

## Tesis de Maestría

# Frecuencia de las variantes alélicas de CYP3A5 en población argentina adolescente : su posible asociación con la hipertensión

Fernández Gianotti, Tomás

2005

Tesis presentada para obtener el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires en Biología Molecular Médica de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Master's and Doctoral Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Fernández Gianotti, Tomás. (2005). Frecuencia de las variantes alélicas de CYP3A5 en población argentina adolescente : su posible asociación con la hipertensión. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis\\_n4208\\_FernandezGianotti](http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4208_FernandezGianotti)

**Cita tipo Chicago:**

Fernández Gianotti, Tomás. "Frecuencia de las variantes alélicas de CYP3A5 en población argentina adolescente : su posible asociación con la hipertensión". Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2005.

[http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis\\_n4208\\_FernandezGianotti](http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4208_FernandezGianotti)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

**FCE y N BIBLIOTECA**

**MAESTRÍA EN BIOLOGÍA MOLECULAR MÉDICA**

**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**TESIS**

**Frecuencia de las variantes alélicas de CYP3A5 en población  
argentina adolescente: su posible asociación con la  
hipertensión.**

**Bioq. Tomás Fernández Gianotti**

**Director: Prof. Dr. Carlos Pirola**

**Co Directora: Dra. Silvia García**

**Laboratorio de Cardiología Molecular**

**Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari**

**Buenos Aires, Argentina**

**77823**

Abril 2005

Quisiera expresar mi agradecimiento a:

El Prof. Dr. Carlos Pirola y la Dra. Silvia García por haberme permitido incursionar en este muy interesante campo de la ciencia. Especialmente agradecido por su constante apoyo, estímulo y entusiasmo para la realización de este trabajo, y despertar mi interés hacia esta tarea tan difícil que es la investigación. Quiero destacar la calidez y lo muy bien recibido que fui por ustedes y su grupo de trabajo, que hicieron que me sintiera muy cómodo.

La Universidad de Buenos Aires, a través del Director de la Maestría en Biología Molecular Médica, Dr. José Mordoh, por haberme aceptado para la realización de la maestría, y por el otorgamiento de la media beca, que sin ella hubiese sido muy difícil realizarla.

Los profesores y ayudantes de las distintas materias dictadas, por su vocación a la docencia y transmisión de conocimientos.

Azucena, Silvina, Natalia, Adriana, Carolina, Silvia y Mariano por su colaboración, y por la calidez humana que me brindaron.

Mis padres y mi hermana por su incondicional apoyo.

Simplemente Gracias,

*Tomás*

## CONTENIDO

<b>Resumen.....</b>	<b>4</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>6</b>
<b>Citocromo P450.....</b>	<b>6</b>
<b>CYP3A.....</b>	<b>8</b>
<b>CYP3A4.....</b>	<b>9</b>
<b>CYP3A7.....</b>	<b>10</b>
<b>CYP3A43.....</b>	<b>10</b>
<b>CYP3A5.....</b>	<b>10</b>
<b>Síndrome Metabólico.....</b>	<b>11</b>
<b>Obesidad.....</b>	<b>12</b>
<b>Hipertensión.....</b>	<b>12</b>
<b>Objetivo.....</b>	<b>14</b>
<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>22</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>20</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>25</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>28</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>29</b>

## **RESUMEN**

Las isoenzimas CYP3A forman la mayor porción de proteínas del citocromo P450 en hígado, y se expresan en distintos órganos. CYP3A son responsables del metabolismo de más del 50% de las drogas en uso y de esteroides endógenos.

De las 4 isoenzimas CYP3A, la isoforma CYP3A5 es la que presenta mayor variabilidad de expresión interindividual. El mayor determinante de esta variación es un polimorfismo de nucleótido simple (SNP), g.6986A>G. El alelo CYP3A5\*1 (g.6986A) correlaciona con alta expresión de CYP3A5, mientras que el alelo CYP3A5\*3 (g.6986G) da por splicing alternativo una proteína trunca, sin función. Estudios recientes de otros investigadores han mostrado en una población afroamericana adulta, agrupados en base a este SNP, diferencias significativas en la presión arterial sistólica y media.<sup>11</sup>

Dada la asociación entre hipertensión, obesidad, diabetes y dislipemia, características del Síndrome Metabólico, fue nuestro interés determinar las frecuencias de las variantes alélicas g.6986A>G de CYP3A5 y estudiar su posible asociación con la hipertensión o la obesidad en población argentina adolescente.

Se estudiaron dos poblaciones de adolescentes, una del interior de Buenos Aires (Población I) y la otra de Capital Federal (Población II). Población I: 175 adolescentes (15±2 años): 121 normotensos (71 mujeres) y 54 hipertensos (22 mujeres), de los cuales 17 eran obesos (BMI >percentilo 95 por sexo y edad). Ambos grupos mostraron diferencias significativas en HDL-colesterol, triglicéridos e insulinemia. Población II: 112 adolescentes (11.5±1.7): 52 no obesos (21 mujeres) y 60 obesos (30 mujeres), y con diferencias significativas en presión arterial sistólica, HDL-colesterol, glucemia, insulinemia e índice HOMA.

La genotipificación del SNP g.6986A>G en las 2 poblaciones se realizó por PCR-RFLP (*SspI*).

En la población I, la frecuencia alélica de CYP3A5\*3 en normotensos fue de 0.888 y en hipertensos de 0.935 (en equilibrio de Hardy Weinberg), no encontrándose asociación entre la hipertensión con el genotipo de CYP3A5 estudiado ( $\chi^2$ , NS). Sin embargo, sí se observó que todos los obesos fueron genotipo CYP3A5\*3 homocigota ( $\chi^2$ , p<0.05). Se evaluó el cortisol sérico por RIE y no se encontró diferencias entre obesos y normales o entre individuos según los genotipos de CYP3A5 (t-test, NS). En la población II, la frecuencia alélica de CYP3A5\*3 en no obesos fue de 0.913 y en obesos de 0.917 (en equilibrio de

Hardy Weinberg). No se encontró asociación entre la obesidad con algún genotipo de CYP3A5 ( $\chi^2$ , NS).

Nuestros resultados estiman que aprox. el 80 % de la población presenta el genotipo CYP3A5\*3 homocigota, escasa o nula expresión de CYP3A5. Estos datos concuerdan con otros estudios realizados en población caucásica.

En la población adolescente estudiada no se encontró asociación entre la hipertensión con algún genotipo o alelo de CYP3A5.

La asociación encontrada entre la obesidad y el genotipo homocigota de la variante CYP3A5\*3 en la población I, con un pequeño número de individuos obesos, no pudo ser reproducida en otra población de diferente origen geográfico. Para asegurar una conclusión final se necesitaría repetir este estudio con un mayor número de individuos.

Por ahora podemos concluir que el genotipo de CYP3A5 no participaría en la hipertensión o en la obesidad como componentes del Síndrome Metabólico.

## **INTRODUCCIÓN**

### **Citocromo P450**

El metabolismo de drogas y otras sustancias exógenas (xenobióticos) es catalizado por una batería de enzimas que también están involucradas en el metabolismo de sustancias endógenas como hormonas esteroideas, ácidos biliares, ácidos grasos y bilirrubina. Estas enzimas están ampliamente distribuidas en el organismo, pero predominan en sitios expuestos a altas concentraciones de xenobióticos como el hígado, pulmón, intestino y riñón. El tamaño del hígado y su alta concentración de estas enzimas lo convierten en el órgano con mayor influencia en el metabolismo de drogas. Las reacciones involucradas en el proceso de metabolización de drogas pueden considerarse que tienen lugar en dos fases. Las reacciones de fase I consisten en reacciones de oxidación y reducción, o hidrólisis, que en general producen un aumento en la polaridad de la molécula, con lo que aumenta su solubilidad en agua. Las reacciones de fase II son reacciones de conjugación, en las cuales el fármaco o metabolito procedente de la fase I se acopla a un sustrato endógeno, aumentando así el tamaño de la molécula, con lo cual casi siempre se inactiva. En definitiva, los productos resultantes tienden a ser compuestos polares, hidrosolubles, y por lo tanto, más fácilmente eliminados por la orina y por la bilis.<sup>1, 2</sup>

