre ellos, el CYP2C9 el cual se expresa en su mayor expresión en el hígado humano. Dentro de la subfamilia CYP2D, en el hombre sólo se ha identificado el CYP2D6, en el hígado y otros órganos y puede afectarse por inhibidores ⁶. El CYP2E1, el único miembro de la subfamilia CYP2E identificado en la especie humana. Se expresa en el hígado (alrededor del 10% del P-450 total en este tejido) ⁽⁶⁾.

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 ⁽⁶⁾.

Estructura del gen

El *gen CYP2D6* se encuentra situado en el brazo largo del cromosoma 22, en la banda 22q13.1; este gen está constituido por ocho intrones y nueve exones distribuidos en 4378 bp de ADN desde el sitio de inicio de la polimerasa al sitio de poliadenilación. Los nueve exones, incluyendo el primer exón y el último exón Ñ codificante, que son típicos de otros genes de la familia CYP2 ⁽¹³⁾.

El polimorfismo genético del CYP2D6 se ha relacionado con una diferente susceptibilidad a la enfermedad de Parkinson y al cáncer de hígado o de pulmón ^(5, 6).

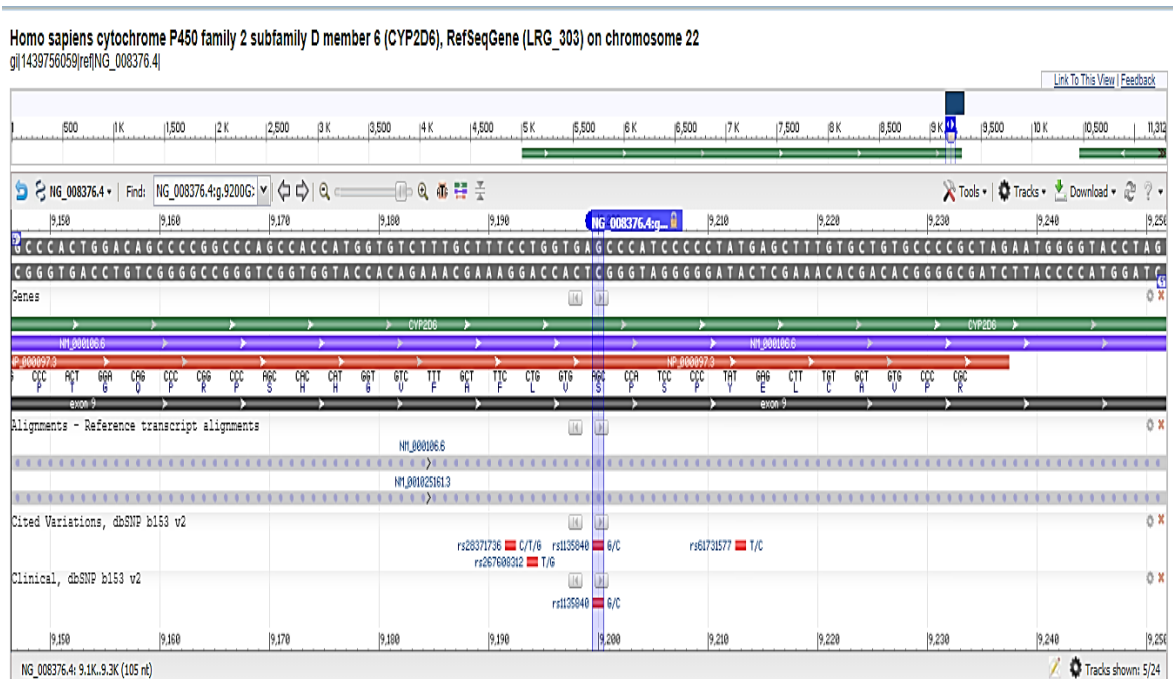
El exón 8

Es la secuencia conformada de 141pb de nucleótidos que codifica la secuencia del gen CYP2D6, inicia desde 5634pb a 5775pb de Nucleótidos Homo sapiens CYP2D6 (CYP2D6) gene ⁽¹⁸⁾.

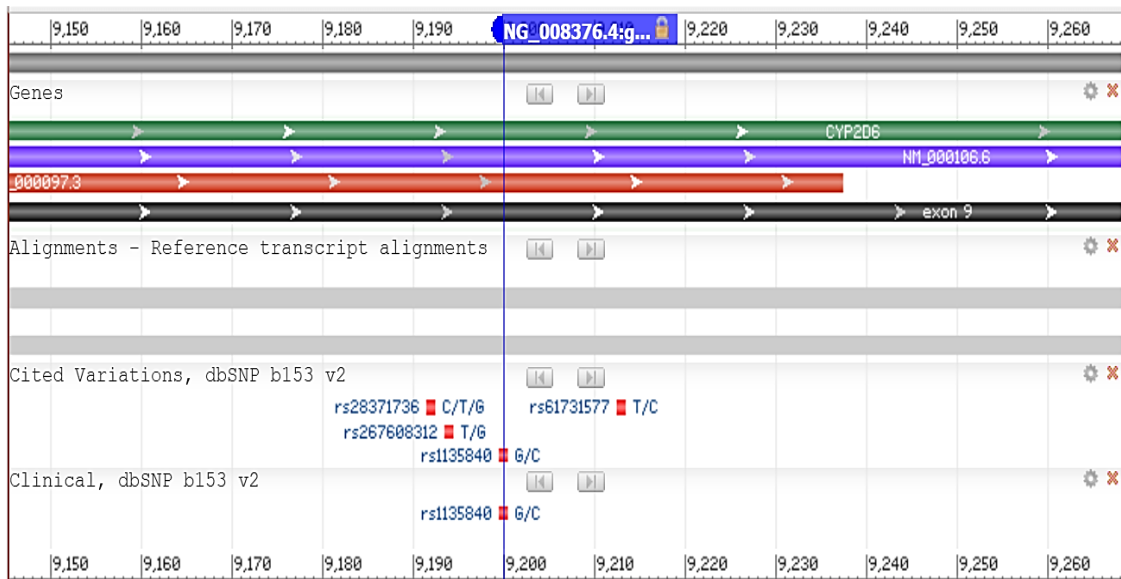
Secuencia: JF307778.1:

```
GGAACGACACTCATCACCAACCTGTCATCGGTGCTGAAGGATGAGGCC
GTCTGGGAGAAGCCCTTCCGCTTCCACCCCGAACACTTCCTGGATGCC
CAGGGCCACTTTGTGAAGCCGGAGGCCTTCCTGCCTTTCTCAGCAG
```

Figura 01. Variantes del Exón 8 – SNP del Cyp2D6.



Fuente: Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI



La Debrisoquina 4-hidroxilasa

Esta enzima formada por 497 aminoácidos y, al igual que la gran mayoría de enzimas CYP, el CYP2D6 se encuentra localizado en el retículo endoplasmático, la cual interactúa con la enzima NADH-P450 reductasa del cual recibe electrones para oxidar diferentes sustratos. La isoenzima CYP2D6 se expresa no solo en el hígado, donde se encuentra un aproximado del 2% del contenido total de los CYP, sino también en órganos como el cerebro ⁽¹⁹⁾.

La debrisoquina que participa en la biotransformación principalmente sobre fármacos de uso psiquiátrico, que además son potentes inhibidores de esta enzima, también actúa sobre antihipertensivos, antiarrítmicos, opioides, metoclopramida, tamoxifeno, anfetaminas entre otros, los cuales se verían afectados en su metabolismo por la presencia de inductores. Entre los fármacos inhibidores de esta enzima se conocen a la amiodarona, nefazodona, cimetidina, difenhidramina, fluoxetina, paroxetina, citalopran, fluvoxamina, quinidina, ritonavir, terbinafina, haloperidol, tioridazida, entre otros ⁽¹⁸⁾.

Tipos de metabolizadores

Dado que el gen *CYP2D6* es altamente polimórfico de modo que se han encontrado cerca de 80 variantes alélicas. Esta variación genética ha sido correlacionada con tres clases de fenotipos basados en la capacidad de metabolizar las drogas ^(19, 20).

Metabolizador Ultrarrápido (UM): la presencia de este fenotipo es causado por la duplicación, multiplicación o amplificación de genes activos *CYP2D6*, incluyendo principalmente el alelo *CYP2D6*2* y el alelo *CYP2D6*1*; además el metabolismo ultrarrápido puede estar relacionado con los alelos *CYP2D6*35* (Mosquera, 2010). Los individuos que presenten el fenotipo UM metabolizan las drogas a un ritmo ultrarrápido lo que puede causar disminución en la eficacia del tratamiento con una dosis estándar ^(19, 21).

Metabolizador Intermedio (IM): este fenotipo se encuentra expresado en la mayoría de la población por los que es considerado como “normal” ^(19, 21).

