

MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS DEL CITOCROMO P450 HEPÁTICAS DURANTE LAS ETAPAS FETAL Y PEDIÁTRICA*

**Dora Molina Ortiz^{1,2}, Rafael Camacho Carranza³,
Adriana Miriam Domínguez Ramírez⁴ y Araceli Vences Mejía¹**

¹Laboratorio de Toxicología Genética, Instituto Nacional de Pediatría, México D.F.

²Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. México D.F. ³Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

⁴Laboratorio de Farmacocinética y Farmacodinamia Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Correo E: doramolina29@yahoo.com.mx, aritaven@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los citocromos P450 (CYP450) son las principales enzimas de fase I, involucradas en el metabolismo de xenobióticos y sustratos endógenos. Las familias de CYP450 1, 2 y 3 desempeñan un papel crucial en el metabolismo y excreción de fármacos. Los miembros de las familias de CYP450 1 y 2 se encuentran en concentraciones bajas o ausentes en etapa fetal, su expresión aumenta después del nacimiento hasta alcanzar su máxima expresión en la etapa adulta. Mientras que los miembros de la familia CYP450 3 son los principales citocromos en el hígado humano en todas las etapas del desarrollo. Los cambios de expresión de CYP450 en las diferentes etapas del desarrollo humano pueden contribuir a la respuesta farmacológica y/o toxicológica de fármacos de importante uso clínico. Esta revisión integra información de la expresión de enzimas CYP450 hepáticas durante el desarrollo fetal hasta la edad adulta.

PALABRAS

CLAVE:

Citocromo
P450,
metabolismo,
ontogenia

ABSTRACT

The Cytochromes P450 (CYP450) are the principal enzymes of phase I involved in the metabolism of xenobiotics and endogenous substrates. CYP450 1, 2 and 3 families play a crucial role in the metabolism and excretion of drugs. Members of CYP450 1 and 2 are absent or in low concentration in fetal stage; their expression are increased after birth until they reach the highest quantity in the adult phase. While members of the family CYP450 3 are the major CYP450 in human liver at all stages of development. Changes in expression of CYP450 in different period of human development can contribute to drug response and / or toxicological effects of them. This review integrates information about the expression of CYP450 enzymes hepatic during fetal development to adulthood.

KEY WORDS:

Cytochrome
P450,
hepatic
metabolism,
ontogeny

INTRODUCCIÓN

Los cambios anatómicos y fisiológicos durante el desarrollo aportan una medida de complejidad a la forma en que el metabolismo de fármacos contribuye a la problemática en la terapéutica (eficacia, toxicidad y reacciones adversas) de pacientes en edad pediátrica, ya que algunas de las enzimas

que metabolizan fármacos no se activan hasta que se alcanza cierta edad (1). A pesar de que se ha demostrado que en hígado fetal se lleva a cabo el metabolismo de algunos xenobióticos, en neonatos, muchos fármacos exhiben prolongados tiempos de vida media. Durante el primer año de vida se observa aumento significativo de la expresión de las enzimas que metabolizan fármacos,

alcanzando máxima expresión entre los 12 y 16 años (2). El metabolismo de fármacos es el principal proceso que determina la farmacocinética en un individuo, en el cual intervienen factores como el tamaño del hígado, flujo sanguíneo, grado de unión a proteínas y la activación o inhibición de enzimas participantes. El metabolismo hepático de los fármacos se lleva a cabo en varias reacciones generalmente divididas en reacciones de fase I y II, a menudo la eliminación de fármacos requiere de la intervención de ambas fases (3). En el hígado adulto estas reacciones están bien caracterizadas, sin embargo, existe poca información acerca de estas reacciones en infantes. Las reacciones de fase I son mediadas principalmente por el sistema enzimático de los citocromos P450 (CYP450), hemoproteínas que catalizan la biotransformación de una amplia variedad de compuestos endógenos y exógenos. Ejemplo de los primeros son esteroides, ácidos biliares y ácidos grasos; y de los segundos son fármacos y contaminantes ambientales (4, 5). La diversidad en la especificidad de sustrato, regulación y expresión de enzimas CYP450 generan variabilidad interindividual en el metabolismo y la respuesta farmacológica. En el hígado humano las principales isoformas de CYP450 son los miembros de las subfamilias CYP2C y CYP3A, cuya expresión es constitutiva y varía de individuo a individuo en relación a su carga genética y a su grado de exposición a xenobióticos (6). El patrón de desarrollo post-natal de enzimas CYP450 desempeña un papel importante en la eficacia terapéutica y la susceptibilidad de una sustancia tóxica en el recién nacido y durante el desarrollo infantil. Se ha reportado que la expresión de los genes de CYP450 depende de la etapa de desarrollo del individuo, identificándose baja o nula expresión en etapa fetal, e incrementa inmediatamente después del nacimiento. Las diferencias interindividuales, los patrones de desarrollo, polimorfismos genéticos (cambios en la secuencia de nucleótidos dentro de los genes, modificando la expresión de éstos) y el potencial de inducción/inhibición afectan la maduración de las enzimas CYP450, lo cual puede alterar la farmacocinética en el recién nacido y de los individuos en etapa infantil (7, 8). En esta revisión, se informa de los cambios en la expresión de las enzimas CYP450 en diferentes etapas del desarrollo infantil.

METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Un xenobiótico es cualquier sustancia extraña al organismo, que puede actuar como tóxico. Tanto los productos exógenos como los propios constituyentes del organismo cuando se encuentran en él

en excesivas cantidades pueden producir trastornos tóxicos (9). Por consiguiente, la biotransformación o metabolismo de xenobióticos es una actividad importante realizada por el organismo en la cual se eliminan sustancias potencialmente tóxicas (desintoxicación) o se producen metabolitos reactivos (activación metabólica) (1). El hígado contribuye de forma mayoritaria a la eliminación de los xenobióticos, mediante un conjunto de reacciones metabólicas en las que se modifica la estructura química de los xenobióticos, lo que aumenta su solubilidad y facilita su eliminación (2).