Es frecuente que un fármaco origine un número elevado de metabolitos, unos pueden ser inactivos, y otros activos desde un punto de vista terapéutico o tóxico. La variedad de metabolitos y la concentración de cada uno de ellos dependerán de la dotación enzimática de cada individuo. Los procesos de metabolización, junto con los de excreción tienden a reducir la concentración del fármaco en el plasma. La biotransformación está sometida a una gran variación individual, que es la que más contribuye a que dosis iguales consigan niveles plasmáticos distintos en individuos diferentes.<sup>2</sup>

Con el término de citocromo P-450 se denomina a un grupo de hemoproteínas que en su mayor parte son monooxigenasas. En la actualidad ya se han caracterizado más de 150 formas diferentes, que constituyen una superfamilia genética. Casi todos los tejidos de mamíferos, especialmente el hígado e intestino delgado, poseen uno o más de estos citocromos que se localizan en varias organelas, aunque principalmente lo hacen en el retículo endoplásmico y en las mitocondrias. Aunque algunas de las formas de citocromo P-450 son específicas de un determinado sustrato, la mayoría de ellas catalizan gran número

de reacciones metabólicas a la vez. Asimismo, un mismo sustrato puede ser metabolizado por más de una de estas formas. Los citocromos P-450 participan en el metabolismo de numerosas sustancias endógenas, como esteroides, ácidos grasos, eicosanoides, hidroperóxidos lipídicos, retinoides y acetona. También se sabe que distintos productos químicos ambientales son sustratos de las enzimas citocromo P-450: fármacos, solventes orgánicos, pesticidas, hidrocarburos, alcoholes, antioxidantes, sustancias carcinógenas y muchas sustancias naturales como alcaloides. Estas monooxigenasas representan una primera línea de defensa contra sustancias xenobióticas, potencialmente tóxicas, que al incrementar su hidrofilia, se facilita su excreción.<sup>2,3</sup>

Las diversas formas de citocromo P-450 se encuentran ampliamente representadas en la naturaleza, desde las plantas hasta los mamíferos, por lo que se considera que provienen de un gen de gran antigüedad y muy conservado. Se agrupan en familias y subfamilias en base a su homología en las secuencias de aminoácidos. Se nombran con el prefijo CYP, seguido del número que designa la familia, una letra que indica la subfamilia y un número que marca la forma individual (isoforma). Cada isoforma es el producto de un gen separado, y estos genes, dentro de la misma subfamilia, pueden tener una considerable homología de secuencia. Cuando una isoforma es polimórfica y tiene variantes que metabolizan la misma droga en forma rápida o lenta en individuos distintos, a esas variantes polimórficas se les asignan un número luego de un asterisco (Ej.: CYP3A5\*1 describe al miembro 3 de la familia CYP, subfamilia A, isoforma 5, variante polimórfica 1). Estos polimorfismos enzimáticos son un fenómeno común en la familia CYP, se heredan en forma mendeliana, y son la mayor causa de diferencias interindividuales e interétnicas en las tasas de metabolización de drogas.<sup>1,2</sup>

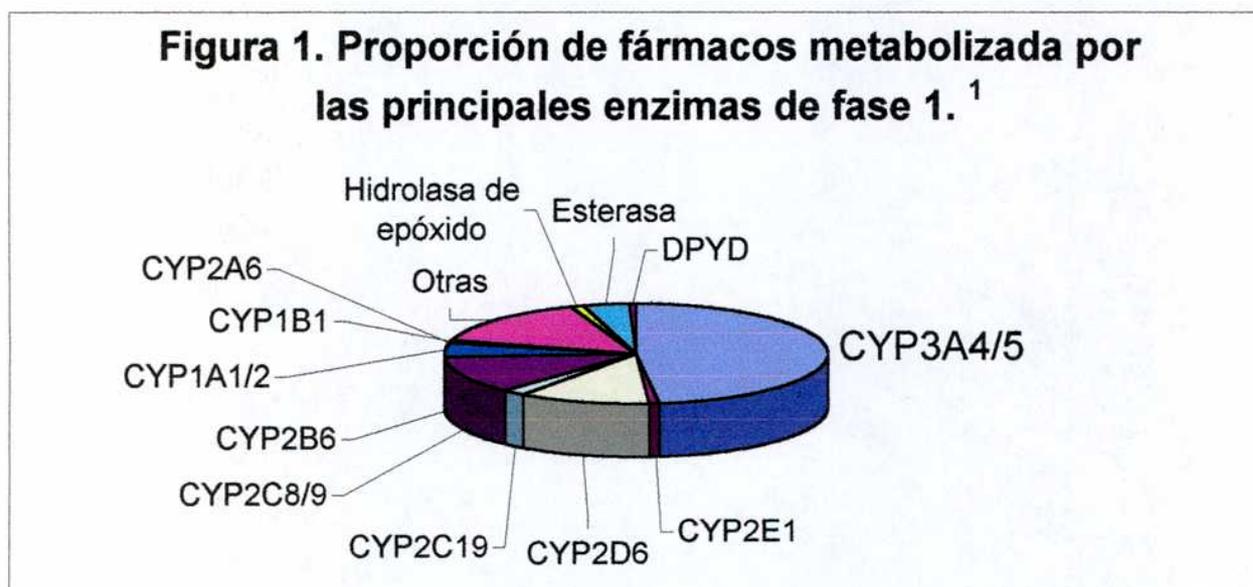
Otra característica de los CYP es que pueden responder a los constantes cambios del tipo y cantidad de droga que encuentran. El aumento en la actividad de CYP es el resultado de la inducción enzimática, mientras que la disminución en su actividad sigue a la inhibición.<sup>1,2</sup>

En el genoma humano hay presentes aproximadamente 55 genes CYP diferentes. La familia CYP ha crecido a través de procesos de duplicación de genes y conversión de genes. La metabolización de xenobióticos es principalmente llevada a cabo por 3 miembros de la familia CYP: CYP1, CYP2 y CYP3.<sup>4,5</sup>



**CYP3A**

De las proteínas CYP humanas, los miembros de la subfamilia CYP3A son los de mayor importancia ya que colectivamente forman la mayor porción de proteínas CYP en hígado. La importancia farmacológica de CYP3A está dada por su expresión en todos los órganos mayores que contribuyen a la deposición de drogas, tracto gastrointestinal, hígado y riñón. Se estima que entre el 45 – 60% de las drogas en uso y esteroides endógenos son sustrato de CYP3A (figura 1). Algunas de las drogas son: antidepresivos, benzodiazepinas, agentes inmunosupresores, esteroides, antimicóticos imidazoles, antibióticos macrólidos, y toxinas. El alto grado de similitud entre las proteínas CYP3A, y datos experimentales disponibles han llevado a asumir que las isoformas de CYP3A tienen similar espectro de sustratos. Sin embargo, algunos estudios indican la posibilidad de diferencias.<sup>3,6,7</sup>

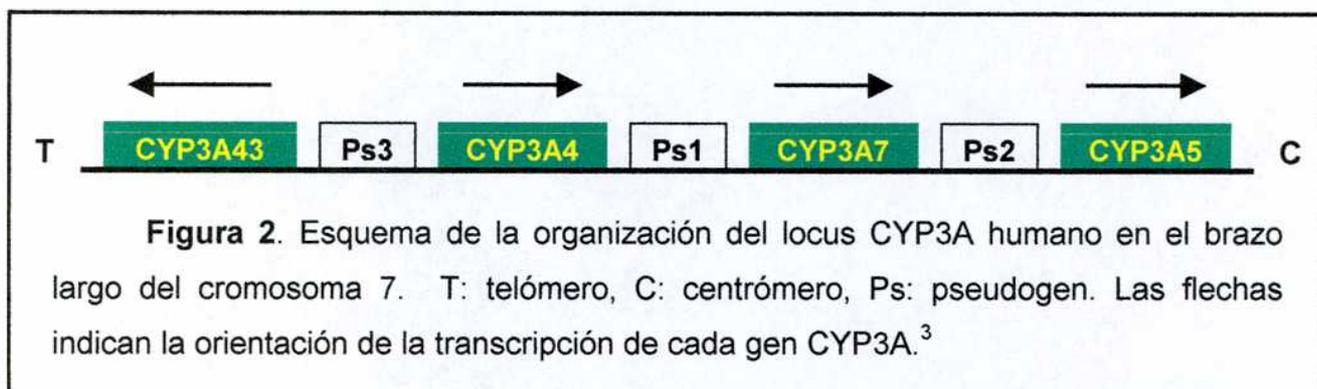


Generalmente se acepta que las enzimas CYP3A juegan un rol dominante en la eliminación metabólica de muchas drogas en comparación con otras enzimas de biotransformación. La variabilidad en el contenido o función de la enzima puede tener un efecto profundo en la exposición a drogas, y en la eficacia y seguridad de las mismas. La variabilidad interindividuo en la expresión constitutiva de CYP3A puede deberse a múltiples causas, estas incluyen al control de la transcripción de los genes por moléculas endógenas como las hormonas, y moléculas exógenas de la dieta y medio ambiente; y a polimorfismos genéticos.<sup>8</sup>