Metabolizador Lento (PM): de este fenotipo provoca un metabolismo lento o pobre de la droga o medicamento ingerido produciendo una acumulación del fármaco en el organismo y por consecuentemente generando un alto riesgo de efectos adversos en el individuo. Los alelos responsables de un metabolismo lento son *CYP2D6*3*, **4*, **5* y **6* ^(19, 21).

Implicancias clínicas de polimorfismos en *CYP2D6*

Los polimorfismos del Cyt P450 provocan: cambios en la cantidad de enzima ya sea por causas genotípicas o fenotípicas, disminución de la eficiencia catalítica de la enzima (genes mutados, pero con actividad), reducción de la afinidad de la enzima por el sustrato (genes defectuosos), diferencias en la cinética de los XB, produciendo variaciones en la biodisponibilidad, vida media, biotransformación con producción anormal de metabolitos tóxicos o reactivos. En la dinámica del fármaco la respuesta puede verse alterada, evidenciando deficiencia terapéutica o potencial efecto tóxico ⁽¹³⁾.

Los medicamentos más afectados por los polimorfismos de *CYP2D6* son comúnmente aquellos en los cuales esta enzima representa una ruta metabólica fundamental, ya sea en la activación o eliminación del medicamento. Los polimorfismos están usualmente relacionados con una variación en la actividad enzimática: cuando se encuentra reducida puede producir un aumento de la concentración plasmática del medicamento administrado que no ha sido observado previamente en la población con genotipo silvestre (codifica una enzima con función normal) y, por el contrario, aquellos pacientes con polimorfismos asociados a un aumento de la actividad enzimática podrían tener una respuesta menor si son tratados con un fármaco que es sustrato de esta enzima, es decir, tendrían una concentración plasmática menor comparada con la de individuos que tienen la enzima silvestre ⁽¹³⁾.

Se estima que entre 15 y 20% de las fallas en los tratamientos farmacológicos se deben a polimorfismos de las enzimas del sistema citocromo P450 ⁹. Un ejemplo de la importancia clínica de estos polimorfismos lo constituye el uso del antidepresivo tricíclico nortriptilina cuya degradación depende del *CYP2D6*: los metabolizadores pobres (PM) necesitan 30 a 50 mg comparados con los metabolizadores ultrarrápidos (UM) que requieren 500 mg, para obtener los mismos niveles plasmáticos; por lo tanto, la dosis estándar de 150 mg no es apropiada para los grupos de individuos PM y UM ^(13, 18, 19).

Variantes polimórficas del *CYP2D6*

Los polimorfismos del *CYP2D6* identificados en el genoma humano presentan grandes diferencias en sus frecuencias alélicas entre diferentes grupos poblacionales. En la población caucásica los metabolizadores ultrarrápidos pueden presentar duplicaciones y multiplicaciones del gen y sus variantes y están presentes en un 7% de la población. En cambio, los metabolizadores pobres presentan mutaciones en una sola base (*4, *6 y *10), deleciones parciales (*3) o deleciones totales (*5) y tienen gran importancia clínica, puesto que 7 a 10% de esta población presenta alelos no funcionales. En Hispanoamérica, la frecuencia de la población PM es de 6,6% en

colombianos, 3,2% en mexicanos, entre 2,2% y 4,4% en panameños y 3,6% en nicaragüenses. Según la literatura encontrada, el fenotipo de la población chilena debería ser similar a la población caucásica, debido a la migración española a estas tierras ⁽¹³⁾.

La variabilidad interindividual farmaco-xb-genética, se producen grandes diferencias interindividuales en el metabolismo de “drogas/ XBs”. Las diferencias pueden estar determinadas genéticamente por el nivel basal de expresión de la enzima Cyt P450, incluyendo los polimorfismos, “metabolizadores pobres y extensivos” o por los efectos de inducción por XBs de las diferentes isoformas. Los metabolizadores pobres tendrán concentraciones altas en plasma de la “droga” patrón y bajos niveles de los metabolitos derivados ⁽¹³⁾.

Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP: es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de una secuencia del genoma. Los polimorfismos se tienden a distinguir de las mutaciones por su frecuencia. Las distintas formas de los polimorfismos (llamados “alelos”) son más frecuentes que las mutaciones. La gran mayoría de los SNP’s tienen dos alelos los cuales están representados por una sustitución de base por otra. En las poblaciones, este tipo de alelos se clasifican en alelo principal o “silvestre” y alelo raro o mutante, clasificación basada en la frecuencia observada en las poblaciones ⁽¹³⁾.

Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres genotipos: homocigoto para el alelo más frecuente, heterocigoto, u homocigoto para el alelo menos frecuente ⁽¹³⁾.

Se describe que los SNP’s se presentan uno cada 200 pares de bases en el genoma humano. Lo cual basados en ello, se espera que existieran aproximadamente 6 millones de SNP’s en el genoma humano. Los SNP’s pueden estar presentes en regiones codificantes y provocar un cambio en un aminoácido; a este tipo de SNP’s se les conoce como “no sinónimos”. Puesto que este tipo de SNP’s afecta directamente la función de la proteína ⁽¹³⁾.

Tabla 1. Resumen de reportes de publicaciones revisadas de la proteína CYP2D6.

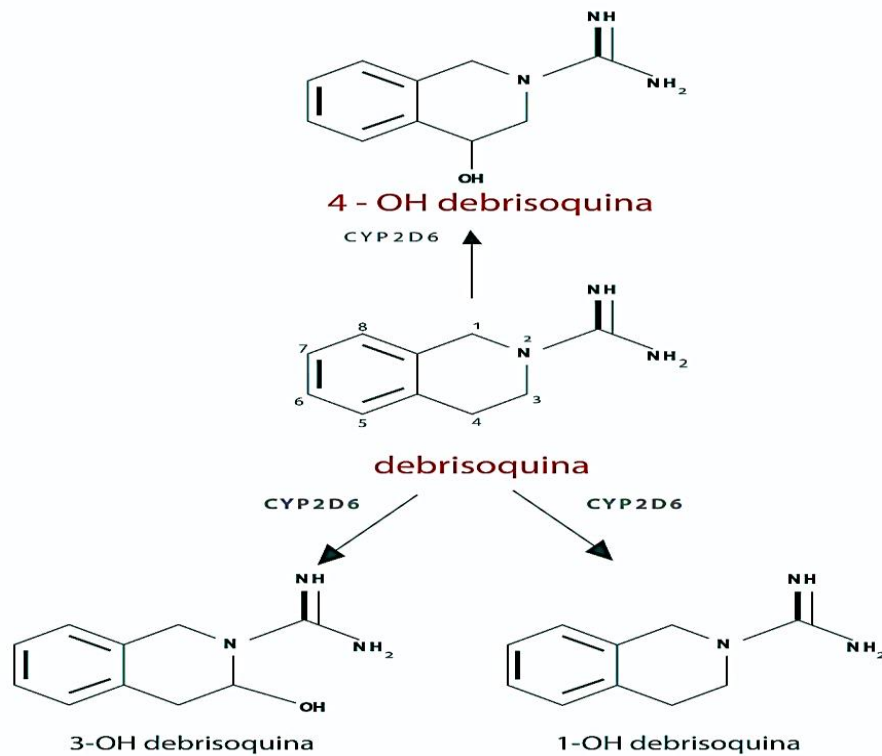
Alelo	Código de registro	Frecuencia	Artículo	Autor	Población
CYP2D6*4	rs3892097 G/A	13.8%	Distribución del alelo *4 del Citocromo CYP2D6 en subpoblaciones peruana	Villar M ⁽²²⁾ .	Puno
CYP2D6*10	rs1065852 C/T	15.56%	La variación genética del gen CYP2D6 en la población bosnia	Nefic H ⁽²³⁾ .	Bosnia y Herzegovina
CYP2D6*8	Rs769157652 G/A	13.54%	Análisis de polimorfismos genéticos de CYP2D6 en la población Uygur	He X, <i>et al</i> ⁽²⁴⁾ .	Uygur
CYP2D6*4	Rs3892097 G/A	32.4%	Análisis de los polimorfismos CYP2C9 * 2, CYP2C19 * 2 y CYP2D6 * 4 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2	Semiz S; <i>et al</i> ⁽²⁵⁾ .	Bosnia y Herzegovina
CYP2D6*8	rs5030865 G/T, rs16947 C/T, rs1135840 G/C	84.4%	Análisis de la variación genética en genes CYP450 para implementación clínica	Ling L ⁽²⁶⁾ .	Singapur
CYP2D6*9	rs1135840 G/C	74.18%	Polimorfismos y análisis fenotípico del citocromo P450 2D6 en la población tibetana	Jin T: <i>et al</i> ⁽²⁷⁾ .	China
CYP2D6*4	rs3892097 G/A	0.5%	Frecuencias alelo CYP2D6, variantes de número de copia y tándems en la población de Hong Kong	Chan W; <i>et al</i> ⁽²⁸⁾ .	Hong Kong
CYP2D6*10	rs1065852 C/T rs1135840 G/C	21.6%	Frecuencias alelo CYP2D6, variantes de número de copia y tándems en la población de Hong Kong	Chan W; <i>et al</i> ⁽²⁸⁾ .	Hong Kong
CYP2D6*10	rs1065852 C/T rs1135840 G/C	0.5%	cáncer de mama contralateral en WECARE	Brooks J; <i>et al</i> ⁽²⁹⁾ .	Toronto
CYP2D6*6	rs5030655 del T	0.3%	Estudiar Variantes alélicas de CYP2D6: *4, *6 y *10 en una Muestra de residentes del estado Aragua, Venezuela	Angulo C; <i>et al</i> ⁽¹⁾ .	Aragua, Venezuela