GENERALIDADES DE ENZIMAS DEL CITOCROMO P450

La reacción principal que catalizan los CYP450 es la mono oxidación (Fig. 1), comienza con la incorporación del xenobiótico (RH) al centro catalítico de la enzima que en ese momento tiene al átomo de Fe del grupo prostético hemo, en estado oxidado (Fe^{+3}). La reacción es dependiente de NADPH, que suministra el electrón necesario para la reducción a Fe^{+2} . Posteriormente, el oxígeno molecular entra en el centro catalítico de la enzima y se une al grupo hemo. El electrón del Fe^{+2} es transferido a la molécula de oxígeno, un segundo electrón, donado por el citocromo b_5 reduce a la molécula de oxígeno unida y con un H^+ se libera uno de sus átomos en forma de H_2O . El otro átomo de oxígeno aún unido al centro catalítico, oxida al xenobiótico (ROH). Al final de la reacción, el compuesto oxidado se libera de la enzima, por lo que la enzima puede iniciar ahora un nuevo ciclo de catálisis (4, 10-12).

Los CYP450 catalizan más de 20 reacciones distintas, la hidroxilación aromática y alifática, la N-, O- y S-desalquilación, sulfoxidación, epoxidación, desaminación, desulfuración, deshalogenación, deshidrogenación, peroxidación y la N- y S-oxidación, son algunos ejemplos de reacciones catalizadas por CYP450 (11, 13). Los CYP450 se clasifican de acuerdo a la similitud e identidad de sus secuencias de aminoácidos, la nomenclatura se basa en la evolución de sus genes, por lo que son agrupados en varias familias y subfamilias en función del grado de homología de los genes que los codifican (Tabla 1). Los genes de CYP450 son nombrados con la raíz CYP, seguida por un número arábigo que denota a la familia, entre los miembros de una familia se tiene hasta un 40% de homología en sus secuencias de aminoácidos, una letra correspondiente a la subfamilia y otro número arábigo que numera secuencialmente la isoforma individual (14, 15). En el ser humano existen 18 familias y 33 subfamilias, con un total de 57 isoformas de CYP450 funcionales y 59 pseu-

Figura 1.
Ciclo catalítico
general de
CYP450. El
ciclo inicia con
la interacción
de un sustrato
(RH) y
culmina con la
disociación de
un producto
oxidado (ROH)
por CYP450.
Modificado de
Guengerich,
2002 (12).

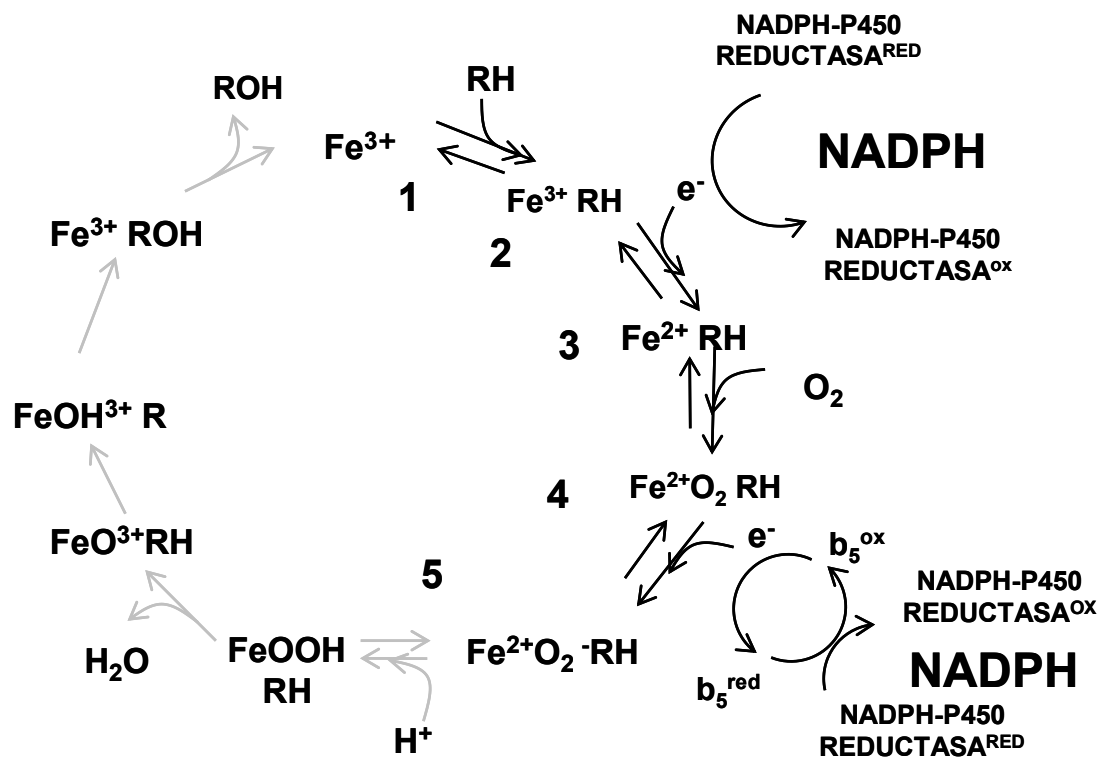


TABLA 1
Citocromos P450 de humano y sustratos que metabolizan.

Esteroides	Xenobióticos	Ácidos grasos	Eicosanoides	Vitaminas	Desconocido
1B1	1A1	2J2	4F2	2R1	2A7
7A1	1A2	4A11	4F3	24A1	2S1
7B1	2A6	4B1	4F8	26A1	2U1
8B1	2A13	4F12	5A1	26B1	2W1
11A1	2B6		8A1	26C1	3A43
11B1	2C8			27B1	4A22
11B2	2C9				4F11
17A1	2C18				4F22
19A1	2C19				4V2
21A2	2D6				4X1
27A1	2E1				4Z1
39A1	2F1				20A1
47A1	3A4				27C1
51A1	3A5				
	3A7				

Texto traducido al español. Tomado de Guengerich PF, 2008 (15).

dogenes cuya secuencia de nucleótidos es similar al gen normal, pero no son expresados debido a que presentan mutaciones o reorganizaciones de su secuencia nucleotídica no tienen funcionalidad (16). Sin embargo, actualmente se ha demostrado que los pseudogenes pueden actuar como reguladores de la expresión génica por medio de interferencia de la traducción del RNA como lo hacen los miRNA (17).

Particularmente, las familias 1, 2 y 3, catalizan la biotransformación de una amplia variedad de compuestos xenobióticos. En concreto, las isoformas CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 y 3A4/7 son las responsables del metabolismo de la gran mayoría de los fármacos actualmente en uso clínico, figura 2B (18, 19).