Las diferencias interindividuales en la expresión de CYP3A, en algunas poblaciones mayor a 30 veces, contribuyen a la variación en la biodisponibilidad y clearance de sustratos

de CYP3A, como inhibidores de proteasas del HIV, algunos bloqueadores de canales de calcio, y algunas drogas que disminuyen los niveles de colesterol. También estas variaciones son importantes en drogas usadas en quimioterapia, e inmunosupresores como ciclosporina A y tacrolimus, ya que se pueden tener diferentes resultados clínicos en la toxicidad de la droga y la respuesta al tratamiento. Además, CYP3A metaboliza estrógenos a 2-hidroxiesterona, 4-hidroxiesterona y estrógenos 16 $\alpha$ -hidroxilados, todos ellos implicados en carcinogenicidad mediada por estrógenos. Las variaciones en CYP3A posiblemente influyan en los niveles circulantes de estos estrógenos y en el riesgo de cáncer de mama.<sup>4</sup>

El locus CYP3A humano (231 Kb) está ubicado en el cromosoma 7q21.1 y contiene 4 genes: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43 (recientemente incorporado) y 3 pseudogenes (figura 2). Aunque los genes CYP3A están adyacentes uno del otro, están regulados de forma diferente.<sup>3,4</sup>



### CYP3A4

Dentro del grupo CYP3A ya descrito, la isoenzima CYP3A4 se considera una de las más importantes de la subfamilia en la vida adulta ya que representa la mayoría del contenido proteico y de ARNm de esta subfamilia ubicada mayoritariamente en hígado e intestino.<sup>8,9</sup>

Variaciones genéticas encontradas en regiones intrónicas y exónicas del gen posiblemente influyan en el nivel o función de la proteína CYP3A4, pero en los estudios realizados en adultos se ha encontrado ARNm completo, no habiendo evidencias de la existencia de alelo nulo para CYP3A4.<sup>8</sup>

### **CYP3A7**

Por el contrario, durante la vida fetal, la proteína predominante es la CYP3A7. Su expresión parece silenciarse apenas luego del nacimiento. Sin embargo, se ha descrito que algunas personas expresan CYP3A7 en la adultez.<sup>4, 8</sup>

### **CYP3A43**

La identificación del gen CYP3A43 ha sido reportada recientemente. Se ha detectado transcripción del gen en hígado, riñón, próstata y páncreas, observándose que los niveles de ARNm en hígado son muchos más bajos que los de CYP3A4.<sup>3, 8</sup>

### **CYP3A5**

La isoenzima CYP3A5 se encuentra en hígado e intestino, y es el principal miembro de la familia CYP3A que se expresa en células de riñón, pulmón, próstata, mamas y leucocitos polimorfonucleares.<sup>8</sup>

Su expresión es claramente polimórfica, con individuos que presentan niveles relativamente altos o bajos de la proteína. En población caucásica adulta se ha encontrado una sobreexpresión hepática de CYP3A5 de aproximadamente 10 veces en el 10% de los individuos, mientras que el resto mostró una actividad menor. Es posible anticipar que factores genéticos, que controlan la expresión polimórfica de CYP3A5 contribuyan a las diferencias interindividuales en el clearance de algunos sustratos de CYP3A. Debido a que la especificidad por sustratos de CYP3A5 y CYP3A4 está superpuesta, es difícil separar la contribución relativa de estas 2 enzimas al metabolismo mediado por CYP3A<sup>6, 8</sup>. Algunas drogas con las que interactuaría CYP3A5 son: antineoplásicos (vincristina, vinblastina, paclitaxel), antirretrovirales (ritonavir), inmunosupresores (prednisona, ciclosporina, tacrolimus), psicofármacos (fluoxetina, diazepam), antiarrítmicos (amiodarona, diltiazem), antihipertensivos (amlodipina, nifedipina), antibióticos y antimicóticos, y otras<sup>10</sup>.

El alelo correspondiente a la expresión de la proteína de 502 aminoácidos fue designado CYP3A5\*1<sup>8</sup>. El polimorfismo de nucleótido único (SNP) en el gen CYP3A5 más frecuente y funcionalmente importante es la transición g.6986A>G en el intrón 3 (CYP3A5\*3). Este SNP fue descrito por Kuehl y col<sup>4</sup> en el nt 22893 del gen CYP3A5 (Gen

Bank N°: AC 005020). Luego, por un cambio en la consideración del nt +1, cambió la nomenclatura y pasó a llamarse g.6986A>G<sup>6</sup>. Este SNP es el mayor determinante en la variación de la expresión de CYP3A5, ya que crea un sitio de splicing alternativo dando un ARNm aberrante que contiene 131 bp de la secuencia del intrón 3 insertadas entre los exones 3 y 4. Esta inserción resulta en un corrimiento del marco de lectura (frameshift) dando una terminación prematura de la proteína en el aminoácido 102. El alelo CYP3A5\*1 (g.6986A) está asociado a la expresión de esta isoenzima en hígado, riñón e intestino, mientras que distintos trabajos confirman que el genotipo CYP3A5\*3/\*3 se asocia con niveles muy bajos o indetectables de la proteína CYP3A5 en hígado. La variante alélica CYP3A5\*3 (g.6986G) es común en distintos grupos étnicos estudiados, aunque está presente en distinta frecuencia alélica. En este caso, la variante alélica CYP3A5\*3 es más prevalente que el alelo CYP3A5\*1 en la mayoría de la población. El alelo funcional CYP3A5\*1 tiene una frecuencia reportada de 5-15% en Caucásicos y 45-73% en Afroamericanos. En la población china la frecuencia alélica es de 27-35%, en la coreana de 30%, en la japonesa de 23-29%, en la mexicana de 25% y 40% en indios del sudoeste asiático. Estos datos sugieren una significativa diversidad étnica para el alelo CYP3A5\*1 que posiblemente tenga gran importancia y consecuencias clínicas.<sup>4, 8, 11</sup>

Debido a que CYP3A5 representa a por lo menos el 50 % del contenido total de CYP3A hepático en personas que expresan CYP3A5, este gen puede ser el contribuyente más importante a las diferencias interindividuales e interraciales en el clearance de las drogas CYP3A-dependientes.<sup>4</sup>

Hasta el presente, por métodos de secuenciación se han descrito nuevas variantes alélicas que se denominan CYP3A5\*2, \*4, \*5, \*6 y \*7, pero su frecuencia en población Caucásica es menor al 1%. Para la identificación de todas las variantes alélicas de CYP3A5 con el propósito de screening, se han desarrollado distintos ensayos de PCR-RFLP que permiten la identificación en un número grande de individuos.<sup>9</sup>

### **Síndrome Metabólico**

El Síndrome Metabólico o Síndrome X presenta 6 componentes, Obesidad Abdominal, Dislipemia Aterogénica, Hipertensión, Resistencia a la Insulina / Intolerancia a la Glucosa, Estado Proinflamatorio y Estado Protombrótico, que están asociados al aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular en adultos. El individuo adulto que presenta 3 o más de los siguientes componentes se define que presenta Síndrome Metabólico:<sup>12, 13</sup>

1. Obesidad Abdominal: circunferencia de la cintura >102 cm (hombres) o >88 cm (mujeres).
2. Hipertrigliceridemia:  $\geq 150$  mg/dL.
3. Bajos niveles en sangre de HDL-Colesterol: <40mg/dL (hombres) o < 50 mg/dL (mujeres).
4. Hipertensión:  $\geq 130/85$  mmHg.
5. Elevada glucemia en ayunas:  $\geq 110$  mg/dL.

