



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS DEL EXON 9 DEL GEN
METABOLIZADOR DE FARMACOS CYP2D6 EN POBLADORES
PERUANOS 2017

PRESENTADO POR
YOUN HO KIM

ASESOR
GEZEL RAQUEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA

LIMA – PERÚ

2018



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada
CC BY-NC-ND

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede cambiar de ninguna manera ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO**

**FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS DEL EXON 9 DEL GEN
METABOLIZADOR DE FARMACOS CYP2D6 EN POBLADORES
PERUANOS 2017**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**PARA OPTAR
EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA**

PRESENTADO POR

YOUN HO KIM

ASESOR

DRA. GEZEL RAQUEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ

LIMA, PERÚ

2018

ÍNDICE

	Págs.
Portada	i
Índice	ii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Formulación del problema	3
1.3 Objetivos	3
1.4 Justificación	4
1.5 Viabilidad y factibilidad	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 Bases teóricas	12
2.3 Definición de términos básicos	20
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	21
3.1 Formulación de la hipótesis	21
3.2 Variables y su operacionalización	21
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	22
4.1 Tipos y diseño	22
4.2 Diseño muestral	22
4.3 Técnicas y procedimientos de recolección de datos	22
4.4 Procesamiento y análisis de datos	27
4.5 Aspectos éticos	28
CRONOGRAMA	29
PRESUPUESTO	30
FUENTES DE INFORMACIÓN	31
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia	
2. Instrumentos de recolección de datos	
3. Consentimiento informado	

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

El estudio de las variedades o mutaciones del gen CYP2D6 y otros están inmersos en el campo de la farmacogenética, ciencia que busca la aplicabilidad del conocimiento preventivo de estas variaciones génicas para una medicación racional, es decir, una dosis adecuada y específica para cada individuo.⁽¹⁾

Existen investigaciones que han determinado las variaciones poblacionales del gen CYP2D6 en poblaciones europeas, norteamericanas, asiáticas y africanas ⁽²⁾. En Sudamérica se han determinado estas variantes poblacionales en Brasil ⁽³⁾, Chile ⁽⁴⁾, Uruguay ⁽⁵⁾, Colombia ⁽⁶⁾, Venezuela ⁽⁷⁾, Argentina y Paraguay ⁽⁸⁾.

En el Perú, investigaciones previas han logrado por respuesta en cadena de la polimerasa (PCR), estandarizar el incremento de 7 de los 9 exones del gen CYP2D6. ⁽⁹⁾ No obstante, todavía no se han detectado alteraciones en los resultados de las investigaciones que hayan detectado alguna variante del gen CYP2D6.

La localización del gen CYP2D6 situado en el cromosoma 22, teniendo una posición 22q13.1, por lo común consta de un gen activado y dos pseudogenes. El gen CYP2D6 es gran medida polimórfico y se ha reconocido por lo menos 50 tipos alélicos diferentes ⁽¹⁾.

CYP2D6 es una familia del citocromo P450, está comprendida en el metabolismo de una extensa serie de medicamentos de uso clínico, como neurolépticos, inhibidores

selectivos de la re obtención de serotonina, antidepresivos y beta-bloqueantes, como también de algunas sustancias endógenas ⁽¹⁾.

Los alelos deficientes más usuales, que acarrearán como resultado la falta de la enzima CYP2D6 o una modificación de su quehacer enzimático son CYP2D6*3, *4, *5 *10 y *17. El polimorfismo genético, de esta enzima monocromosomal genera diferentes subtipos de individuos en la población: metabolizadores rápidos, metabolizadores intermedios y metabolizadores lentos, que no coinciden en la disposición de llevar a cabo una reacción de oxidación de los fármacos ⁽³⁾.

De esta manera, cuando un sujeto es un acetilador lento, va almacenar metabolitos en sangre, lo cual pueden generar reacciones adversas, cancerígenas, tóxicas, hasta mortales, influyendo en su seguridad. Originando, que las personas presenten este fenotipo siendo más propensas a sufrir reacciones adversas frente a la administración de fármacos. Adversamente, si un fármaco disminuye o anula su eficacia o, en ocasiones, se convierte en tóxico es por causa que este sea un acetilador rápido, biotransformando el xenobiótico en un metabolito inactivo o más hidrosoluble ⁽³⁾.