En organismos procariontes, las enzimas CYP450 se encuentran presentes en el citosol, mientras que en los eucariontes se encuentran en las mitocondrias y en diversos tipos de membranas celulares, siendo particularmente abundante en el retículo endoplásmico liso (microsomas) (3). El principal órgano donde se expresan altos niveles de CYP450 es el hígado, se ha identificado que los CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8/9/19, 2D6, 2E1 y 3A4/5 ocupan el 70% del contenido total de CYP450

hepático, figura 2A. En esta figura, se muestran los niveles de estas enzimas en el hígado adulto, detectadas por inmunoensayos. Se puede apreciar que los niveles de CYP450, no necesariamente corresponden a la contribución en el metabolismo de fármacos en el adulto. Por ejemplo, la isoforma CYP3A4 representa cerca del 30% del contenido total de CYP450 en el hígado y es responsable del metabolismo de aproximadamente el 50% de fármacos, mientras que CYP2D6 metaboliza cerca del 30% de los fármacos y representa cerca del 2% del contenido total hepático (19). Una característica significativa de las enzimas CYP450 es su inducibilidad por el propio sustrato (xenobiótico). Algunos xenobióticos inducen más de una familia de genes de CYP450, por ejemplo, las enzimas CYP1A son inducidas por hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), las subfamilias CYP2B y CYP2C por fenobarbital (PB) o bifenilos policlorados, la subfamilia 2E por compuestos de bajo peso molecular como isoniazida, acetona y etanol, CYP3A es inducida por glucocorticoides y antibióticos macrólidos (13, 20). Por otro lado, la existencia de polimorfismos genéticos puede generar aumento o disminución de la actividad enzimática, que conlleva a marcada variabilidad interindividual en la farmacocinética.

Figura 2. A) Distribución porcentual del contenido de CYP450 en hígado adulto humano, B) Estimación porcentual de la contribución de enzimas CYP en el metabolismo de fármacos disponibles actualmente en el mercado. Tomado de Alcorn J, 2002 (19).

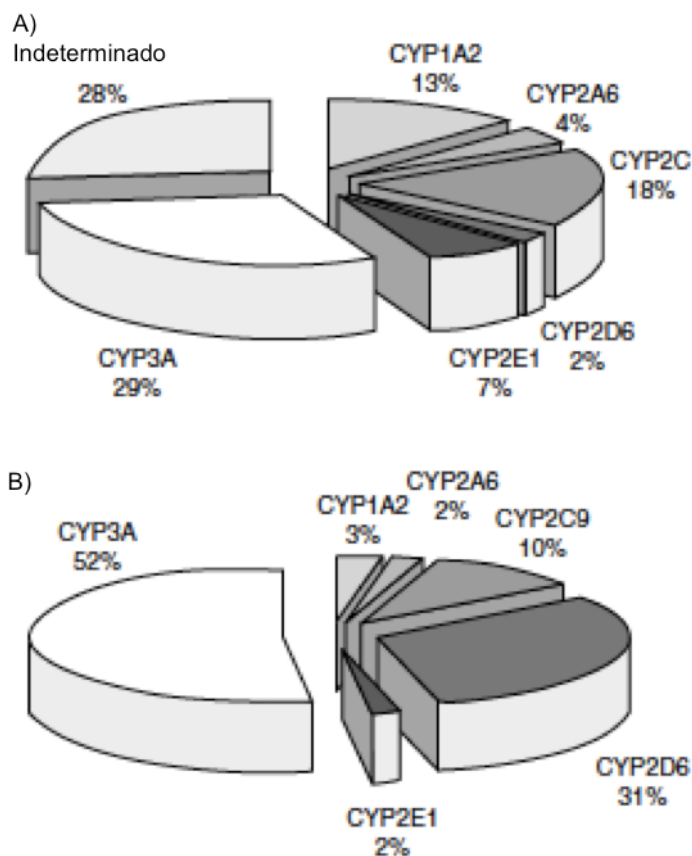
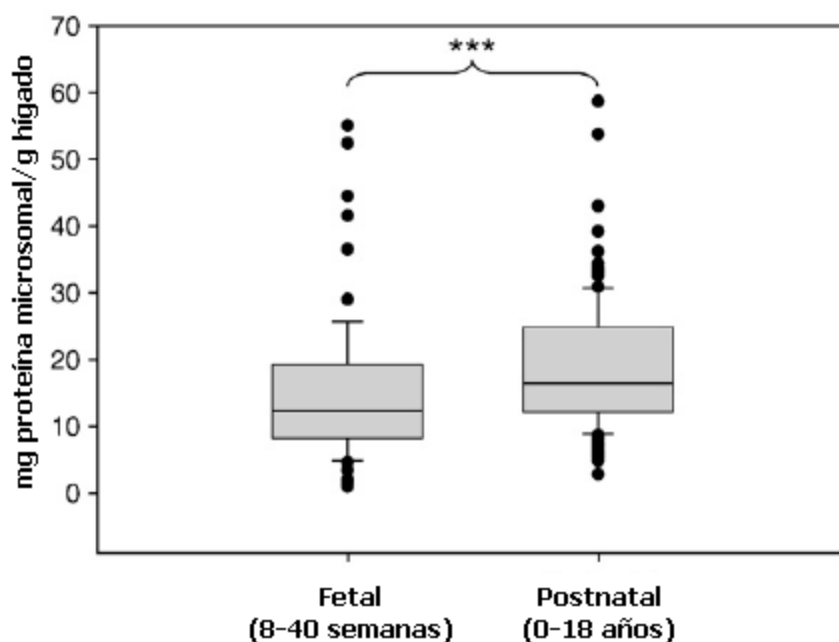


Figura 3. Cambios en el contenido de proteína microsomal durante etapas tempranas de la vida. Microsomas de 234 donadores de hígado fueron analizados, las muestras se encontraban en el intervalo de edad de 8 semanas de gestación a 18 años. Los datos son graficados como medianas (barras), valores intercuartiles (cajas) y 10 a 90 percentiles (bigotes). Los valores atípicos se definieron como 1.5 veces los valores intercuartiles. Los datos del contenido microsomal fetal y postnatal se compararon usando una prueba de Mann Whitney (***) ($P < 0.001$). Texto traducido al español. Tomado de Hines RN, 2008 (22).



Varias isoformas de CYP450 (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1 y CYP1A1) exhiben polimorfismos genéticos, los cuales pueden incrementar el riesgo de un efecto adverso debido a una exposición crónica de fármacos en el infante. Los polimorfismos de CYP450 se relacionan principalmente con la carcinogénesis ambiental y con la respuesta aguda a medicamentos (RAM), que tienen que ver con el grado de actividad enzimática, clasificados como ultrarrápidos (UM), rápidos o extensivos (EM), intermedios (IM) y lentos (PM) (13, 19).