En el año 2001, aproximadamente el 22% de los adultos de los E.E.U.U. presentaban el Síndrome Metabólico, aumentando la prevalencia con la edad.<sup>14</sup>

El desarrollo de este síndrome involucra efectos múltiples e interactivos de genes y factores ambientales, incluyendo la inactividad física y la dieta rica en grasas.<sup>15</sup>

## **Obesidad**

La prevalencia del Síndrome Metabólico en chicos y adolescentes de los EEUU es alta y se incrementa con el grado de obesidad. Es alarmante que más del 10% de los chicos entre 2 y 5 años y aproximadamente el 15% de entre 6 y 19 años tengan sobrepeso. En chicos y adolescentes, el sobrepeso se define como un Índice de Masa Corporal (BMI) > al percentilo 85 corregido por sexo y edad, y la obesidad como un BMI > al percentilo 95 corregido por sexo y edad.<sup>12, 16, 17</sup>

En humanos se han caracterizado varias formas monogénicas de obesidad que resultan de mutaciones en genes involucrados en la regulación de la ingesta de alimentos. Sin embargo, estos casos son raros y en general, la obesidad debe ser considerada como una enfermedad poligénica compleja que involucra interacciones entre múltiples genes y el medio ambiente. Numerosos estudios, incluyendo trabajos en chicos, han tratado de identificar genes asociados a la obesidad.<sup>18</sup>

## **Hipertensión**

La hipertensión es una enfermedad genética compleja y principal causa de infarto de miocardio, falla cardíaca, enfermedad vascular, derrame cerebral y falla renal. La hipertensión arterial es una enfermedad poligénica y multifactorial que resulta de la

interacción del medio ambiente con un conjunto de genes que confieren riesgo y/o protección.<sup>19, 20</sup>

Dado que CYP3A5 es el principal miembro de la familia CYP3A que se expresa en células fuera del hígado e intestino, puede tener una importante función fisiológica en esos tejidos. Por ejemplo, en el riñón, CYP3A5 puede mediar el metabolismo de cortisol a 6 $\beta$ -hidroxicortisol, un regulador fisiológico del transporte de Na<sup>+</sup> en el epitelio renal. La expresión renal polimórfica y variable de CYP3A5 puede contribuir a diferencias localizadas en la generación de 6 $\beta$ -hidroxicortisol en el nefrón, y puede jugar un rol etiológico, por ejemplo, en la hipertensión sensible a sal, por el incremento en la retención renal de Na<sup>+</sup>. Es interesante notar que la hipertensión renal dependiente de sal es más prevalente en la población Afroamericana que en Caucásicos americanos, como también lo es el alelo CYP3A5\*1. En órganos como el riñón, CYP3A5 puede tener una importante función en la regulación de factores endógenos paracrinos o endocrino que influyen en el riesgo de enfermedades.<sup>8</sup>

Recientemente, en un estudio sobre 25 individuos pertenecientes a población afroamericana adulta y agrupados en base al polimorfismo g.6986A>G de la enzima CYP3A5 que distingue entre los individuos que expresan la variante CYP3A5\*1 de los que poseen una reducida o nula expresión (variante CYP3A5\*3) se encontraron diferencias significativas en relación a la presión arterial sistólica, presión arterial media y en el clearance de creatinina. La presión arterial sistólica de los homocigotas de CYP3A5\*1, que expresan cantidades elevadas de la enzima, fue aproximadamente 20 mmHg mayor que la de los homocigotas CYP3A5\*3, que no expresan.<sup>11</sup>

Este hallazgo nos condujo a especular que altos niveles en la expresión de CYP3A5 podrían conllevar a niveles elevados de presión arterial en poblaciones en las cuales la actividad de CYP3A5 sea prevalente. Dicha hipótesis aún no ha sido puesta a prueba en nuestro país y está poco estudiada en el resto del mundo.

Por otra parte, ya es sabido que el cortisol está implicado como mediador patofisiológico de la obesidad idiopática, y que la secreción aumentada de glucocorticoides (por ej.: Síndrome de Cushing) está asociada a obesidad.<sup>21, 22</sup> Como ya mencionamos anteriormente, CYP3A5 participa en el metabolismo del cortisol, es por eso que también nos planteamos si algún genotipo de CYP3A5 se asocia a la obesidad a través de alteraciones en los niveles del cortisol, ya que hasta el presente no hay estudios al respecto.

Además, la detección de las variantes alélicas de CYP3A5 y la descripción de las frecuencias alélicas en nuestra población pueden ser de utilidad para establecer si nuestra

población presenta alta actividad de CYP3A5. Estudios como el presente tendrían importancia clínica, ya que la genotipificación de CYP3A5 podría permitir la optimización de la farmacoterapia y posibilitar un mejor entendimiento del metabolismo de mediadores endógenos que pueden jugar un papel importante en la fisiopatología de enfermedades prevalentes.<sup>9, 23</sup>

### **OBJETIVO**

El objetivo de este trabajo es determinar las frecuencias de las variantes alélicas CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3 y estudiar una posible asociación de alguna de las variantes alélicas o genotipo de CYP3A5 con algún componente del Síndrome Metabólico, como la hipertensión o la obesidad, en muestras de población argentina joven.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Sujetos**

Este trabajo se realizó sobre dos poblaciones de adolescentes, una del interior de la provincia de Buenos Aires (Población I), y la otra de Capital Federal (Población II).

Población I: fue seleccionada y estudiada previamente por Porto y col.<sup>19</sup> Se interrogó a 934 adolescentes de un colegio secundario de una población del interior (Chacabuco, provincia de Buenos Aires). Todos ellos manifestaron su acuerdo en participar mediante un consentimiento escrito firmado por sus padres. El diseño del estudio y el consentimiento informado fueron aprobados por el Comité de Ética del Instituto A. Lanari. Los sujetos completaron un cuestionario que incluía historia clínica, actividad física, medicación y hábitos en su estilo de vida. La presión sanguínea en reposo fue medida tres veces a cada individuo. Basados en la presión en reposo normalizada como Z score de acuerdo al sexo y la edad utilizando las tablas de la USA Task Force, se seleccionaron 220 adolescentes que tenían niveles de la presión arterial sistólica / diastólica mayores al percentilo 80 y menores al percentilo 20. De estos adolescentes, 175 completaron el estudio: dos medidas adicionales de presión en días diferentes, análisis bioquímicos y genotipificación. Aquellos adolescentes que tenían un promedio de la presión arterial sistólica / diastólica mayor al percentilo 95, y sin causas de hipertensión secundaria fueron considerados como hipertensos esenciales; 54 individuos cumplían con estos criterios. Los 121 adolescentes restantes se consideraron normotensos.<sup>19</sup>

El índice de masa corporal (BMI) fue calculado como el peso en kg dividido por el cuadrado de la altura en m ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).<sup>19</sup>

Análisis bioquímicos: se obtuvieron muestras de sangre en ayunas, y utilizando técnicas de laboratorio de rutina se dosaron las concentraciones de glucosa, insulina, colesterol total, colesterol HDL y LDL y triglicéridos. (Tabla 1)<sup>19</sup>



Tabla 1. Características clínicas de adolescentes normotensos e hipertensos de la Población I. <sup>19</sup>

	Normotensos (n = 121)	Hipertensos (n = 54)	Valor de <i>p</i>
Edad (años)	15 ± 2	15 ± 2	NS
Sexo (F/M)	71 / 50	22 / 32	NS
Presión sistólica (Score Z)	-0.17 ± 1.07	2.72 ± 1.11	0.00001
Presión diastólica (Score Z)	-0.37 ± 0.75	0.77 ± 0.79	0.00001
Presión Pulso (mm Hg)	47 ± 9	65 ± 12	0.00001
Índice de Masa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )	22 ± 3	25 ± 5	0.0001
Relación cintura/cadera	0.80 ± 0.05	0.82 ± 0.06	0.05
Triglicéridos (mg/dl)	89 ± 47	103 ± 59	0.04
Colesterol Total (mg/dl)	157 ± 28	162 ± 27	NS
LDL colesterol (mg/dl)	90 ± 23	96 ± 24	NS
HDL colesterol (mg/dl)	50 ± 10	46 ± 8	0.02
Aldosterona plasmática (ng/L)	93 ± 64	85 ± 51	NS
Actividad de Renina plasmática (ng Ang I/ml/h)	1.2 ± 2.5	1.4 ± 2.8	NS
Insulina plasmática (μU/ml)	11 ± 5	15 ± 10	0.001
Glucosa plasmática (mg/dl)	89 ± 7	89 ± 7	NS
Relación Insulina/glucosa	0.12 ± 0.05	0.17 ± 0.10	0.001

Los resultados están expresados como Media ± DS. *p* indica el nivel de significancia de acuerdo al test U-Mann-Whitney. NS significa No Significativo (*p* > 0.05).