CYP2D6*10	rs1065852 C/T	1%	Variantes alélicas de CYP2D6: *4, *6 y *10 en una muestra de residentes del estado Aragua, Venezuela	Angulo C; et al ⁽¹⁾ .	Aragua, Venezuela
CYP2D6*4	rs3892097 G/A	13.8%	Variantes polimórficas del citocromo p450 2d6 y su influencia sobre su actividad catalítica debrisoquina 4-hidroxilasa <i>in vivo</i>	Garay J ⁽¹⁵⁾ .	Santiago - Chile
CYP2D6*10	rs1065852 C/T	17.5%	Farmacocinética del CYP2D6 en la población colombiana en relación a las iberoamericanas	Sarmiento A ⁽²⁾ .	Colombia
CYP2D6*4	rs16947 C/T	20%	Determinación del haplotipo CYP2D6 utilizando Amplificación de alelo específico de largo alcance Resolución de un genotipo complejo y un discordante Genotipo que implica el alelo CYP2D6 * 59	Gaedigk A; et al ⁽¹²⁾ .	Kansas City - Missouri

Actividad debrisoquina 4-hidroxilasa

El genotipo *CYP2D6* ha sido asociado a la variabilidad interindividual en la actividad de su enzima *in vivo*, la cual ha sido evaluada sobre la base de la razón metabólica urinaria (RM: compuesto original/ metabolito en orina) de marcadores metabólicos. Se han utilizado la esparteína, la debrisoquina, el metoprolol y el dextrometorfán para determinar la actividad catalítica del CYP2D6 *in vivo*, sin embargo, la debrisoquina ha sido el compuesto más utilizado, debido a que es capaz de discriminar los fenotipos EM de los IM y los UM^(13, 19).

Figura 2. Actividad debrisoquina 4-hidroxilasa.



El fármaco antihipertensivo debrisoquina es metabolizado principalmente por el CYP2D6 a 4-hidroxidebrisoquina; y minoritariamente a los metabolitos 3-OH debrisoquina y 1-OH debrisoquina. La razón metabólica (RM) de debrisoquina/4-hidroxidebrisoquina en muestras de orinas de 0 a 8 horas permite discriminar los fenotipos metabólicos (EM, IM, PM y UM) en los seres humanos ^(13, 19).

1.3 Definición de términos básicos

Gen, es una secuencia ordenada de nucleótidos en la molécula de ADN (o ARN, en el caso de algunos virus) la cual contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica, habitualmente proteínas, pero también ARNm, ARNr y ARNt ⁽¹³⁾.

Esta función puede estar vinculada con el desarrollo o funcionamiento de una función fisiológica. El gen es también considerado la unidad de almacenamiento de información genética y unidad de la herencia, pues transmite esa información a la descendencia. Los genes se disponen, pues, a

lo largo de ambas cromáticas de los cromosomas y ocupan, en el cromosoma, una posición determinada llamada *locus*. El conjunto de genes de una especie, y por tanto de los cromosomas que los componen, se denomina genoma. Los genes están localizados en los cromosomas en el núcleo celular ⁽¹³⁾.

Tipos de genes, si bien un gen es una secuencia o segmento de ADN necesario para la síntesis de ARN, para el caso de genes que no son traducidos a proteínas se cuenta con el ARN de transferencia, el ARN ribosomal, ribozimas y otros ARN pequeños de funciones diversas. El ARN mensajero es el que codifica los aminoácidos y permite la traducción para generar una molécula de proteína. Muchos genes presentan regiones codificantes (exones) interrumpidas por regiones no codificantes (intrones) que son eliminadas en el procesamiento del ARN (splicing). Algunos genes han sufrido procesos de mutación u otros fenómenos de reorganización y han dejado de ser funcionales, pero persisten en los genomas de los seres vivos; si bien dejan de funcionar y pasan a ser pseudogenes; sin embargo, pueden ser muy parecidos a otros genes funcionales del mismo organismo. Los pseudogenes constituyen un recurso evolutivo para la especie, ya que son regiones de ADN cuasifuncionales que pueden aceptar mutaciones (y generar nuevas funciones) muy ajeno a las funciones que ya se desarrollan en el organismo ⁽¹³⁾.

Haplotipos, es una combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos. Un haplotipo puede ser un locus, varios loci, o un cromosoma entero dependiendo del número de eventos de recombinación que han ocurrido entre un conjunto dado de loci. En un segundo significado, un haplotipo es un conjunto de polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs) en un cromosoma particular que están estadísticamente asociados ⁽¹³⁾.

Polimorfismos, data relación a la existencia en una población de múltiples alelos de un gen. Lo cual quiere decir que un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN en los

cromosomas (locus) entre los individuos de una población. Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos (por ejemplo, el color de los ojos). Un polimorfismo puede consistir en la sustitución de una simple base nitrogenada (por ejemplo, la sustitución de una A (adenina) por una C (citosina) o puede ser más complicado (por ejemplo, la repetición de una secuencia determinada de ADN, donde un porcentaje de individuos tenga un determinado número de copias de una determinada secuencia). Los cambios poco frecuentes en la secuencia de bases en el ADN no se llaman polimorfismos, sino más bien mutaciones. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer en más del 1% de la población ⁽¹³⁾.

Alelos, se denomina alelo a cada una de las diferentes variantes que representa un gen ⁽¹³⁾.

Dogma Central, es una secuencia de procesos que establece que la información fluye desde el ADN al ARN y de este a las proteínas. Lo cual quiere decir que el ADN se transcribe como ARN mensajero y que este se traduce como proteína ⁽¹³⁾.

División Celular G1, es la fase del ciclo celular en el cual abarca desde que una célula nace hasta que comienza la fase S. Durante esta fase la célula comprueba las condiciones externas e internas y decide si continuar el ciclo celular o no ⁽¹³⁾.

Homocigoto, individuo puro para uno o más caracteres, es decir, que en ambos loci posee el mismo alelo (representado como aa en el caso de ser recesivo o AA si es dominante). El individuo ha heredado dos copias idénticas del gen, una de cada parental ⁽¹³⁾.

Heterocigoto, individuo que, para un gen, tiene un alelo distinto en cada cromosoma homólogo. El individuo ha heredado una copia distinta de cada parental. Su representación mendeliana es "Aa" ⁽¹³⁾.

Mutación, es una alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo (muchas veces por contacto con mutágenos) y que, por lo tanto, va a producir un cambio de características de éste, que se presenta súbita y espontáneamente, y que se puede transmitir o heredar a la descendencia ⁽¹³⁾.

Reacción en Cadena de la Polimerasa – PCR o Polymerase Chain Reaction, corresponde a un procedimiento de laboratorio que permite sintetizar ADN "in vitro". Permite obtener un número muy elevado de copias de un segmento de ADN (amplificación de ADN) en un tiempo muy corto, a partir de una pequeña cantidad de ADN ⁽¹³⁾.

Deriva genética, la variación de las características hereditarias a través de las generaciones por un proceso evolutivo se da por fenómenos que más intervienen en el proceso evolutivo son la selección natural y la deriva genética. El fenómeno conocido en genética de poblaciones por deriva (o también a veces como consanguinidad) consideremos una población de organismos diploides y cuyo tamaño poblacional, para simplificar, supondremos constante, N , de generación en generación. También por simplicidad trataremos al tiempo como una variable discreta, cuantificado en termino de generaciones. Supondremos apareamiento al azar y no consideraremos ni migración, ni mutación, ni selección ⁽¹³⁾.