CONTENIDO HEPÁTICO DE CITOCROMOS P450 DURANTE EL DESARROLLO

Durante el desarrollo fetal y posnatal, el hígado sufre importantes cambios anatómicos y fisiológicos que pueden tener impacto significativo en la eliminación de xenobióticos durante el desarrollo infantil. La organogénesis hepática inicia en el mesodermo y endodermo durante las primeras 4 semanas de gestación. En las semanas 5 y 6 inicia la hematopoyesis e incrementa la síntesis de proteínas debido a un aumento de retículo endoplásmico liso y aparato de Golgi. Durante la 8ª semana, se ha evidenciado la expresión de enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos, mientras que para la décima semana, el retículo endoplásmico está desarrollado y el hígado tiene la capacidad de metabolizar lípidos y carbohidratos. En la etapa infantil el hígado contiene cerca del 20% menos hepatocitos que el hígado

adulto. Además, los hepatocitos infantiles tienen la mitad del tamaño que los hepatocitos adultos. En comparación al adulto, el hígado del recién nacido es anatómico y funcionalmente inmaduro. El desarrollo hepático postnatal se caracteriza por marcados cambios en la distribución cuantitativa de células, cesación de hematopoyesis, cambios en el volumen celular e incremento en la actividad enzimática y capacidad metabólica de hepatocitos. Se ha demostrado que con la edad el contenido de proteína microsomal cambia, en la etapa fetal se observan aproximadamente 26 mg/g de hígado, incrementándose los niveles al nacimiento hasta alcanzar su nivel máximo a los 30 años de edad. La figura 3 muestra los niveles de proteína microsomal hepática durante etapas tempranas de la vida (fetal y postnatal) (21-23). Mediante inmunoensayos se ha identificado que niveles CYP450 se mantienen estables a un tercio del valor de los adultos en toda la vida del feto. Proponiendo que la presencia de CYP450 funcionales en etapa temprana del desarrollo permite mantener el equilibrio entre los niveles de sustratos endógenos involucrados en los procesos que afectan la homeostasis, crecimiento y diferenciación. Posteriormente, en el periodo postnatal se observa incremento de los niveles de CYP450 hepático, los cuales alcanzan los niveles de un adulto al año de edad (2).

Hakkola y cols. 1998 reportan que en la etapa fetal el contenido total de CYP450 en microsomas hepáticos, determinado mediante espectrofotometría, es de 0.3 nmol/mg de proteína, concentración

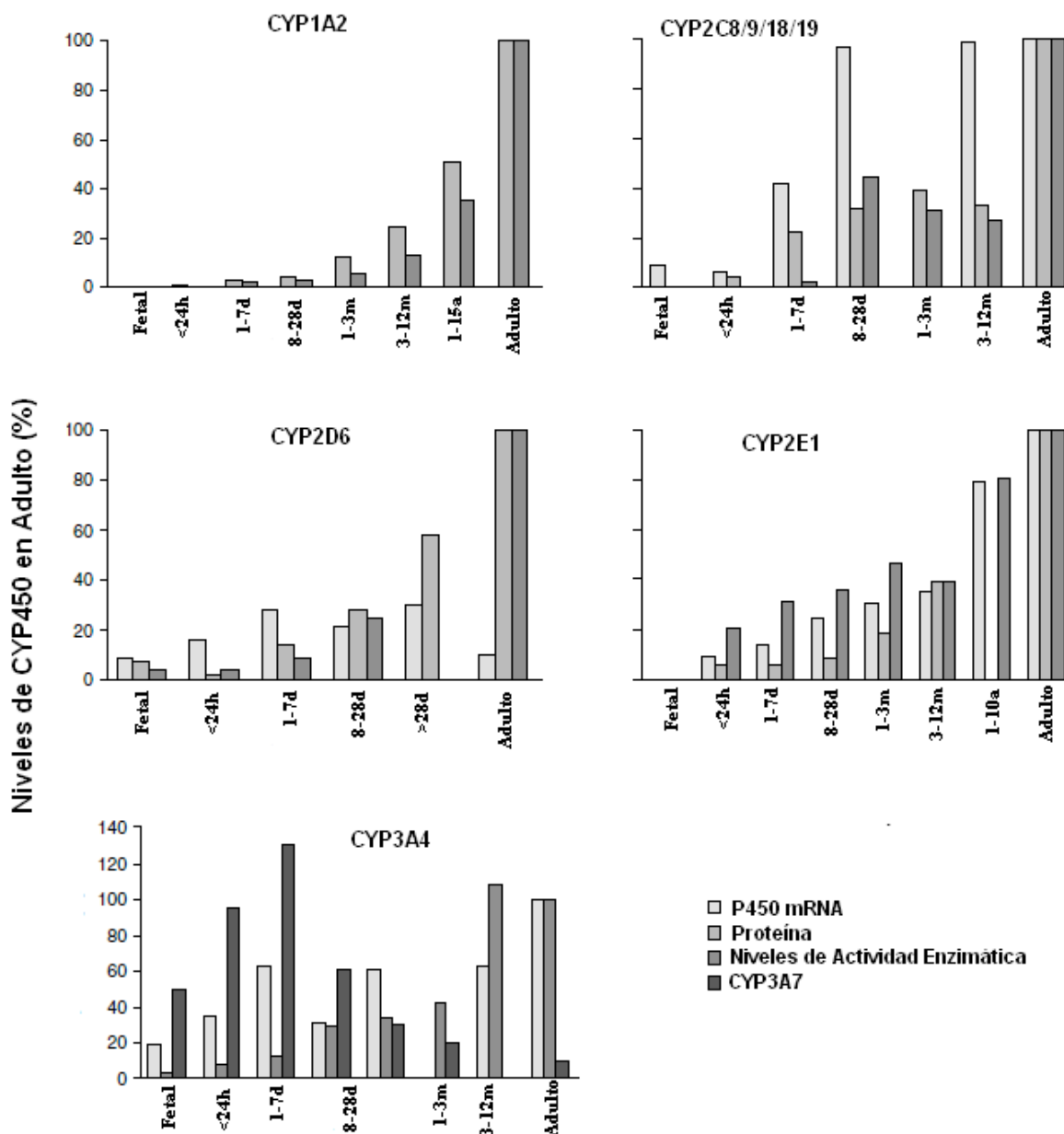


Figura 4. CYP450, niveles de mRNA, proteína y actividad enzimática en hígado humano durante la ontogenia. Todos los datos son expresados como porcentaje en relación a lo identificado en adultos. d= día, h= hora, m= mes y a= año. Texto traducido al español. Tomado de Alcorn J, 2002 (19).

menor a la reportada en hígado adulto (0.5 nmol/mg de proteína). Durante las etapas neonatal e infantil, los niveles de CYP450 son menores a los observados en etapa adulta. Los cambios en el contenido de enzimas microsomales dependientes de la edad pueden afectar el metabolismo de xenobióticos mediado por enzimas de CYP450, ya que las diferencias de expresión de CYP450 conllevan a perfiles de metabolismo y eliminación diferentes entre niños y adultos (21).