En muestras de suero se dosó el cortisol por Radioinmunoensayo (DPC).

Población II: 112 adolescentes de Capital Federal participaron de este estudio con el consentimiento escrito de los padres.

Análisis bioquímicos: en muestras de sangre en ayunas, y utilizando técnicas de laboratorio de rutina se dosaron las concentraciones de glucosa, insulina,

colesterol total, colesterol HDL y LDL y triglicéridos. Con las concentraciones de glucosa e insulina se calculó el índice HOMA (HOMA = Insulinemia ( $\mu\text{U/ml}$ ) x glucemia ( $\text{mmol/L}$ ) / 22.5).

Se midió la presión arterial y se normalizó como Z score de acuerdo a la altura, el sexo y la edad utilizando las tablas de la USA Task Force. Para ello se diseñó una planilla de cálculo que con los datos de sexo, edad y altura devuelve el valor de Z score (Excel 2000, Microsoft).

Se calculó el Índice de Masa Corporal (BMI) como el peso en kg dividido por el cuadrado de la altura en m ( $\text{kg/m}^2$ ). El BMI se normalizó como Z score (Z-BMI) ajustando por edad y sexo según las tablas de la USA Task Force. Se consideró a los adolescentes obesos a aquellos con un BMI mayor al percentilo 95. (Tabla 2)

Tabla 2. Características clínicas de adolescentes no obesos y obesos de la Población II.

	No Obesos (n = 52 )	Obesos (n = 60 )	Valor de $p$
Edad (años)	12.1 $\pm$ 1.5	11.1 $\pm$ 1.7	0.0004
Sexo (F/M)	21 / 31	30 / 30	NS
Presión sistólica (Score Z)	-0.59 $\pm$ 0.77	0.19 $\pm$ 0.99	0.00001
Presión diastólica (Score Z)	0.27 $\pm$ 0.51	0.51 $\pm$ 0.84	NS
Índice de Masa Corporal Z (Z-BMI)	0.39 $\pm$ 1.05	2.18 $\pm$ 0.27	0.00001
Cintura (cm)	68.0 $\pm$ 7.2	86.5 $\pm$ 9.9	0.00001
Triglicéridos (mg/dl)	96 $\pm$ 48	102 $\pm$ 58	NS
Colesterol Total (mg/dl)	174 $\pm$ 32	164 $\pm$ 32	NS
LDL colesterol (mg/dl)	108 $\pm$ 29	105 $\pm$ 29	NS
HDL colesterol (mg/dl)	49.2 $\pm$ 10.8	42.2 $\pm$ 10.2	0.0003
Insulina plasmática ( $\mu\text{U/ml}$ )	12.2 $\pm$ 6.6	18.6 $\pm$ 11.3	0.0007
Glucosa plasmática (mg/dl)	89 $\pm$ 6	85 $\pm$ 7	0.0002
HOMA	2.7 $\pm$ 1.5	3.9 $\pm$ 2.3	0.003

Los resultados están expresados como Media  $\pm$  DS.  $p$  indica el nivel de significancia de acuerdo al test U-Mann-Whitney. NS significa No Significativo ( $p > 0.05$ ).

## **Genotipificación de CYP3A5**

Se estudiaron 287 muestras de ADN genómico extraído de leucocitos de sangre periférica de las 2 poblaciones estudiadas. La extracción de ADN se realizó por la técnica utilizada por Porto y col.<sup>19</sup>

Por las bajas frecuencias alélicas de las demás variantes ya descritas por otros autores en la bibliografía, enfocamos el estudio en el screening de las variantes alélicas CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3 utilizando la técnica de PCR-RFLP descrita por Van Schaik y col.<sup>9</sup> con algunas modificaciones.

Para la genotipificación de CYP3A5 se realizó el ensayo de mismatch PCR-RFLP basado en la creación de un sitio de corte para la enzima de restricción *SspI* utilizando un mismatch en uno de los primers. En la Figura 3A se observa la secuencia de los primers F y R, que hibridizan con el gen CYP3A5 (Gen Bank Accession Number: AC005020), y que por PCR generan un producto amplificado de 293 bp. El primer R posee un mismatch cerca de su extremo 3' de manera que introduce un sitio de corte para *SspI* cuando una adenina en la posición del SNP 6986 está presente (g.6986A, CYP3A5\*1), incorporándose una T en el primer sitio de extensión de este primer. Por el contrario, si una guanina está presente en el SNP 6986 (g.6986G, CYP3A5\*3), la incorporación de una C a la extensión del primer R, no genera el sitio de corte para *SspI*. El producto amplificado de 293 bp contiene un sitio constitutivo de corte para la enzima *SspI* y un segundo sitio de corte polimórfico que se creará en caso de que se esté en presencia del alelo CYP3A5\*1 (Figura 3B). De esta manera, la variante alélica CYP3A5\*1 presenta 2 sitios de corte para *SspI*, generándose 3 fragmentos luego de la digestión del producto amplificado con la mencionada enzima: 148 bp, 125 bp y 20 bp de longitud. En cambio, la variante alélica CYP3A5\*3 presenta 1 sólo sitio de corte para *SspI* que generará 2 fragmentos, 168 bp y 125 bp.

Para 25 µl de PCR se utilizaron: aproximadamente 100 ng de ADN genómico, 2.0 mM de MgCl<sub>2</sub>, buffer 1X, 0.64 nmoles/ml de cada primer F y R, 0.5 mM de cada desoxinucleótido trifosfato. Luego de cubrir cada tubo de reacción con 20 µl de aceite mineral, se realizó una PCR hot start (Robocycler 96 thermal cycler): una vez que los tubos alcanzaran la temperatura de 94°C durante 1 min, se les agregó a cada uno de ellos 0.2 µl de Taq polimerasa (provista por el Instituto Leloir). Como controles se utilizaron, un control negativo sin muestra de ADN y uno positivo con muestra de ADN provista gentilmente por Van Schaik<sup>9</sup> cuyo genotipo era heterocigota para el SNP (CYP3A5\*1/CYP3A5\*3). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 33 ciclos de 1 min a 94°C, 1 min a 53°C y 1 min

a 72°C, finalizando con una extensión de 5 min a 72°C. Se verificó la amplificación del producto de 293 bp en cada muestra realizando una electroforesis en agarosa al 2% en buffer Tris-Borato-EDTA (TBE), tñiendo con bromuro de etidio y visualizando bajo luz UV (Figura 4 calle 2).

Digestión del producto amplificado: 10 µl del producto de PCR fueron digeridos con 0.8 U de *SspI* (Amersham Biosciences) en un volumen final de 15 µl, incubándose a 37°C durante 18 hs (over nigh). El análisis de la digestión se realizó por electroforesis en agarosa al 3% en buffer TBE. La visualización de los fragmento presentes en cada muestra se realizó por tinción con bromuro de etidio y bajo luz UV (Figura 4). De esta manera se determinó el genotipo de cada muestra: (\*1/\*1) = 3 fragmentos de 148 bp, 125 bp y 20 bp; (\*1/\*3) = 4 fragmentos de 168 bp, 148 bp, 125 bp y 20 bp; y (\*3/\*3) = 2 fragmentos de 168 bp y 125 bp. Por las condiciones del ensayo el fragmento de 20 bp no se visualiza, pero igualmente se puede realizar la genotipificación con la visualización de los otros fragmentos.

### **Análisis estadístico**

Los datos cuantitativos fueron analizados con el test U-Mann Whitney o T-test y los resultados expresados como Media ± DS. Las frecuencias de los genotipos fueron analizadas por el test de Chi<sup>2</sup>. En todos los casos se utilizó el programa Statistica 6.0.