Flujo genético, corresponde a la migración de genes, es la transferencia de alelos de genes de una población a otra. La migración hacia o desde una población puede ser responsable de importantes cambios en las frecuencias del acervo genético (el número de individuos con un rasgo particular). La inmigración puede resultar en la introducción de nuevo material genético al acervo genético establecido de una especie o población particular y, a la inversa, la emigración puede provocar una pérdida de material genético. Hay un número de factores que afectan al ritmo del flujo genético entre poblaciones

diferentes. Uno de los factores más significativos es la movilidad, y los animales tienden a ser más móviles que las plantas. Una mayor movilidad tiende a darle más potencial migratorio a un individuo⁽¹³⁾.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de la hipótesis

Ho: El exón 8 del gen *CYP2D6* procedente de muestras sanguíneas de pobladores étnicos de la Comunidad de Tempestad, Loreto no presentan variables polimorfismos de nucleótidos únicos

Hi: El exón 8 del gen *CYP2D6* procedente de muestras sanguíneas de pobladores étnicos de la Comunidad de Tempestad, Loreto presenta variables polimorfismos de nucleótidos únicos.

2.2 Variables y su operacionalización

Variable de estudio

- Polimorfismos de nucleótidos únicos

Indicador

- Cambio de una base nitrogenada por otra

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y Diseño

La investigación fue de tipo descriptivo y de diseño transversal, que permitió identificar las mutaciones puntuales en la región del cromosoma 22 correspondiente al exón 8 del gen *CYP2D6*. El diseño fue no experimental, transversal.

3.2 Diseño muestral

La población correspondió a individuos mestizos de la etnia quichua, vivientes de la comunidad Tempestad ubicada en la margen derecha del río Napo de la Región Loreto.

La muestra estuvo conformada por 32 individuos de la comunidad de tempestad -Maynas, Loreto

El muestreo se dio por conveniencia; para ello se convocó a los pobladores de la Comunidad de Tempestad para informarles sobre la investigación y su propósito, y luego se incorporó al estudio a las personas que aceptaron voluntariamente participar (32) y que firmaron previamente el consentimiento informado.

3.3 Procedimiento de recolección de datos

- a) Se obtuvieron los datos de la población en estudio de acuerdo al formato.
- b) Se aplicó el consentimiento informado a los voluntarios que aceptaron participar.
- c) Posterior se procedió a recolectar la muestra, se extrajo unas gotas de sangre del pulpejo del dedo, con la higiene adecuada y se recogió en papel de filtro, se dejó secar al medio ambiente al resguardo de los insectos y el polvo. La muestra fue codificada y transportada en condiciones ambientales desde la Comunidad de Tempestad, Loreto hasta el Laboratorio de Biotecnología del CIRNA.

- d) Luego se realizó la extracción de ADN por técnica convencional, la cual paso previamente por un control de calidad de espectrofotometría, para verificar su óptima condición del ADN, para lo cual fue revelado por electroforesis en gel de agarosa al 2%.
- e) Se envió a la Universidad de Arizona USA para el secuenciamiento de nucleótidos genéticamente específico del exón 8 del gen *CYP2D6*.
- f) Se identificó las mutaciones puntuales de secuencias específicas mediante el secuenciamiento de nucleótidos genéticamente específico, con el soporte de Software Blast del National Center for Biotechnology Information - NCBI. Se comparó con las secuencias génicas completas del gen *CYP2D6* en humanos y las secuencias de ADN genómico de mamíferos del Banco de Genes.

3.4 Procesamiento y análisis de datos

Se elaboró una base de datos en un programa estadístico SPSS24 y luego se presentaron los datos en tablas y gráficos.

3.5 Aspectos éticos

Aquellos individuos que decidieron voluntariamente participar en el estudio, firmaron un consentimiento informado, es pertinente mencionar que, se tuvo el consentimiento informado en español y en lengua quichua, para mejor entendimiento del participante procedente de las etnias. Al participante se le informó que tenía la libertad de retirarse en cualquier momento, preguntar cualquier duda y a tener derecho a ser informado de lo que acontecía alrededor de la muestra que proporciono y de cómo serían publicados los resultados, preservando en reserva en todo momento su identidad.

El informe de Belmont referente a los principios y guías éticos para la protección de los sujetos humanos de investigación; refiere que la investigación científica ha dado como resultado beneficios substanciales. Pero también cuestionamientos sobre los abusos cometidos contra sujetos humanos en experimentos biomédicos, especialmente durante la segunda

guerra mundial, lo cual durante los procesos de Nuremberg contra los crímenes de guerra, se esbozó el código de Nuremberg. Este código se convirtió en el prototipo para asegurar que la investigación con sujetos humanos se lleve a cabo de modo ético. Los códigos consisten en reglas, algunas generales, otras específicas, que guían en su trabajo a investigadores o a evaluadores de la investigación; dicho código está sujeta a tres principios, o normas generales prescriptivas, relevantes en la investigación en la que se emplean sujetos humanos ⁽³⁰⁾.

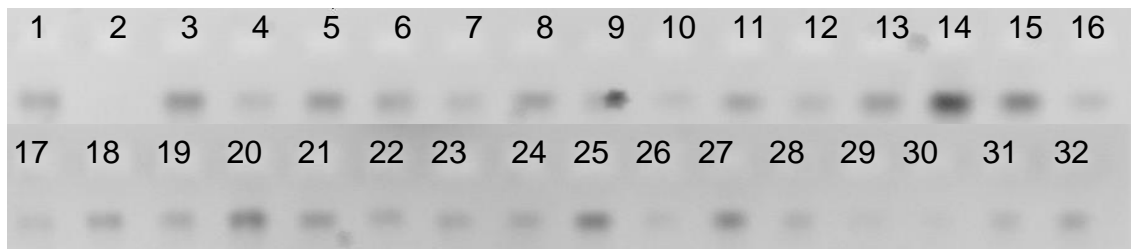
- a) Límites entre practica e investigación; es importante saber la distinción entre investigación que denota una actividad designada a comprobar una hipótesis que nos permita llegar a una conclusión y por consiguiente contribuya a obtener un conocimiento generalizable, en cambio práctica se refiere a intervenciones cuyo fin es acrecentar el bienestar de un paciente o un cliente ⁽³⁰⁾.
- b) Principios básicos; se refiere a aquellos criterios generales que sirven como base para justificar muchos de los conceptos éticos y valoraciones particulares de las acciones humanas; en las cuales priman el respeto a las personas, beneficencia y justicia ⁽³⁰⁾.
- c) Aplicaciones; se refiere a aplicar principios generales de conducta que debe seguir la investigación; las cuales están sostenidas con el consentimiento informado, valoración de beneficios y riesgos, selección de los sujetos a investigación ⁽³⁰⁾.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Tabla 02. Participantes de la comunidad nativa quichua “Tempestad” al estudio por sexo y edad.

Sexo	Edad por intervalos							Total
	18 a 24	25 a 31	32 a 38	39 a 45	46 a 52	53 a 59	60 a 66	
Hombre	1	6	1	1	1	0	0	10
Mujer	6	6	2	5	0	1	2	22
Total	7	12	3	6	1	1	2	32

Figura 03. Imagen cualitativa del ADN extraído a partir de muestras sanguíneas impregnadas en papel filtro.



En la figura 03, se muestra la calidad del ADN obtenido, ya que la imagen del gel de agarosa muestra una buena banda de ADN.

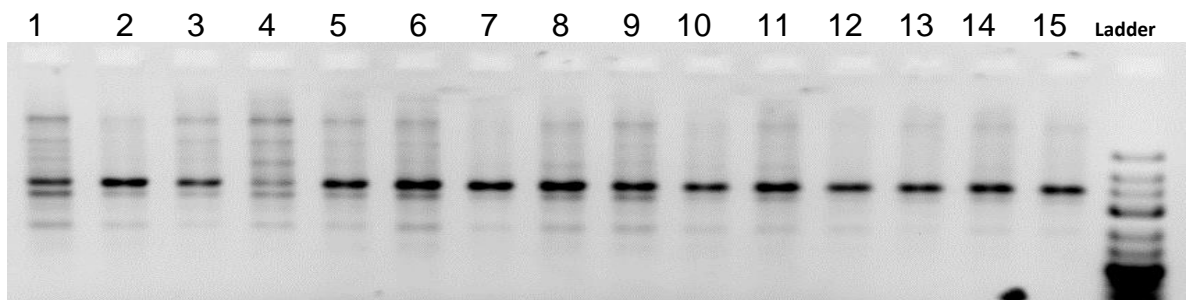


Figura 04. Imagen de la electroforesis del PCR.

La Figura 04 y 05, muestra la imagen del gel de agarosa con los productos de amplificación del exón 8.