CYP450 DURANTE LA ONTOGENIA

En etapa fetal e infantil las enzimas CYP450 muestran marcadas diferencias de expresión de mRNA, proteína y actividad enzimática, en relación al comportamiento que presentan en el adulto (Fig. 4), por lo que estas diferencias se reflejan directamente en los perfiles de metabolismo y excreción de xenobióticos (14, 24). El metabolismo de teofilina es un ejemplo claro de estas diferencias,

este fármaco es metabolizado por CYP1A2, se ha reportado que microsomas fetales no muestran actividad enzimática, mientras que durante el primer trimestre de vida se observa un incremento, registrándose el 50% de la actividad reportada en el adulto al año de edad. Este patrón de desarrollo previene la biotransformación de la teofilina dando como resultado prolongados tiempos de vida media en el recién nacido y el infante. Otros ejemplos de fármacos donde los parámetros farmacológicos son alterados por la ontogenia de las enzimas que los metabolizan son la antipirina, teniposido, fenitoína, carbamazepina y quinidina entre otros (24, 25).

Familia 1

Esta familia está constituida por tres miembros: la isoforma CYP1A1, CYP1A2 y CYP1B1, las cuales están involucradas en el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) como dioxinas, β -naftoflavona y 3-metilcolantreno (3-MC), aminas aromáticas, estradiol y de fármacos como la aminotriptilina, teofilina, warfarina y el zolmitriptano. En el adulto CYP1A1 es expresado principalmente en tejidos extrahepáticos, donde es altamente inducible por compuestos como PAHs, 2,3,7,8-*p*-tetraclorodibenzodioxina (TCDD) y componentes del humo del tabaco. Debido a su importancia en la activación de procarcinógenos, se ha propuesto que CYP1A1 participa de manera importante en el desarrollo del cáncer inducido por agentes químicos. La isoforma CYP1A2 es principalmente hepática, constituye cerca del 13% del contenido total de citocromos del hígado, metaboliza diversas drogas, así como activa un gran número de carcinógenos principalmente aminas heterocíclicas y arilaminas (14). La ontogenia de la subfamilia CYP1A es controversial, Murray en 1992 (7) evidencia la expresión proteica de CYP1A en hígado de 16-20 semanas de gestación. En 1993 Mäenpää (26) no observa inmunodetección de CYP1A en microsomas de hígado humano en el periodo fetal. Omiecinski y cols. en 1990 (27) reportaron detección de mRNA de CYP1A1 en tejidos fetales como hígado (6 y 12 semanas) y pulmón (8 y 21 semanas), observando que en cada caso la expresión de CYP1A1 disminuye conforme aumenta la edad. En otros estudios donde se realizan ensayos de actividad enzimática utilizando como sustrato a la etoxiresorufina *O*-deetilasa (EROD). Shimada y cols. en 1996 (28) reportan actividades de 7.3 ± 5.5 y 290 ± 255 pmol/min/mg proteína en hígado fetal y adulto respectivamente. CYP1A2 es la principal enzima de la familia de CYP1A presente en el hígado adulto, contrariamente a CYP1A1 y CYP1B1, CYP1A2 no inter-

viene en el metabolismo de xenobióticos en etapa fetal. En trabajos donde se han aplicado métodos de inmunodetección y RT-PCR no ha sido posible evidenciar la expresión de CYP1A2 en etapa fetal (11 a 24 semanas). Sin embargo, en estudios *in vitro*, se ha evidenciado que en el primer trimestre de edad hay un incremento, al primer año de vida la actividad de CYP1A2 alcanza el 50% de la actividad que presenta un adulto (10, 20).

Por otro lado, se ha identificado que el CYP1B1 está presente en varios tejidos humanos y activa numerosos agentes carcinogénicos y mutagénicos como los PAH y las arilaminas, también puede hidroxilar compuestos endógenos como el 17 β -estradiol (14).

Hines y cols. 2002 (10) reportaron expresión de mRNA de CYP1B en hígado fetal (12 a 19 semanas de gestación). Contrariamente a lo reportado por Shimada en 1996 (28) quien no detectó el mRNA en hígado fetal y adulto. Mientras que Hakkola mostró en 1997 (29) expresión del mRNA en riñón, cerebro, glándula adrenal y pulmón fetal. Por último Choudhary y cols. en 2004 (30) detectaron la presencia de CYP1B1 en tejidos prenatales de humano, especialmente en los involucrados en la síntesis de hormonas.

Familia 2

Aunque no se expresan en altos niveles en el hígado, la expresión de las proteínas de esta familia es relativamente alta en varios tejidos extrahepáticos, incluyendo la mucosa olfatoria.

CYP2A

Subfamilia integrada por tres genes (CYP2A6, CYP2A7 y CYP2A13) y dos pseudogenes. Los genes CYP2A6, CYP2A7 y CYP2A13 están involucrados en el metabolismo de nicotina y otros precarcinógenos del humo del tabaco y otros tóxicos volátiles. CYP2A6 y CYP2A7, son expresadas en el hígado, CYP2A6 constituye alrededor del 4% del total de citocromos hepáticos humanos, mientras que la expresión de CYP2A7 es menor. Diversos reportes indican que el hígado fetal no expresa estas isoformas (21, 23). Hines y cols. (10), mediante inmunoensayos y análisis de expresión por RT-PCR, detectaron expresión de CYP2A6 y 2A13 en siete de ocho muestras de mucosa nasal de niños entre 13 y 18 semanas de edad.