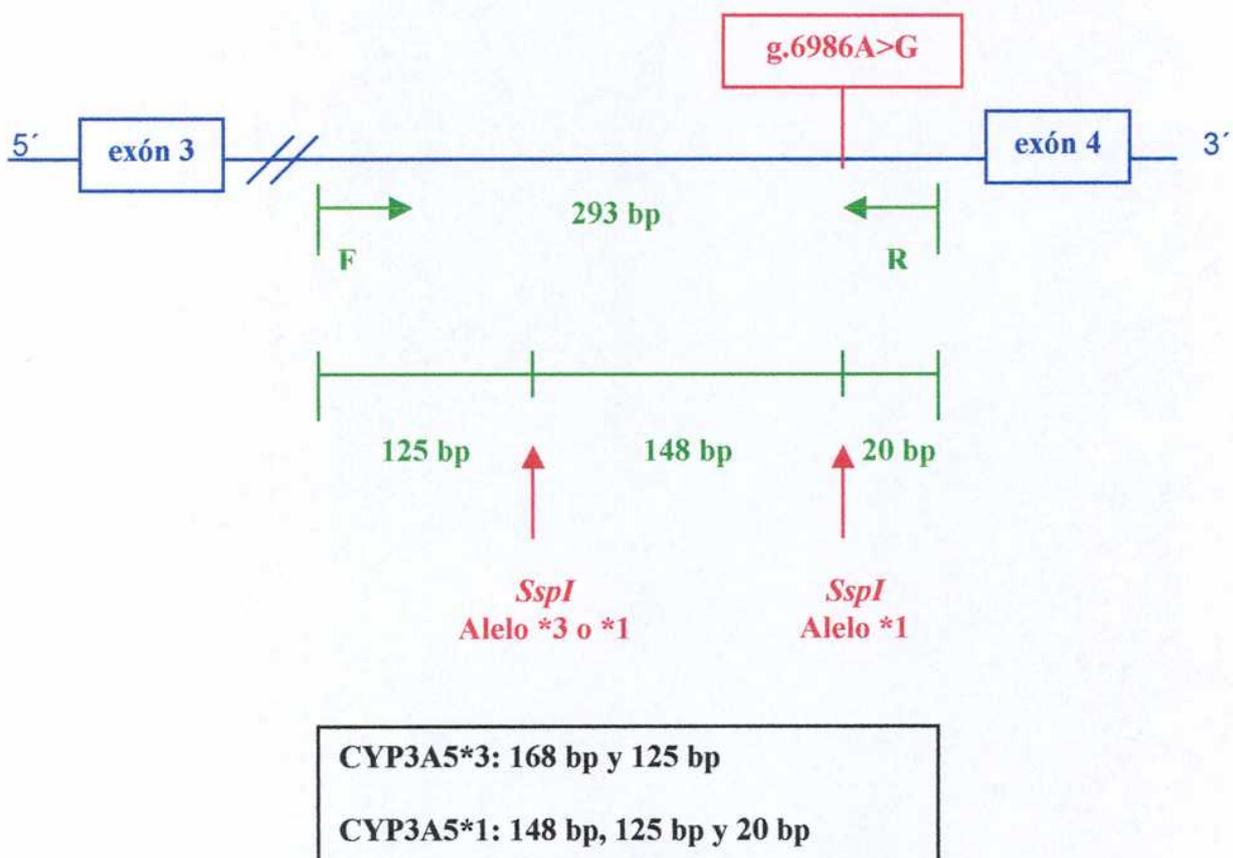
Figura 3.

- a. Secuencia de los primers para la genotipificación de CYP3A5 por PCR-RFLP. El mismatch con la secuencia de CYP3A5 (Gen Bank N°: AC 005020) está subrayado.

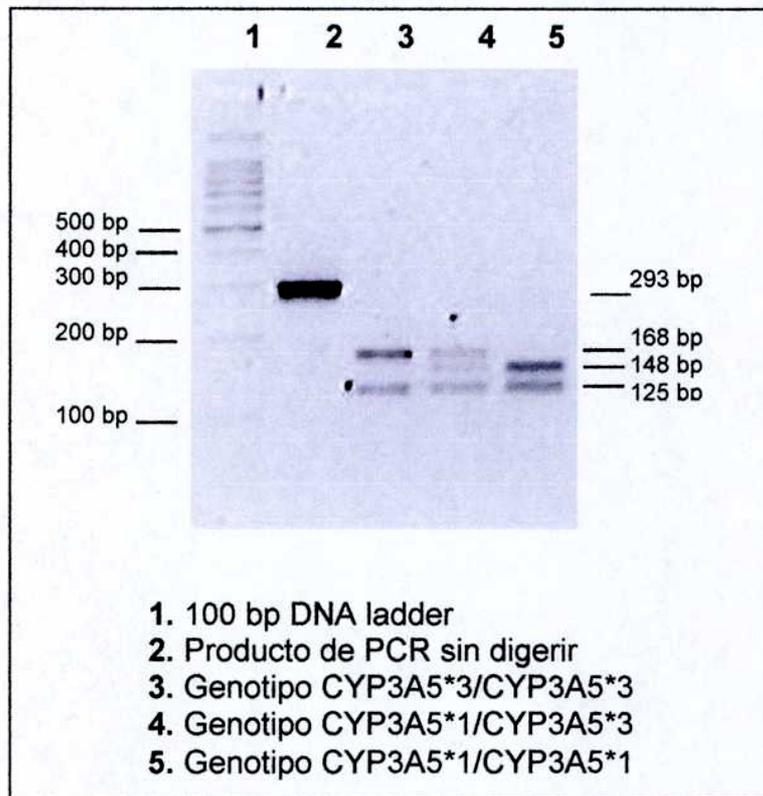
Primer F: 5'- CATGACTTAAGTAGACAGATGAC - 3'

Primer R: 5'- GGTCCAAACAGGGAAGAAATA - 3'

- b. Esquema con la posición relativa de los primers, los sitios de corte para la enzima de restricción *SspI*, y los fragmentos a obtener según el alelo de CYP3A5.



**Figura 4.** Imagen invertida de un gel de agarosa 3% mostrando las variantes alélicas de CYP3A5 analizadas por PCR-RFLP.



**RESULTADOS**

Como ya hemos mencionado, las dos poblaciones de adolescentes estudiadas mostraron componentes del Síndrome Metabólico, como hipertensión y obesidad entre otros (tablas 1 y 2).

La frecuencia alélica y genotípica en la población I se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3.**

	Frecuencia Genotípica (%)			Frecuencia alélica	
	*1 / *1	*1 / *3	*3 / *3	CYP3A5*1	CYP3A5*3
Normotensos (n = 121)	2.5	17.4	80.2	0.112	0.888
Hipertensos (n = 54)	0	13.0	87.0	0.065	0.935

Las frecuencias alélicas resultantes se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

De acuerdo con el test de  $\chi^2$  no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas y alélicas entre los adolescentes normotensos e hipertensos. Por lo tanto, no se encontró asociación entre algún alelo o genotipo de CYP3A5 y la hipertensión.

Debido a que el genotipo homocigota para CYP3A5\*1 y el heterocigota presentan actividad de CYP3A5, se estima que en la población argentina el 80.2% no presenta actividad de esta enzima.