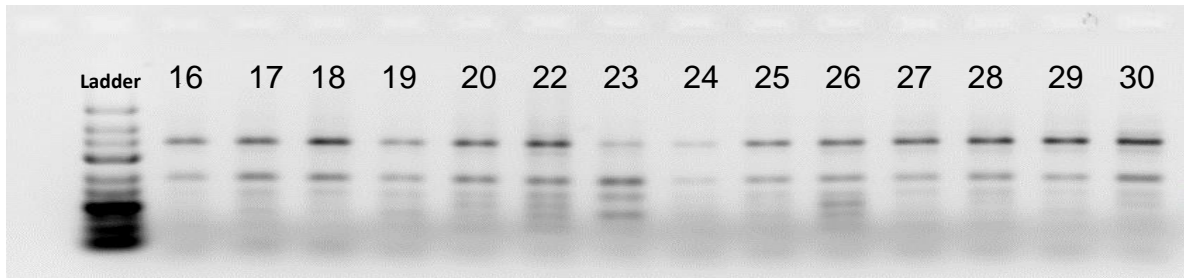


Figura 05. Imagen de la electroforesis del PCR.

El marcador molecular usado fue de 100 pb DNA Ladder, útil para la cuantificación del rango de 100pb a 2500pb permitió evidenciar el fragmento del exón 8 obtenido por PCR.

SNP identificados en los diferentes individuos estudiados. Por el nivel del orden de la secuencia de los nucleótidos evaluados con el marcador del exón 8 a todos los individuos de la población estudiada, luego de la alineación de la secuencia original de exón 8, frente a los haplotipos de estudios. Se identificó cambios de nucleótidos únicos y frecuencias constantes. En cada haplotipo se identificó los SNP más frecuentes del gen *CYP2D6* exón 8, del Cromosoma 22.

Figura 06. Mutaciones puntuales - SNP encontrados en el exón 8 del gen *CYP2D6*.

A). SNP G/C: G = Guanina / C= Citosina

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
351 bits(190)	2e-94	195/197(99%)	1/197(0%)	Plus/Minus
Query 893	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCA	952		
Sbjct 1204	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCA	1145		
Query 953	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGT	1012		
Sbjct 1144	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGT	1085		
Query 1013	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTT	1072		
Sbjct 1084	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTT	1025		
Query 1073	GGACACGGC-CTGGACA	1088		
Sbjct 1024	GGACACGGCGCTGCACA	1008		

Alelo original:(**G/C**) significa: alelo original **G** que cambio por **C** y se identificó en un 64% de los haplotipos estudiados. Encontrados en el orden de 1085 pb de nucleótidos evaluados entre 1073 y 1088 pb dentro de la secuencia.

B). SNP C/G: C= Citosina / G = Guanina.

Range 2: 1335 to 1527		GenBank	Graphics	▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
346 bits(187)	8e-93	191/193(99%)	0/193(0%)	Plus/Minus	
Query 1	GGTACCCCATTTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGGCTCACCAGGAAA	60			
Sbjct 1527	GGTACCCCATTTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGGCTCACCAGGAAA	1468			
Query 61	GCAAAGACACCCATGGTGGCTGGGCCCGGGCTGTCCAGTGGGCACCGAGAAGCTGAAGTGC	120			
Sbjct 1467	GCAAAGACACCCATGGTGGCTGGGCCCGGGCTGTCCAGTGGGCACCGAGAAGCTGAAGTGC	1408			
Query 121	TGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCAT	180			
Sbjct 1407	TGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCAT	1348			
Query 181	GCACGGCGGCCTG	193			
Sbjct 1347	GCACGGCGGCCTG	1335			

Alelo original: (**C/G**) significa: alelo original **C** que cambio por **G** y se identificó en un 24% de los haplotipos estudiados. Encontrados en el orden 49 pb de nucleótidos evaluados entre 1 y 60 pb dentro de la secuencia.

Alelo original: (**C/G**) significa: alelo original **C** que cambio por **G** y se identificó en un 24% de los haplotipos estudiados. Encontrados en el orden 86 pb de nucleótidos evaluados entre 60 y 120 pb dentro de la secuencia.

C). SNP G/C: G = Guanina / C= Citosina.

Range 2: 1000 to 1196		GenBank	Graphics	▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
351 bits(190)	2e-94	195/197(99%)	1/197(0%)	Plus/Minus	
Query 893	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCCA	952			
Sbjct 1196	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCCA	1137			
Query 953	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGT	1012			
Sbjct 1136	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGT	1077			
Query 1013	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTT	1072			
Sbjct 1076	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTT	1017			
Query 1073	GGACACGGGCTGGACA	1088			
Sbjct 1016	GGACACGGGCTGGACA	1000			

Alelo original:(**G/C**) significa: alelo original **G** que cambio por **C** y se identificó en un 64 % de los haplotipos estudiados. Encontrados en el orden de 1085 pb de nucleótidos evaluados entre 1073 y 1088 pb dentro de la secuencia.

D). No presenta SNP

Range 2: 1051 to 1196		GenBank	Graphics	▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
270 bits(146)	5e-70	146/146(100%)	0/146(0%)	Plus/Minus	
Query 893	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTA	CTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGT	CACACCCA	952	
Sbjct 1196	CCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGTA	CTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGT	CACACCCA	1137	
Query 953	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCT	GCACCTCATGAATCACGGCAGTGGT	GATAGGGCATGT	1012	
Sbjct 1136	GGGGGACGATGTCCCCAAAGCGCT	GCACCTCATGAATCACGGCAGTGGT	GATAGGGCATGT	1077	
Query 1013	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGC			1038	
Sbjct 1076	GAGCCTGGTCACCCATCTCTGGTCGC			1051	

Tabla 03. Resumen de mutaciones puntuales presentes en las muestras CYP2D6 exón 8.

N° de muestra	Tipo de variante / cambio	Secuencia
01	1081 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
02	49 C > G, 86 C > G	TGGG C TCAC; GGCC C GGGC
03	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
04	No presenta SNP	-----
05	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
06	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
07	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
08	No presenta SNP	-----
09	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
10	No presenta SNP	-----
11	1085 - > G, 1088 G > C	GGC-CTG G ACA
12	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
13	1084 - > G, 1087 G > C	GGC-CTG G ACA
14	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
15	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
16	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
17	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
18	1086 - > G, 1090 G > C	GGC-CTG G ACA
19	1082 - > G, 1085 G > C	GGC-CTG G ACA
20	1086 - > G, 1090 G > C	GGC-CTG G ACA
21	786 C > G	CCGGAC C GCCTT
22	786 C > G	CCGGAC C GCCTT
23	705 C > G, 723 C > G, 786 C > G	TGAAC C GATA; GGGAC A AGC; CCGGAC C GCCT
24	794 C > G	CCGGAC C GCCTT
25	788 C > G	CCGGAC C GCCTT

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Con el método de extracción QIAGEN, para ADN; se pudo comprobar mediante el análisis electroforético del ADN obtenido, evidencia que, con el método empleado, se ha obtenido ADN intacto y no aparecen signos de degradación (Figura 04).

El método de Qiagen permitió obtener ADN de gran pureza que posibilitó el análisis de las secuencias con el gen del exón 8, marcador bien conservado que posibilitaron obtener haplotipos donde se encontró 2 tipos de SNP como más frecuentes: **(G/C) (C/G)**. El cambio de una C original por una G y el cambio de una G original por una C.

Así mismo se buscó cual era la temperatura óptima de amplificación del ADN, para lo cual se tuvo que estandarizar el protocolo de PCR, proceso que también hizo Roblejo *et al.* (2014) cuando determinaba la frecuencia de la variante alélica CYP2D6*6 en una muestra de la población cubana; dentro de la nomenclatura de alelos para esta variante en este gen se encuentra entre otras mutaciones puntuales de bases nitrogenadas el intercambio: alelo original (G) guanina que cambio por (C) citosina.

Otros autores tales como Alanis- Bañuelos *et al* (2012), cuando determinaba los polimorfismo del CYP26 en menonitas Mexicanos de origen caucásico del estado de Durango; lo cual lograron identificar la frecuencia de alelos CYP2D6*4, *6, *10 que de acuerdo a la nomenclatura para esta variante en este gen se encuentra entre otras mutaciones puntuales de bases nitrogenadas el intercambio: alelo original (G) guanina que cambio por (C) citosina, el cual está sustentado con el alto contenido de guaninas en el gen.

De acuerdo las revisiones publicadas de variantes de la proteína CYP2D6, como Ling (2016) en población procedente de Singapur, Jin y col. (2013) en individuos procedentes de china, Chang y col.(2018) en una muestra tomada de Hong Kong y Brooks y col. (2018) en individuos procedentes de Toronto, todos ellos reportaron el cambio de G/C en diferentes porcentajes (Tabla 01),

Estos cambios de G por C también se encontraron en la población en estudio; variante que se sustenta en el alto contenido de guaninas en el gen.