CYP2B

Dos genes conforman esta subfamilia, de CYP2B6 y el CYP2B7. CYP2B6 cataliza reacciones como

la 7-etoxicumarina O-desmetilación (ECOD), la lidocaína N-deetilación y la testosterona 16α y 16β -hidroxilación. Además, lleva acabo el metabolismo de compuestos como la nicotina, el burpropión y muchas toxinas y carcinógenos. Su expresión en cerebro es específica en determinadas regiones y se localiza tanto en neuronas como en astrocitos. Los niveles de CYP2B6 se encuentran elevados en fumadores y alcohólicos, lo que puede alterar la sensibilidad a fármacos que actúan a nivel central, incrementar la susceptibilidad a toxinas y carcinógenos y contribuir a la tolerancia de la nicotina (10, 22). El hígado adulto presenta bajos niveles de expresión de los CYP2B6 y CYP2B7. Mediante técnicas convencionales de análisis de Western blot y RT-PCR no ha sido posible detectar expresión en tejido hepático fetal. La ontogenia de la subfamilia de CYP2B es desconocida. Sin embargo, Tateishi y cols. (31), reportaron altos niveles de expresión de la isoforma CYP2B6 en niños mayores de un año de edad en comparación con los niveles observados en adultos.

CYP2C

Esta subfamilia representa cerca del 20% del contenido total de CYP450 hepático. Cuatro isoformas funcionales conforman a la familia 2C (CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 y CYP2C19), siendo CYP2C9 la principal isoforma en el hígado adulto (18). Estas enzimas intervienen en el metabolismo de aproximadamente el 20% de los fármacos usados clínicamente (fenitoína, tolbutamida, diazepam, hexobarbital, omeprazol, ácido tienílico y diclofenaco). Diversos estudios indican baja pero detectable expresión de CYP2C en el hígado fetal. Hines (5), reporta que durante el primer trimestre de gestación, la expresión de CYP2C9 y CYP2C19 es menor al 1% (0.2 pmol/mg) y cerca del 10% (1.7 pmol/mg), respectivamente a los valores reportados en hígado adulto. En el segundo trimestre la expresión de CYP2C9 permanece constante, en contraste, la expresión de CYP2C19 aumenta del 10 al 20%, mientras que durante el tercer trimestre del desarrollo hepático, se observa un incremento importante en los niveles de expresión de CYP2C9, aumento de aproximadamente el 10% con respecto a lo reportado en hígado adulto. La expresión de CYP2C19 muestra un ligero cambio, lo cual indica que al término de la gestación CYP2C19 permanece constante, observándose un incremento en su expresión en el primer año de vida, proponiendo que su expresión es activada por un mecanismo asociado al nacimiento e independiente a la edad gestacional (5). El hígado fetal y del recién nacido (<1 semana de edad), muestran baja actividad

enzimática de CYP2C. Al primer mes de vida, la actividad de las enzimas CYP2C incrementa al 50% de la actividad observada en los adultos, después de este incremento, los niveles disminuyen ligeramente durante el primer año, posteriormente la actividad se incrementa a los niveles de un adulto después del primer año de vida (24).

CYP2D

En el genoma humano, existe un gen funcional (CYP2D6) y tres pseudogenes. CYP2D6, constituye del 1 al 2% del contenido total de CYP450 hepáticos, siendo responsable del metabolismo oxidativo de aproximadamente el 12% de los fármacos frecuentemente utilizados en la práctica clínica, incluyendo antitusivos, antihipertensivos y antidepresivos tricíclicos. Además, la isoforma CYP2D6 muestra alto grado de polimorfismos genéticos, los cuales han sido asociados a la respuesta farmacológica variable a una variedad de analgésicos, fármacos cardiovasculares y antidepresivos (10, 32).

La expresión o actividad de CYP2D6 ha sido investigada en el hígado durante la ontogenia del humano, en fetos de 17-40 semanas de gestación y en neonatos (recién nacidos e infantes). Mediante ensayos de actividad e inmunoensayos han identificado que en los niveles de proteína son extremadamente bajos, ya que la expresión es menor al 5% a la observada en los adultos, tanto en los fetos como en los recién nacidos, observándose un incremento en neonatos de 1 a 7 y de 7 a 28 días de edad. En contraste, se ha identificado que el mRNA de CYP2D6 está presente en concentración importante en la etapa fetal, incrementando gradualmente con la edad, alcanzando los niveles encontrados en los adultos después de las 24 horas postparto (33). Jeffrey y cols. en 2008 (32), inmunocuantificaron CYP2D6 en muestras de microsomas fetales, de niños y de adultos, encontrando bajos niveles de proteína durante el primer y segundo trimestre de vida fetal, aumentando los niveles al tercer trimestre en un porcentaje no mayor del 3 al 5% a lo observado en la etapa adulta. Otro estudio muestra que el hígado fetal tiene baja actividad enzimática de CYP2D6, aumentando dramáticamente durante el periodo postparto. Al primer mes de edad, la actividad alcanza cerca del 30% de los niveles encontrados en adultos, la maduración o el 100% de actividad es completada al año de edad (22).

CYP2E1

Citocromo abundantemente expresado en el hígado humano, en el adulto constituye aproximadamente

el 7% del contenido total de citocromos hepáticos. Es expresado en menor cantidad en pulmón, intestino delgado y cerebro. Cataliza la activación metabólica de compuestos aromáticos, benceno, N-nitrosodimetilamina, alcanos halogenados y otros compuestos de bajo peso molecular, los cuales tienen implicaciones toxicológicas en los humanos. Está implicado en el metabolismo de como el acetaminofén, isoniazida, halotano y enflurano. También metaboliza alcoholes, aldehídos y cetonas (34). Se ha demostrado que microsomas hepáticos fetales, expresan bajos niveles de actividad enzimática de CYP2E1. El parto desencadena un dramático incremento de la actividad durante las primeras 24 horas de vida, alcanzándose el 50% de la actividad presente en el adulto en los primeros 3 meses y el 100% al año de edad (23). Por otro lado, Hines (5), examinó la expresión de diferentes CYP450 entre ellos la isoforma CYP2E1 en fracciones microsomales de diferentes etapas del desarrollo humano, encuentra que la expresión de CYP2E1 durante el primer trimestre de vida fetal es nula. Posteriormente, en el segundo trimestre, la expresión es del 1 al 2% (0.3 pmol/mg), con respecto a los valores reportados en hígado adulto. Durante el tercer trimestre los niveles de CYP2E1 incrementan hasta en un 10% al observado en hígado adulto (5.8 pmol/mg). Mientras que al nacimiento y durante el periodo neonatal, se observa un incremento de expresión de casi el triple (13.4 pmol/mg). La expresión hepática de CYP2E1, incrementa gradualmente con el desarrollo, al año de edad representa del 30 al 40% de los niveles encontrados en el hígado adulto y alcanza el 100% a los 10 años.