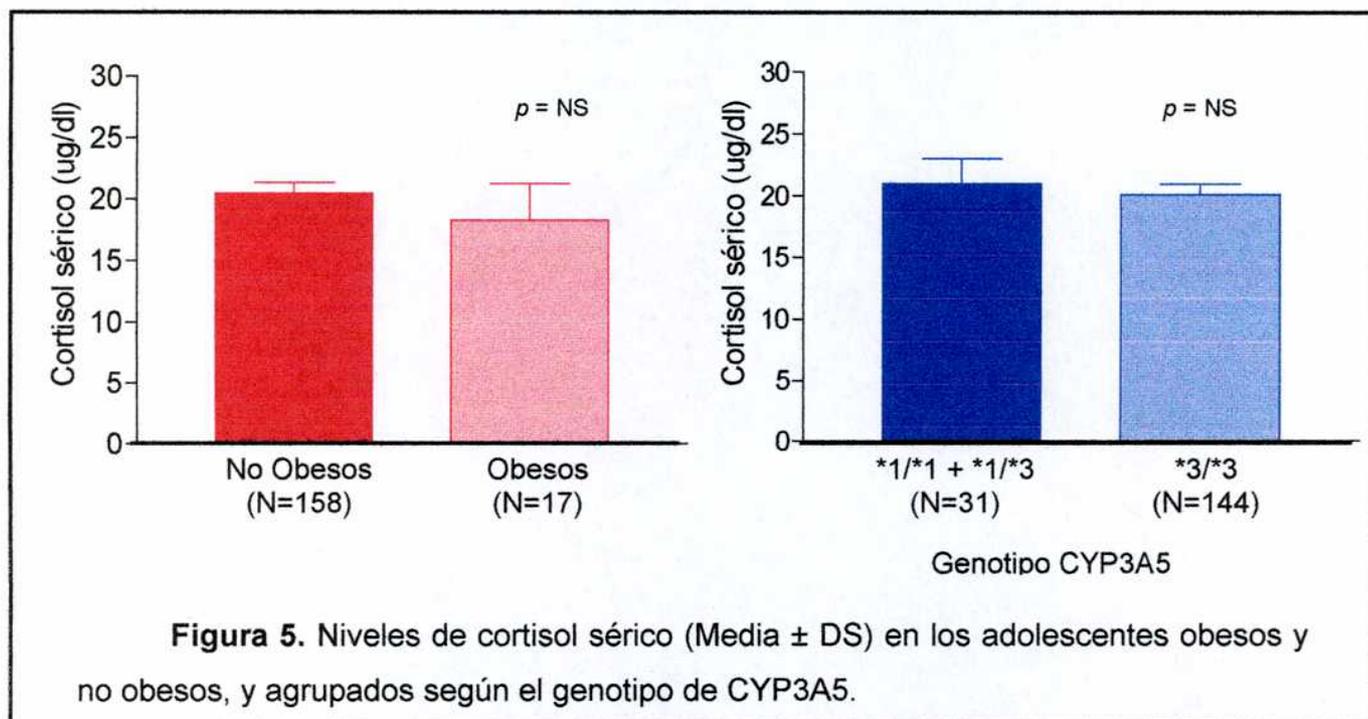
La población I mostró otros factores de riesgo como un mayor BMI, mayor relación cadera/cintura, elevado nivel de triglicéridos e incipiente insulino resistencia, todas características clínicas del Síndrome Metabólico. Es por esto que nos interesó clasificar a esta población en obesos y no obesos según el BMI, tomando al percentilo mayor del 95% como obesos. Considerando el modelo dominante de expresión de CYP3A5 se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Genotipo de CYP3A5 en adolescentes obesos y no obesos de la Población I.

	No obesos	Obesos
*1/*3 + *1/*1 (n = 31)	31	0
*3/*3 (n =144)	127	17

Las frecuencias genotípicas de CYP3A5 entre Obesos y No Obesos de la población I son significativamente diferentes ( $\chi^2$ ,  $p < 0.05$ ). Todos los adolescentes con genotipos de expresión de CYP3A5 (\*1/\*3 + \*1/\*1, n = 31) fueron adolescentes No Obesos, y todos los adolescentes Obesos (n = 17) fueron genotipo CYP3A5 \*3/\*3.

Como mencionamos anteriormente, la isoenzima CYP3A5 participa en el metabolismo del cortisol, y como éste está implicado como mediador patofisiológico de la obesidad idiopática, dosamos cortisol sérico en esta población. Los resultados del dosaje del cortisol se muestran en la figura 5.



**Figura 5.** Niveles de cortisol sérico (Media  $\pm$  DS) en los adolescentes obesos y no obesos, y agrupados según el genotipo de CYP3A5.

$p$  indica el nivel de significancia de acuerdo al t-test. NS significa No Significativo ( $p > 0.05$ ).

No se encontraron diferencias en el cortisol sérico entre los individuos clasificados según la obesidad o el genotipo de CYP3A5.



Habiendo encontrado en la población I una asociación entre el genotipo CYP3A5\*3 homocigota y la obesidad, quisimos confirmar este hallazgo en la población II. En la tabla 6 se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas de la población II.

**Tabla 6.** Frecuencia alélica y genotípica de CYP3A5 en la población II.

	Frecuencia Genotípica (%)			Frecuencia alélica	
	*1 / *1	*1 / *3	*3 / *3	CYP3A5*1	CYP3A5*3
No Obesos (n = 52)	1.9	13.5	84.6	0.087	0.913
Obesos (n = 60)	0	16.7	83.3	0.083	0.917

Las frecuencias alélicas resultantes se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En la tabla 7 se muestran los resultados considerando el modelo dominante de expresión de CYP3A5.

**Tabla 7.**

	No obesos	Obesos
*1/*3 + *1/*1 (n = 18)	8	10
*3/*3 (n =94)	44	50

No se encontraron diferencias significativas entre algún genotipo de CYP3A5 y los adolescentes obesos y no obesos de la población II ( $\chi^2$ ,  $p > 0.05$ ). Por lo tanto, en la población II no se encontró asociación alguna entre algún genotipo de CYP3A5 y la obesidad.

**DISCUSIÓN**

En el screening de las variantes alélicas de CYP3A5 en los 121 adolescentes normotensos de la población I encontramos al alelo CYP3A5\*3 abundantemente presente, con una frecuencia alélica de 88.8%. En la tabla 8 se muestran las frecuencias alélicas en otros grupos étnicos presentadas en otros trabajos.

**Tabla 8.** Frecuencia alélica de CYP3A5\*1 y \*3 en distintas poblaciones

Población	Individuos estudiados (n)	Frec. alélica CYP3A5*1 (%)	Frec. alélica CYP3A5*3 (%)	Referencia
<b>Argentina</b>	<b>121</b>	<b>11.2</b>	<b>88.8</b>	<b>Resultados de este trabajo</b>
Caucásica	100 Gran Bretaña	6.0	94.0	24
	500 Holanda	7.2	91.7	9
	183 Alemania-Suiza	4.9	95.1	6
	437 EEUU	9.3	90.7	25
	27 EEUU	15.0	85.0	4
Afroamericana	20	45.0	48.0	4
	38	66.0	34.0	25
	89	70.0	30.0	11
	45-50	73.0	27.0	6
Japonesa	200	23.3	76.7	26
	187	24.1	75.9	27
	45-50	29.0	71.0	6
China	270	27.0	73.0	28
	108	25.0	76.0	5
	45-50	27.0	73.0	6
Coreana	45-50	30.0	70.0	6
Malaya	98	39.0	61.0	5
India	90	41.0	59.0	5

Como era de esperar, se puede observar que la frecuencia alélica encontrada en la población argentina está de acuerdo con la reportada en población caucásica.

Trabajos previos sugieren que solo los individuos con al menos un alelo CYP3A5\*1 expresan gran cantidad de proteína CYP3A5.<sup>4</sup> Van Schaik y col<sup>9</sup> estiman que el 83% de los Caucásicos Holandeses no poseen actividad enzimática de CYP3A5. Nuestros resultados muestran por primera vez, que en una población argentina adolescente, aproximadamente el 80% presenta el genotipo CYP3A5\*3 homocigota, que no posee actividad de la mencionada enzima. Dada la variabilidad en la expresión de CYP3A, y al amplio espectro de drogas metabolizadas por ésta, la genotipificación de CYP3A5 podría permitir optimizar la farmacoterapia de distintos pacientes. En nuestra población, aproximadamente el 20% presenta al menos un alelo CYP3A5\*1 que se asocia a la expresión de esta isoenzima. Este tipo de análisis también posibilitaría un mejor entendimiento del metabolismo de mediadores endógenos que pueden jugar un papel importante en la fisiopatología de distintas enfermedades.

A pesar de que en un estudio reciente de Givens y col<sup>11</sup> realizado en adultos afroamericanos, agrupados según el SNP g.6986A>G de CYP3A5, encontraron diferencias significativas en relación a la presión arterial sistólica, presión arterial media y clearance de creatinina, nuestros resultados en población adolescente no mostraron una asociación de algún genotipo o alelo de CYP3A5 con hipertensión. Hay que destacar que en la población afroamericana, donde los homocigotas de CYP3A5\*1 tuvieron mayor presión arterial sistólica que los homocigotas de CYP3A5\*3, el alelo CYP3A5\*1 presenta una frecuencia alélica mucha más alta que la de población Caucásica (45-73% en afroamericanos vs. 5-15% en caucásicos).