El citocromo P450 (CYP), una de las enzimas metabolizadoras de fármacos (DME) más importantes y tiene muchas variaciones genéticas, en el presente estudio el análisis del exón 8 del gen *CYP2D6* muestra un sector polimorfo, esto permite tener un indicador para mostrar factores genéticos interindividuales que determinan diferencias en la respuesta a los medicamentos, que puede dar lugar a efectos secundarios adversos o a fallas terapéuticas.

La afectación de estas mutaciones puntuales en el efecto de las drogas metabolizadas por la debrisoquina -4-hidroxilasa, no puede determinarse en este estudio, porque se requiere de un estudio farmacocinético, que confirme el tipo de metabolizador que es el individuo según su genotipo encontrado. Por lo que, no se puede descartar la influencia de los factores ambientales, fisiológicos, interacciones medicamentosas y otros en el intercambio de bases. Pero en la mayoría de los casos la respuesta se hereda como resultado de polimorfismos en DME. **(G/C), (C/G).**

En la población en estudio (nativos de la Región Loreto) el screening del polimórfico del gen *CYP2D6* exón 8, hizo posible el análisis genético usando métodos basados en PCR y secuenciamiento. Logrando identificarse diferentes SNP comunes para individuos procedentes de grupos étnicos al ser comparados con otros tipos de poblaciones de otras áreas geográficas.

De dos polimorfismos de nucleótidos únicos – SNP encontrados, uno fue alelo similar identificado en individuos de china. indicadores importantes del gen *CYP2D6* en estudio en relación al metabolismo farmacológico. Este estudio es un inicio de futuros estudios de medicina personalizada.

Es importante resaltar que los dos polimorfismos de nucleótidos únicos – SNP encontrados nos muestra el polimorfismo genético individual en la población, así mismo podemos mencionar que estos nucleótidos únicos determina la variabilidad en la respuesta de detoxificación del organismo, simplemente porque con estos cambios genéticos se verá afectados en la secuencia de

aminoácidos de la expresión genética de la proteína CYP2D6, entonces por lo mismo, el proceso de detoxificación en los individuos estará afectada por que habrá modificación enzimática que repercute en el aumento, disminución o no actividad metabólica frente a los fármacos involucrados a este metabolismo.

En estos individuos si se realiza un tipo de tratamiento con fármacos que se metabolizan a través del CYP2D6 es necesario conocer la respuesta clínica para saber cómo sería el proceso de detoxificación. Esta es la importancia vital de conocer mucho más, el polimorfismo genético individual e interpoblacional, la cual define la variabilidad genética en la respuesta de detoxificación de sustancias en el organismo, de esta manera, las dosis estandarizadas usadas en la terapéutica tradicional tendrían una efectividad, dependiendo de los grupos poblacionales.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- La región del exón 8 del gen *CYP2D6* del genoma humano se ha aislado con éxito con el método de Qiagen para extracción de AND a partir de muestras sanguíneas soportadas en papel y transportadas en condiciones ambientales de clima tropical.
- En la población en estudio (nativos de la Región Loreto) el screening del polimórfico del gen *CYP2D6* exón 8, hizo posible el análisis genético usando métodos basados en PCR y secuenciamiento. Logrando identificarse diferentes SNP comunes para individuos procedentes de grupos étnicos al ser comparados con otros tipos de poblaciones de otras áreas geográficas.
- Es importante resaltar que los dos polimorfismos de nucleótidos únicos (G/C) y (C/G), encontrados nos muestra el primero que no hay polimorfismo genético individual en la población en estudio, pero si hay polimorfismo con la secuencia del gen usado para comparar. En el caso del cambio de (C/G) si muestra una variabilidad interindividual dentro de la población intervenida. Este simple cambio de bases no determina por sí mismo cambios genéticos que afecten la secuencia de aminoácidos y la expresión genética de la proteína CYP2D6.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Es conveniente continuar con estudios que permitan determinar si estos polimorfismos afectan la configuración de la proteína y por ende la función catalítica de la misma.
- Es importante a partir de este estudio ver si estas variables polimórficas también se presentan en otros grupos étnicos de la región Loreto o en la población urbana.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Flores-Angulo C., Villegas C., Mora Y., Martínez J., & Oropeza TM. Variantes alélicas de CYP2D6:*4, *6 Y *10 en una muestra de residentes del estado Aragua, Venezuela. (I. N. Perú, Ed.) Rev Peru Med Exp Salud Pública, (2015); (4): 746 751.
2. Sarmiento A. Farmacogenética del CYP2D6 en la población colombiana. Universidad de Extremadura, Departamento Terapéutico Médico-Quirúrgica. (2015).
3. Álvarez M., Pérez B., Llerena A., Labacena M., Garcia L., & Rojo D. Estudio del polimorfismo de debrisoquina en una muestra de la población Cubana. (F. d. García", Ed.) Rev. Cubana Farm , (16 de Noviembre de 2005); (05).
4. Alanis-Bañuelos R., Lares-Asseff I., Sosa-Macías M., Bradley-Álvarez F., & Lazalde-Ramos B. Polimorfismo del CYP26 en menonitas mexicanos de origen caucásico del estado de Durango, México. Red de Revistas Científicas de América Latina., IX. (2007).
5. Martins D., Vidal F., Souza RB., & Brito L. Determination of CYP2D6 *3, *4 and *10 frequency in women with breast cancer in Sao Luís, Brazil, and its association. Braz J Med Biol Res. (2014); 47 (11).
6. Donato M. *¿Qué es el citocromo P-450 y cómo funciona?* Recuperado el 17 de septiembre de 2018, de Real Academia Nacional de Farmacia. (12 de Julio de 2006). <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/515>.
7. Flores-Pérez J., Cruz-Reyes I., & Flores-Pérez C. El apoyo del citocromo P450 (CYP2D6) en el uso de medicamentos anticicóticos. *Acta Pediatr Mex.* (2007). 28.

8. Arrieta-Bolaños E., Alvarado-Ulate P., Baudrit-Carrillo O., & Salazar-Sanchez L. Farmacogenética: hacia la individualización de la terapia farmacológica en Costa Rica. *Acta médica Costarricense*. (2012); 54 (4): 207 – 216.
9. Rodríguez, J., & Rodeiro, I. El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. *Revista Cubana de Farmacia*. (2014). II; 495 - 507.
10. Roblejo H. Polimorfismos del gen CYP2D6 y su relación con la esquizofrenia. (25 de mayo de 2016); 1 – 9.
11. Sosa M. polimorfismo del CYP2D6 en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 de durango (Tesis de Titulación). Instituto Politécnico Nacional. (2013).
12. Gaedigk AR. CYP2D6 Haplotype determination using long range allele-specific amplification resolution of a complex genotype and a discordant genotype involving the CYP2D6*59 allele. *The Journal Molecular Diagnostics*. (06 de 11 de 1015); 17.
13. Ho Y. Presencia de mutaciones en la región exónica 7 del gen CYP2D6 en poblaciones y su posible aplicación en la salud pública (Tesis de Titulación). Universidad San Martín de Porres, Lima , Lima. (2014).
14. Roblejo H. Ruiz IR., Esperón AA., Collazo T. Frecuencia de la variante alélica CYP2D6*6 en una muestra de la población cubana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas cubana*, F. d. (2014); 13 (6): 830-836.
15. Garay J. Variantes polimórficas del citocromo P450 2D6 y su influencia sobre su actividad catalítica debrisoquina 4-Hidroxilasa in vivo” (Tesis de Doctorado). Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago de Chile. (2012).

16. Cerda-Mejía, L. Enzimas modificadoras de la pared celular vegetal (Tesis de Doctorado). Celulasas de interes biotecnológico papelero. *Universitat de Barcelona*. (Julio de 2016).
17. Gómez-Jarabo G. (s.f.). *www.biopsicologia.net*. Obtenido de <http://www.biopsicologia.net/es/nivel-2-glosario/enzima-mao>.
18. Centro Nacional de Información Biotecnológica, B. N. (s.f.). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sviewer/?id=NG_008376.4&search=NG_008376.4:g.9200G%3EC&v=1:100&content=5.
19. Dalia D. El concepto del gen y cromosoma, conocimiento estructural de la biología. Algunas aportaciones desde la investigación en enseñanza de las ciencias. *Revista de Investigación*. (2006).
20. González M. Metabolismo ultrarrápido CYP2D6: variabilidad en población iberoamericana e implicación clínica en salud mental. Universidad de Extremadura - Facultad de Medicina. (2015).
21. Mosquera G. Identificación de polimorfismo en un solo nucleótido en el gen CYP2D6 del citocromo P450, en población sana del Ecuador. escuela politécnica del ejército, Sangolquí. (2010).
22. Villar, M. *Distribución del alelo *4 del Citocromo CYP2D6 en subpoblaciones peruanas*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Lima. (2018).
23. Netic, H. La variación genética del gen CYP2D6 en la población Bosnia. *Original Paper*. (2018).
24. He, X., He, N., Ren, L., Ouyang, Y., Zhang, N., Ma, Y., Jin, T. Análisis de polimorfismos genéticos de CYP2D6 en la población Uygur. *BMC Genomics*. (2016).