Familia 3

Es el grupo más abundante de enzimas CYP450 en el hígado, está constituida por tres isoformas: CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7, las cuales están estructuralmente relacionadas. La similaridad entre la secuencia de aminoácidos de CYP3A4 y CYP3A5 es del 83%, mientras que la de 3A4 y 3A7 es del 88%. A pesar de su semejanza estas subfamilias difieren en su distribución en los tejidos, la edad de aparición y propiedades metabólicas (14). CYP3A4 es la enzima predominante del hígado adulto, mientras que en hígado fetal la principal enzima es CYP3A7. Aunque CYP3A4 y CYP3A7 en su secuencia de nucleótidos muestran 95% de similitud, tienen importantes diferencias en la especificidad de sus sustratos. CYP3A7 puede metabolizar gran variedad de sustratos, de los cuales algunos también son sustratos de CYP3A4 (24).

CYP3A7

Es la principal isoforma de CYP450 detectada en el hígado en etapa fetal y neonatal, constituye cerca del 32% del contenido total de CYP450 hepático. Juega un papel importante en el metabolismo de compuestos endógenos, cataliza la 16 α -hidroxilación de la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S), reacción importante en la formación de estradiol durante la gestación (35). CYP3A7 es detectable en etapas tempranas de la gestación (50-60 días), mostrando un pico máximo de actividad en la primera semana postparto. Posteriormente, la actividad de CYP3A7 disminuye significativamente durante el primer año de vida, en la etapa adulta también se puede observar actividad de CYP3A7 hepático, sin embargo, comparada con la observada en hígado fetal esta actividad es menor al 10%, se propone que esta expresión residual se debe a polimorfismos en la región promotora (18, 24). En un estudio donde se analizó por Western blot la expresión de CYP3A7 en diferentes etapas del desarrollo fetal y neonatal, se pudo observar que durante el primer trimestre de gestación el CYP3A7 predomina abundantemente mostrando un contenido de 260 pmol/mg, concentración que triplica al contenido de CYP3A4 reportado en hígado adulto. Durante el segundo y el tercer trimestre de gestación no se observan cambios en los niveles de expresión de CYP3A7. Sin embargo, al nacimiento y durante el periodo neonatal, se observa una disminución importante de más del 50%. Cercano al año de edad, la concentración del CYP3A7 disminuye a 27.3 pmol/mg, aproximadamente al 10% de la concentración que se observa en el primer trimestre de gestación (5).

CYP3A4

Enzima expresada principalmente en el hígado y en intestino delgado, constituye aproximadamente del 30 al 40% del contenido total de citocromos hepáticos. Cataliza el metabolismo oxidativo de la eritromicina, midazolam, triazolam, ciclosporina, lidocaína, nifedipina, entre otros agentes terapéuticos de importancia clínica. Metaboliza compuestos endógenos como la testosterona, cortisol, progesterona, androstanediol, DHEA-S y estradiol. También metaboliza compuestos como la esterigmatocistina y la aflatoxina B, los cuales son potentes procarcinógenos (35). El hígado fetal muestra limitada actividad de CYP3A4 (cerca del 10% a la observada en etapa adulta). Al mes de edad, se observa un incremento del 30-40% del nivel mostrado en adultos, alcanzando su madu-

ración al año de edad (13). En tejido embrionario hepático (entre 6 y 12 semanas de gestación), no se ha detectado expresión de mRNA de CYP3A4. En contraste, se ha detectado mRNA en microsomas de hígado fetal (entre 11 y 30 semanas de gestación), esta expresión es cercana al 10% del contenido total de CYP3A4 en hígado adulto, incrementando la expresión inmediatamente al nacimiento y alcanzando hasta un 50% de los niveles de un adulto entre los 6 y 12 meses de edad (14).

CYP3A5

En el adulto se considera el segundo miembro de la subfamilia CYP3A, de acuerdo a su secuencia de aminoácidos es 83% homólogo a CYP3A4. En el hígado CYP3A5 se encuentra en menor concentración (del 10 al 30%). La especificidad de sustratos es similar a la de CYP3A4. Sin embargo, existen algunas diferencias en sus propiedades catalíticas, ya que es generalmente menos activo, es considerado de muy pobre actividad (14, 36). Hines en 2007 (5), analiza la expresión hepática de CYP3A5 durante la gestación, al nacimiento y en etapa neonatal. Observa que en el primer trimestre de gestación la expresión de CYP3A5 es nula, posteriormente, durante el segundo trimestre la expresión empieza a ser detectable (5.2 pmol/mg) y para el tercer trimestre la expresión de CYP3A5 está en aumento (9.7 pmol/mg), mientras que al nacimiento la expresión se mantiene constante.

CONCLUSIÓN

A menudo en la práctica clínica, los niños son generalmente tratados como "adultos pequeños". Las dosis de fármacos utilizadas en los adultos son ajustadas con base en el peso y área corporal del niño. El comportamiento farmacológico de muchos compuestos en niños difiere al de los adultos. Se ha demostrado que al nacimiento los órganos involucrados en absorción, distribución y eliminación renal y hepática no han terminado de madurar, además, durante el desarrollo infantil los sistemas encargados de la desintoxicación y eliminación de xenobióticos son ineficientes. Diversos estudios han establecido que durante el desarrollo humano ocurren cambios importantes en la expresión de subfamilias del CYP450 que se encargan del metabolismo de fármacos. Dichos cambios ocasionan que algunas de estas enzimas no se activen hasta que se alcanza cierta edad, provocando que el fármaco sea eliminado lentamente, se incremente su concentración en plasma y que este se acumule por exposición crónica, lo que da como resultado alteración de la eficacia, toxicidad y reacciones adversas en pacientes pediátricos. Con el fin de identificar las ventanas de vulnerabilidad relacionadas con la edad, el conocimiento de la expresión y actividad de estas enzimas durante la ontogenia, así como el de las vías de desintoxicación en relación a mecanismos moleculares y celulares implicados en la producción de reacciones adversas, permitirá garantizar un mejor tratamiento farmacológico y más seguro para los niños.