Resultó interesante la asociación encontrada en la población I entre los adolescentes obesos (N=17) y el genotipo de ausencia o baja expresión de CYP3A5 (\*3/\*3). Basados en nuestros datos hipotetizamos que en estos individuos, la no expresión de CYP3A5, haría que el cortisol no sea hidroxilado, con lo que se esperaría tener niveles de cortisol elevados. Esto explicaría la asociación encontrada, ya que se sabe que tanto el volumen como la distribución de las grasas en el cuerpo está influenciado por hormonas esteroideas, más aún, es sabido que los glucocorticoides estimulan la lipogénesis e inhiben la lipólisis, y que el cortisol está implicado como mediador patofisiológico de la obesidad idiopática.<sup>20, 29</sup> Sin embargo, nuestros resultados no mostraron una asociación entre los niveles séricos de cortisol y algún genotipo o alelo de CYP3A5 o la obesidad. Teniendo en cuenta que el catabolismo de los glucocorticoides, que convierte a la hormona biológicamente activa a las

formas inactivas, ocurre principalmente en hígado; que las vías de metabolización son a través de reacciones de reducción, oxidación, hidroxilación y conjugación, y que la oxidación reversible de cortisol a cortisona por la 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, y la reducción del cortisol o cortisona por las 5 $\alpha$ - y 5 $\beta$ -reductasas, son las rutas más importantes del metabolismo del cortisol in vivo, la 6 $\beta$ -hidroxilación de cortisol, en la cual participan las enzimas CYP3A5, sería entonces de menor importancia respecto a las mencionadas anteriormente, lo que explicaría nuestro resultado.<sup>8, 30</sup> Quizás, a nivel local de los tejidos, como lo es en el riñón<sup>8</sup>, la 6 $\beta$ -hidroxilación adquiriera más importancia.

Este hallazgo de la asociación entre la obesidad y el genotipo CYP3A5\*3 homocigota no fue observado al estudiar la población II. Un posible motivo de esta discordancia es que el número de individuos obesos de la población I (N=17) fue bajo para tener peso estadístico. Al aumentar el tamaño de la muestra, y realizar el estudio en 60 adolescentes obesos de la población II, no encontramos asociación de algún genotipo o alelo de CYP3A5 con la obesidad. También podríamos sugerir que las 2 poblaciones, una del interior de Buenos Aires y la otra de Capital Federal, están expuestas a distintos medios ambientes (dieta, actividad física, etc.) , que son importantes en la expresión fenotípica de los componentes del Síndrome Metabólico.

## **Conclusiones**

Las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes alélicas de CYP3A5 en la población argentina estudiada concuerdan con la de la población caucásica. Se estima que aproximadamente el 80% de nuestra población tiene niveles de expresión de CYP3A5 muy bajos o indetectables. La genotipificación de CYP3A5 permitiría optimizar la farmacoterapia de drogas metabolizadas por esta isoenzima, y posibilitaría un mejor entendimiento del metabolismo de mediadores endógenos que pueden jugar un papel importante en la fisiopatología de distintas enfermedades.

En la población adolescente estudiada no se encontró asociación entre la hipertensión con algún genotipo o alelo de CYP3A5.

El hallazgo de la asociación entre la obesidad y el genotipo homocigota de la variante CYP3A5\*3 en una población con un número pequeño de obesos no pudo ser reproducida en otra de origen geográfico diferente. Se necesitaría repetir el estudio con un número mayor de individuos para asegurar una conclusión final. Por ahora podemos concluir que nuestros resultados muestran que el genotipo de CYP3A5 no participaría en la hipertensión o la obesidad como componentes del desarrollo del Síndrome Metabólico.



DR. CARLOS J. PIROLA  
JEFE CARDIOLOGIA MOLECULAR  
INST. INVEST. MEDICAS A. LANARI

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Goodman Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10ma. Edición. Mc Graw Hill. 2003.
2. Flórez J., Armijo J.A., Mediavilla A. Farmacología humana. 3ra. Edición. Ed. Masson. 1997.
3. Gellner K., Eiselt R., Hustert E., et al. Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new, inducible CYP3A gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11:111-121.
4. Kuehl P., Zhang J., Lin Y., Lamba J., et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics* 2001; 27(April):383-391.
5. Balram C., Zhou Q., Cheung Y., Lee E. CYP3A5\*3 and \*6 single nucleotide polymorphisms in three distinct Asian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59(May):123-126.
6. Hustert E., Haberl M., Burk O., Wolbold R., et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001; 11:773-779.
7. Lee S., Usmani K., Chanas B., Ghanayem B., et al. Genetic findings and functional studies of human CYP3A5 single nucleotide polymorphism in different ethnic groups. *Pharmacogenetics* 2003; 13(8):461-472.
8. Lamba J., Lin Y., Schuetz E., Thummel K. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002; 54:1271-1294.
9. Van Schaik R., Van der Heiden I., Van den Anker J., Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem* 2002; 48:10 1668-1671.
10. Schuetz E., Relling M., Kishi S., Yang W. et al. PharmGKB Update: II. CYP3A5, Cytochrome P450, Family 3, Subfamily A, Polypeptide 5. *Pharmacol Rev* 2004; 56:159.

11. Givens R., Lin Y., Dowling A., Thummel K., et al. CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults. *J Appl Physiol* 2003; 95(September):1297-1300.
12. Weiss R., Dziura J., Burget T., Tamborlane W., et al. Obesity and the metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *N Engl J Med* 2004; 350:2362-2374.
13. Gundy S., Brewer B., Cleeman J., Smith S., et al. Definition of Metabolic Syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation* 2004; 109:433-438.
14. Ford E., Giles W. and Dietz W. Prevalence of the metabolic Syndrome Among US Adults. *JAMA* 2002; 287 (3): 356-359.
15. Loos R., Katzmarzyk P., Rao D., Rice T., et al. Genome-Wide Linkage Scan for the Metabolic Syndrome in the HERITAGE Family Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(12): 5935-5943.
16. Slyper A. The Pediatric Obesity Epidemic: Causes and Controversies. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 2540-2547.
17. Miller J., Rosenbloom A., and Silverstein J. Childhood Obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(9): 4211-4218.
18. Clément K., and Ferré P. Genetics and the Pathophysiology of Obesity. *Pediatr Res* 2003; 53(5):721-725.
19. Porto P., García S., Dieuzeide G., González C., Pirola C. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Loci and Multilocus Interactions in Young-Onset Essential Hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension* 2003; 25:2 117-130.
20. Pirola C. Genética molecular de la hipertensión arterial esencial. Genes de susceptibilidad y resistencia. *Medicina* 2000; 60: 59-66.

21. Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. Rask E., Olsson T., Söderberg S., Andrew R., et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(3):1418-1421.
22. Livingstone D., Jones G., Smith K., Jamieson P., et al. Understanding the Role of Glucocorticoids in Obesity: Tissue-Specific Alterations of Corticosterone Metabolism in Obese Zucker Rats. *Endocrinology* 2000; 141: 560-563.
23. Flockhart D. and Rae J. Cytochrome P450 3A pharmacogenetics: the road that needs traveled. *The Pharmacogenomics Journal* 2003; 3:3-7.
24. King B., Leathart J., Mutch E., Williams F., Daly A. CYP3A5 phenotype-genotype correlations in a British population. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55 (6): 625-629.
25. Plummer S., Conti D., Paris P, Curran A., Casey G., Witte J. CYP3A4 and CYP3A5 Genotypes, Haplotypes, and Risk of Prostate Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2003 (Sept); 12: 928-932.
26. Fukuen S., Fukuda T., Maune H., et al. Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the CYP3A5 SNPs, CYP3A5\*3 and \*6, in a Japanese population. *Pharmacogenetics* 2002; 12:331-334.
27. Saeki M., Saito Y., Nakamura T., Murayama N., et al. Single Nucleotide Polymorphisms and Haplotype Frequencies of CYP3A5 in a Japanese Population. *Human Mutation - Mutation in Brief # 618 (2003) Online*.
28. Liu T., Lin S., Chen T., Chang J. Polymorphism analysis of CYP3A5 in myeloid leukemia. *Oncology Report* 2002; 9:327-329.
29. Walker B. Steroid metabolism in Metabolic Syndrome X. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 15 (1):111-122.
30. Wilson et al. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9<sup>th</sup> Edition. Saunders Company 1998.