25. Semiz, S., Dujic, T., Ostanek, B., Prnjavorac, B., Bego, T., Malenica, M., Causevic, A. Análisis de los polimorfismos CYP2C9 * 2, CYP2C19 * 2 y CYP2D6 * 4 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Bosnian journal of basic medical sciences*. (2010).
26. Ling, L. Análisis de la variación genética en genes CYP450 para implementación clínica. *Genetic variation among CYP450 genes*. (2016).
27. Jin, T., Ma, L., Zhang, J. Y., Sun, Q., Zong, T., Geng, T., Chen, C. Polimorfismos y análisis fenotípico del citocromo P450 2D6 en la población tibetana. Elsevier. (2013).
28. Chan, W., Li, M., Sundaram, S., Tomlinson, B., Cheung, P., & Tzang, C. Frecuencias alelo CYP2D6, variantes de número de copia y tándems en la población Hong Kong. *Wiley Periodicals*. (2018).
29. Brooks, J., Comen, E., Reiner, A., Orlow, I., Leong, S., Liang, X., Lynch, C. CYP2D6 fenotipo, tamoxifeno y riesgo de cáncer de mama contralateral en WECARE estudio. *Breast cancer research*. (2018).
30. Belmont. *PRINCIPIOS Y GUÍAS ÉTICOS PARA LA PROTECCIÓN DE LOS SUJETOS HUMANOS DE INVESTIGACIÓN*. Observatori de Bioètica i Dret, U.S.A. (1979).

ANEXOS

Anexo 1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES DE INVESTIGACIÓN	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICE
Gen <i>CYP2D6</i> exón 8	La enzima CYP2D6 formada por 497 aminoácidos; y se encuentra localizado en el retículo endoplasmático, la cual interactúa con la enzima NADH-P450 reductasa del cual recibe electrones para oxidar diferentes sustratos, no solo se expresa en el hígado, donde se encuentra un aproximado del 2% del contenido total de los CYP, sino también en órganos como el cerebro.	La secuencia del exón 8 del gen <i>CYP2D6</i> obtenido a partir de muestra de sangre extraída del pulpejo del dedo de los individuos procedentes de la comunidad quichua "Tempestad".	Bases nitrogenadas	Región del exón 8 del gen CYP2D6 del genoma humano del banco de genes.

Fecha:

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Ficha N°.....

Código del Participante.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DEL ESTUDIO: Identificación de los polimorfismos de nucleótidos únicos en el exón 8 del gen *CYP2D6*, en pobladores étnicos de la comunidad de Tempestad, Loreto responsables del estudio:

Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra

Docente de la FFB-UNAP

Bach. Christian Vela Luna

Tesista de la FFB-UNAP

Est. Mix Meza Grefa

Estudiante Indígena (Kichwa) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNAP

DECLARACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

Le estamos pidiendo que sea parte de la investigación. El propósito de este consentimiento informado es darle la mayor información que usted necesite para usted voluntariamente quiere decidir ser parte de este estudio. Por favor lea este documento cuidadosamente. Puede hacer preguntas acerca del propósito de esta investigación, acerca de los procedimientos y pruebas a realizar, los posibles riesgos y beneficios, sus derechos como participante voluntario, o cualquier otro aspecto acerca de esta investigación o de este documento que no esté claro para usted. Cuando hayamos respondido a todas sus preguntas, puede decidir si usted quiere formar parte del estudio.

Si está de acuerdo en participar en este estudio le pediremos que firme el formato de consentimiento o coloque su huella dactilar en presencia de un testigo. Este proceso se llama "**consentimiento informado.**" Le daremos una copia de este formulario para sus archivos personales.

PROPÓSITO DE ESTE ESTUDIO

La farmacogenética, se refiere a un apartado de la farmacogenómica que estudia las variaciones en las características del ADN y su relación con la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos. Existen más de treinta familias de enzimas metabolizadoras, sin embargo, la superfamilia de los Citocromos P450 (CYP) con 144 enzimas, son hemoproteínas ubicadas en las membranas mitocondriales, del retículo sarcoplásmico (microsomas) y otras membranas. Estas enzimas participan en las reacciones metabólicas de xenobióticos como los fármacos, siendo los citocromos CYP2D6 y el CYP2C19 los más relevantes en el metabolismo de los fármacos. Las mutaciones de los genes CYP2D6 pueden causar ausencia de la enzima, disminución de su expresión, enzimas con alteraciones en su especificidad de sustrato o un aumento de la expresión génica que afectaría el metabolismo y la depuración de los fármacos y su actividad terapéutica. Esperamos que este estudio haga posible que aprendamos más acerca del por qué y para que la determinación del tipo de metabolizador de las personas es importante para la farmacoterapia. Los responsables de este estudio buscan conocer más acerca del tipo de metabolizador de fármacos son los individuos de nuestra población y su implicancia en la prescripción de fármacos.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Si acepta ser parte de este estudio, usted será parte de un grupo importante de veinte (20) participantes. Se le pedirá que responda un cuestionario con preguntas acerca de usted, para conocer aspectos de filiación, procedencia y clínicos. Usted puede rehusarse a contestar cualquiera de estas preguntas. Habrá un miembro del equipo del estudio para responder cualquier duda que pudiera tener.

Se le tomará una muestra de hisopado bucal y/o sangre del brazo, se extraerá unas gotas de sangre del pulpejo del dedo. Esta muestra será usada para averiguar su variabilidad genética, los resultados serán dados aproximadamente 2 meses antes de terminar el estudio que durará un año.

La farmacéutica responsable del estudio le dará sus resultados personalmente y en forma confidencial. Nadie más puede recoger sus resultados.

Para cuidar su confidencialidad, todas las muestras y documentos serán codificados. Sólo algunas personas claves del equipo del estudio tendrán acceso a los códigos y nombres.

Se le brindará información sobre su tipo de metabolizador.

Si hubiera muestra sobrante se almacenará para uso en estudios futuros previa autorización del participante.

RIESGO, ESTRÉS E INCOMODIDADES

Algunas preguntas podrían darle vergüenza o hacerlo sentir incómodo. Usted puede negarse a responder las preguntas, si así lo desea. De aceptar se le extraiga una muestra de sangre usted podría sentirse un poco incómodo debido al pinchazo con la aguja que se usa. Puede que quede un moretón en la piel debido a la toma de la muestra.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

La participación en este estudio podría significar pérdida de privacidad, por la información que usted nos está brindando, pero dicha información será de utilidad para usted al momento de recibir determinada farmacoterapia. Su participación nos ayudará a conocer a la población Loretana acerca del fenotipo metabolizador de fármacos. Como le ha sido explicado, en las fallas terapéuticas hasta ahora no habían considerado el componente genético. Sin embargo, el estudio ayudara a que la población loreтана reciba un tratamiento más idóneo a fin de llegar en un futuro próximo a la terapia individualizada.

RETIRO TEMPRANO

La participación es completamente voluntaria. Si decide participar del estudio, usted puede retirarse del estudio en cualquier momento sin ningún tipo de castigo o pérdida de beneficios que usted normalmente recibiría. Usted puede rehusar a responder cualquier pregunta, si no quiere responderla usted seguirá formando parte del estudio.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN

Puede haber otras formas a través de las cuales usted puede obtener información acerca de farmacogenética. Si lo desea, le informaremos acerca de sitios web y otros centros disponibles que sepamos le puedan brindar información.

OTRA INFORMACIÓN

Esta prueba es gratuita. Si hubiese algún daño como consecuencia de su participación en este estudio, usted recibirá inmediatamente las indicaciones para el tratamiento del daño. Sin embargo, el costo de este tratamiento no será cubierto por esta institución.

No hay compensación monetaria a través de esta institución o cualquiera de las instituciones financiadoras. No perderá ninguno de sus derechos legales por firmar este documento.

Se tomarán todas las medidas para mantener su información personal privada. No podemos garantizar confidencialidad absoluta. Su información personal podría ser publicada protegiendo su identidad. Su nombre o identificación personal no se incluirá en ninguna publicación del estudio.

Sus registros serán guardados en una cabina de archivos asegurada en la oficina del Instituto de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y la base de datos electrónica estará en la oficina del investigador principal en FFB-UNAP en una computadora que sólo personal clave tendrá acceso. Para identificarlo en los documentos de nuestro estudio, usted recibirá un código de identificación en lugar de su nombre.