REFERENCIAS

1. Ennulat D, Walker D, Clemo F, Magid-Slav M, Ledieu D, Graham M, Botts S, Boone L (2010) Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induction on clinical pathology parameters in animals and man. *Toxicol Pathol* 38: 810-828.
2. Guengerich FP (2006) Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J* 8:E101-E111.
3. Orellana BM, Guajardo TV (2004) Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. *Rev Méd Chile* 132:85-94.
4. Isin EM, Guengerich FP (2007) Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Biochim Biophys Acta* 1770:314-329.
5. Hines RN (2007) Ontogeny of human hepatic cytochromes P450. *J Biochem Mol Toxicol* 21:169-175.
6. Sonnier M, Cresteil T (1998) Delayed ontogenesis of CYP1A2 in the human liver. *Eur J Biochem* 251:893-898.
7. Murray GI, Foster CO, Barnes TS, Weaver RJ, Snyder CP, Ewen SW, Melvin WT, Burke MD (1992) Cytochrome P4501A expression in adult and fetal human liver. *Carcinogenesis* 13:165-169.
8. Yang H-YL, Namkung MJ, Juchau MR (1995) Expression of functional cytochrome P4501A in human embryonic hepatic tissues during organogenesis. *Biochem Pharmacol* 49:717-726.
9. Repetto Jiménez M, Repetto Kuhn G (2009) *Toxicología Fundamental*. 4ª edición, Ediciones Díaz de Santos, p.41.

10. Hines RN, McCarver DG (2002) The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase I oxidative enzymes. *J Pharmacol Exp Ther* 300:355-360.
11. Sono M, Roach MP, Coulter ED, Dawson JH (1996) Heme-containing oxygenases. *Chem Rev* 96:2841-2888.
12. Guengerich FP (2002) Rate-limiting steps in cytochrome P450 catalysis. *Biol Chem* 383:1553-1564.
13. Coutiño EM, Purrata A, Hernández P (2010) Citocromo P450 biomarcador de exposición terapéutico-toxicológico-carcinogénico. *REB* 29:39-52.
14. de Wildt SN, Kearns GL, Leeder JS, van den Anker JN (1999) Cytochrome P450 3A: Ontogeny and drug disposition. *Clin Pharmacokinet* 37:485-505.
15. Guengerich FP (2008) Cytochrome P450 and chemical toxicology. *Chem Res Toxicol* 21:70-83.
16. Choudhary D, Jansson I, Stoilov I, Sarfarazi M, Schenkman JB (2005) Expression patterns of mouse and human CYP orthologs (families 1-4) during development and in different adult tissues. *Arch Biochem Biophys* 436:50-61.
17. Tam OH, Aravin AA, Stein P, Girard A, Murchison EP, Cheloufi S, Hodges E, Anger M, Sachidanandam R, Schultz RM, Hannon GJ (2008) Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes. *Nature* 453:534-538.
18. Biéche I, Narjoz C, Asselah T, Vacher S, Marcellin P, Lidereau R, Beaune P, de Waziers E (2007) Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP)1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenet Genomics* 17:731-742.
19. Alcorn J, McNamara PJ (2002) Ontogeny of hepatic and renal systemic clearance pathways in infants. Part I. *Clin Pharmacokinet* 41:959-998.
20. Muntané J (2009) Regulation of drug metabolism and transporters. *Curr Drug Metab* 10:932-945.
21. Hakkola J, Pelkonen O, Pasanen M, Raunio H (1998) Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in the human feto-placental unit: role in intrauterine toxicity. *Crit Rev Toxicol* 28:35-72.
22. Hines RN (2008) The ontogeny of drug metabolism enzymes and implications for adverse drugs events. *Pharmacol Ther* 118:250-267.
23. Hakkola J, Tanaka E, Pelkonen O (1998) Developmental expression of cytochrome P450 enzymes in human liver. *Pharmacol Toxicol* 82:209-217.
24. Alcorn J, McNamara PJ (2003) Pharmacokinetics in the newborn. *Adv Drug Deliv Rev* 55:667-686.
25. Johnson TN (2003) The development of drug metabolising enzymes and their influence on the susceptibility to adverse drug reactions in children. *Toxicology* 192:37-48.
26. Mäenpää J, Rane A, Raunio H, Honkakoski P, Pelkonen O (1993) Cytochrome P450 isoforms in human fetal tissues related to phenobarbital-inducible forms in the mouse. *Biochem Pharmacol* 45:899-907.
27. Omiecinski CJ, Redlich CA, Costa P (1990) Induction and developmental expression of cytochrome P4501A1 messenger RNA in rat and human tissues: detection by the polymerase chain reaction. *Cancer Res* 50:4315-4321.
28. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Wakamiya N, Ueng Y-F, Guengerich FP, Inui Y (1996) Characterization of microsomal cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal liver and adult lungs. *Drug Metab Dispos* 24:515-522.
29. Hakkola J, Pasanen M, Pelkonen O, Hukkanen J, Evisalmi S, Anttila S, Rane A, Mäntylä M, Purkunen R, Saarikoski S, Tooming M, Raunio H (1997) Expression of CYP1B1 in human adult and fetal tissues and differential inducibility of CYP1B1 and CYP1A1 by Ah receptor ligands in human placenta and cultured cells. *Carcinogenesis* 18:391-397.
30. Choudhary D, Jansson I, Sarfarazi M, Schenkman J (2004) Xenobiotic-metabolizing cytochromes P450 in ontogeny: evolving perspective. *Drug Metab Rev* 36:549-568.
31. Tateishi T, Nakura H, Asoh M, Watanabe M, Tanaka M, Kumai T, Takashima S, Imaoka S, Funae Y, Yabusaki Y, Kamataki T, Kabayashi S (1997) A comparison of hepatic cytochrome P450 protein expression between infancy and postinfancy. *Life Sci* 61:2567-2574.
32. Jeffrey CS, Marsh SA, Matthew JZ, Regina KJ, Divakaran K, Min L., Hines RN (2008) Developmental changes in human liver CYP2D6 expression. *Drug Metabol Dispos* 36: 1587-1593.
33. Rich KJ, Boobis AR (1997) Expression and inducibility of P450 enzymes during liver ontogeny. *Microsc Res Tech* 39:424-435.
34. Vieira I, Sonnier M, Cresteil T (1996) Developmental expression of CYP2E1 in the human liver. Hypermethylation control of gene expression during the neonatal period. *Eur J Biochem* 238:476-483.

35. Hakkola J, Raunio H, Purkunen R, Saarikoski S, Vahakangas K, Pelkonen O, Edwards RJ, Boobis AR, Pasanen M (2001) Cytochrome P450 3A expression in the human fetal liver: evidence that CYP3A5 is expressed in only a limited number fetal livers. *Biol Neonat* 80:193-201.
36. Lacroix D, Sonnier M, Moncion A, Cheron G, Cresteil T (1997) Expression of CYP3A in human liver Evidence that the shift between CYP3A7 and CYP3A4 occurs immediately after birth. *Eur J Biochem* 247:625-634.