Si tiene alguna pregunta, siéntase libre de hacerla. En el futuro, si tiene otra pregunta relacionada al estudio o a daños relacionados a este estudio, usted debe contactar a la Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica al teléfono 965614092 en cualquier momento.

Firma de la Investigador a

Nombre

Fecha

DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE

Me han explicado que el estudio “Identificación de los polimorfismos de nucleótidos únicos en el exón 8 del gen *CYP2D6* en pobladores étnicos de la comunidad de tempestad, Loreto” con el objetivo de determinar los polimorfismos de nucleótidos únicos en el exón 8 del gen *CYP2D6*. Decido voluntariamente a ser parte de esta investigación. He tenido la oportunidad de hacer preguntas. Si en el futuro tengo preguntas sobre el estudio, puedo hacérselas a uno de los investigadores listados arriba. Si tengo preguntas acerca de mis derechos como un participante del estudio, puedo llamar a la Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica al teléfono 965614092

Autorizo a almacenar muestra sobrante de sangre para uso en estudios futuros. (SI) (NO)
Como está descrito en este documento. Recibiré una copia de este documento de consentimiento informado.

_____	_____	_____
Nombre del participante (Letra imprenta)	Firma	Fecha
		<input type="text"/>
Si el participante es analfabeto: Huella digital del Participante		

_____	_____	_____
Nombre del testigo (Letra imprenta)	Firma del testigo	Fecha

Copia para: Investigador

Participante

Consentimiento informado en Quichua
ÑUKA MUNASKA SHINA KANKUNAMA KUNI

FICHA N°.....

YACHANKAPA KUNAMANTA YUPAY.....

YACHANA KUNA MANTA MUNASKA SHINA KANKUNAMA KUNI: Ñukanchipa aycha ukupi tiyan, hampikunata sumakta ñukanchipa aychapi charinkapa ruranchi, mana miraykuta waklichisa, mana parihu yawaryu runa manta, ministinchi mushu hampi kunata tupankapa ñukanchi luritu kawsana pampapi.

MUSHUK YACHAYKUNATA RURAKAMA KUNA:

Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra

Docente de la FFB-UNAP

Bach. Christian Vela Luna

Tesista de la FFB-UNAP

Est. Mix Meza Grefa

Estudiante Indígena (Kichwa) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNAP

KAY MUSHUK YACHAYKUNATA RURAKAMA KUNA RIMANAKUN

Ñukanchi mushuk yachaykunata tupankapa kankunamamañanchi, chayrayku kan ñuka munaskashinata kuyarawanki. Kayta allita kankuna rimasa ruranchi sumakta yachankapa, chaypa kanta mañani allita ñawinchankapa, tapunayasa tapuyushanki tukuy ñukanchi ruraskakuna manta, maykanpika allí, maykanpi mana allí, tukuy ñuka tapuyta kutipaskawasha kan rima ushanki; yanapanayani kankunama yawarta surkusa. Ñukanchita yanapanayasa kan churana kanki kampa makididumanta silluta.

KAY MUSHUK YACHAYKUNATA TUPANKAPA

Ñukanchipa aycha ukupi tiyaska unkuykunata tupanayasa mushuk hampikunata maskaranchi.kay mushuk hampikuna wakliyachin ADN rimaskawa, paykuna ñukanchipa aycha ukupi sumakta llutarinakun. Chayrayku tukuy, aycha ukupi tiaskakunata riksinayanchi; ñukanchipa yawar ukupi tiyan achkalaya hanpikuna, kaypi tupanchi kinsa chunka miraykunata; Ñukanchipa aycha ukupi tiyan, hampikunata sumakta ñukanchipa aychapi charinkapa ruranchi, mana miraykuta waklichisa, kayta ruranchi ñupama mushuyachinkapa tukuylaya hampikunata.

YACHARASKA KUNATA RURANKAPA

Kay ñuka mañaraskata kan yanapanayasa kan sakirinki hatunbulapi, ñukanchi ministiranchi Pichka Chunka runa miraykunata, chaypa washa kanta mañarinka kutipankapa kampa

partimanta shuk tapuna kunata yachankapa mushuk yachay kunata, kan ushanki kutipankapa kan munaska shina tukuy tapuykunata, kay yacharaska kunata mana yachasa kan tapuy ushanki.

Ministirinka kampa aychapi chariskata surkunkapa, chaykuna kanakun; kan shimipi chariskata, chaymanta maki brasumanta yawar 0,8 mL. Tukuy ñukanchi kampa manta surkuska kunata aparinka ñukanchipa yacharaska wasima tukuy kan chariskata yachankapa paypa munaska kuna kanakun ishkay killa manara shuk wata tukuskapi. Kay yacharaskata kuy ushanka shuk yachachikama mana shukuna.

Kan chariskakunata kuyrankapa, tukuy ñukanchi kampamanta surkuska kunata wakachirinka sumakta shuk yachachi kamalla yachanka, chaypa washa kanta rima usharinka imaylayata tiyan kampa aycha ukupi.

Kanta surkuskata yalipi, chayta wakachirinka ñupama yachayta rurankapa, kanta tapuska washa.

MANA YAPA MANCHAYPA

Maykan tapuykuna pinkayta kunakunka. Kan ñukanchipa tapuykunata mana kutipanayasa mana kutipanki. Kanta surkurinka kampa yawarta kan munaskawasha, yawarta surkunkapa ministinchi kamka maki diduta tuksinkapa, chay tuksiska uraspi kanta mana allí yachinka.

KAY YACHAYKUNA KAN SUMAK KUNATA TUPANKAPA

Kayta ruranayasa kampa kawsayta suklayata ruranka, chaypa washa hampikunata upiasa kanta allita kawsachinka, tukuykay mushu yachay kunata tupankapa kan ñukanchita achkata yanaparanki, tukuy kan mushu hampikunata charinkapa maskaranchi ñukanchi kawsaska luritu pampapi tiya miraykunata; chayta tupaska washa ña usharinka tukuy laya unkuy kunata hampinkapa.

TUTAMANTA ANCHURINA

Tukuy kay yacharakunata mana munasa, kanllukshiushanki kan munaska uraspi, llukshiska washa kanta nimapi mana urayachinka, tukuy llukshinka kan imasna kaskashina.

KANKUNAWA MUSHUK YACHAY KUNATA TUPANKAPA

Ñukanchi yachaskakunata; kankunama mana gasta chirinka nimata; kamkuna mana allí yaripi ñukanchi kankunata hampi usharinka chay urasllapi, kay yachayta tukuchiskawasha ñukanchi mana satiririnka kankunawa. Chaypawasha tukuy ñukanchi ruraskata wakachirinka sumakta, kankunapa shutikuna mana llukshinkashun kaykunapi.

Tukuy kampapi yachaska kunata mana shukuna rikunkapa sumakta wakachirinka ñukanchipa hatun yachaywasipi (Facultad de Farmacia y Bioquímica) tukuy chayta ñukanchilla yachayusharinka, chasnallata wakachirinka kay (oficina del Ivestigador principal en FFB-UNAP) shuk makinapi.

Kay ñukanchi ruraskakunata tupanayasa, kanta kurinka shuk yupayta kampa shutiwa, tukuy kay yacharaska kunamanta.

Shuk tapuyta ruranayasa, kan kayay ushanki, maska ushanki kay mushu yachaska hampi kunamanta, ñukata kayay ushawankichi kankuna munaska uras **Mix Meza Grefa**, **Teléfono-RPM: 958648046** kayankapa ushanki kan ministiska uraspi ñukata mana tupa ushasa ñukapa yachachi kamata pay kan **Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay** paypa teléfono kan **965614092**.

Mushuk YachaytaMaskakama

Shutik

Puncha

TUKUYTA YACHASKA WASHI RIMANI

Ñukata rimawanakurka kay yachay kunamanta. Kuna ñuka munani kankunapa trabahuta sumakta rurankapa. Charirkani tapuy kunata rurankapa kankuna yacharaska kunamanta. Tapuykunata ruranayasa ñukata kaya ushawanki, kaypi churani ñukapa shutita Mix Meza Grefa, Telefono-RPM: 958648046 kayankapa ushankichi kankuna ministiskauraspi mana ñukata tupa ushasa kaya ushakichi kay ñukapa yachachi kamata pay kan Q.F. Frida Enriqueda Sosa Amay al teléfono 965614092 RPM *126074.

Kankuna minishtisa ñukapa aychamanta apaskata wakachi ushankichi chayta rimani ñuka (Ari) (Mana)

Ñupama rimaska shinata kaypi churani.

.....

Shuti Hawi Pucha

Shutik

Pucha

(Letra imprenta)

Si en participante es analfabeto: Huella digital del participante