Por lo antes citado el próximo paso es llegar a detectar y determinar frecuencias alélicas (mutaciones) de este gen en la población peruana. Con este fin, se pueden usar técnicas como el secuenciamiento genómico.

Si se lograra instaurar la regularidad de este gen CYP2D6 T en poblaciones peruanas, se garantizaría un óptimo tratamiento farmacológico al reducir potencialmente la

cantidad de sucesos adversos y mejorar el resultado terapéutico mediante una dosis individualizada.

Desde este punto de vista es importante y necesario evaluar el polimorfismo del gen *cyp2d6* en pacientes peruanos.

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es la frecuencia del polimorfismo del exón 9 del gen metabolizador del fármaco CYP2D6 en pobladores peruanos?

1.3 Objetivos

Objetivo general

Determinar la frecuencia de polimorfismos del exón 9 del gen metabolizador de fármacos CYP2D6 en pobladores peruanos.

Objetivos específicos

Detectar nuevas mutaciones en el exón 9 del gen CYP2D6 en pobladores peruanos.

Comparar las frecuencias de mutaciones del exón 9 del gen CYP2D6 entre pobladores peruanos.

Comparar si la frecuencia de polimorfismos en el gen CYP2D6 en las poblaciones peruanas elegidas es semejante a la ubicada en la población hispánica.

1.4 Justificación

La buena praxis en la terapéutica médica es un hábito que se practica desde épocas inmemorables, sin embargo, el avance avasallante del conocimiento cada vez pone más de manifiesto una serie de factores que no se tienen en cuenta e influyen, tanto en el inicio como en el transcurso de la terapéutica farmacológica, pudiendo generar como impacto: mala praxis, morbilidad y mortalidad.

Así, en paralelo al impacto del descubrimiento del genoma humano, se van conociendo factores genéticos que intervienen en los procedimientos de salud y enfermedad.

Hoy sabemos que las mutaciones del gen CYP2D6 inciden en la respuesta del hombre hacia los fármacos, así la administración de una misma dosis genera respuestas variables entre las poblaciones e intrapoblaciones, repercutiendo en la seguridad y eficiencia de la terapéutica.

Conocer las variantes genéticas del gen CYP2D6, permite prevenir reacciones adversas medicamentosas, como también mejorar la eficiencia terapéutica, e individualizar según la constitución biológica de un individuo la dosis farmacológica a su real medida.

La finalidad del presente estudio es manejar las necesidades médicas justificadas y actuales, de igual forma, lograr una contribución directa al área de la salud. Por otra parte, con el producto de la investigación se aspira producir una recolección de datos

que nos ayude la evaluación de la diversidad genética en los peruanos, dado que, específicamente, determinaría polimorfismos del gen CYP2D6 a nivel poblacional.

1.5 Viabilidad y factibilidad

Este estudio es viable porque el Centro de Genética y Molecular cuenta con protocolos estandarizados para la extracción de ADN de muestras de sangre, para realizar PCR de los exones 7 del gen CYP2D6 y para realizar pruebas de secuenciamiento.

Además, este estudio es factible por lo que se recibió capacitación en el Centro de Genética y Molecular de la Universidad de San Martín de Porres – Facultad de Medicina desde enero de 2009 hasta la actualidad. Es importante mencionar que se cuenta con el acceso y disponibilidad de la tecnología del Centro de Genética y Biología Molecular de la Universidad de San Martín de Porres - Facultad de Medicina Humana.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Buzková H, et al. (2008), publicaron una investigación sosteniendo que al concertar el genotipo de CYP2D6 se puede emplear para presagiar el fenotipo CYP2D6 y de esta manera argumentar ciertas anomalías en la respuesta a los fármacos que en consecuencia se podría mejorarla terapia farmacológica. Por esa razón, definieron que la reiteración de variantes alélicas del gen CYP2D6, funcionalmente es de suma importancia en toda la población Checa, con la finalidad de predecir la prevalencia de fenotipos de metabolizadores ultra-rápidos y escasos. Estudiaron el ADN de 223 voluntarios sanos siendo hombres y mujeres sin relación, para así, obtener la presencia de CYP2D6 *6, *5,*4, *3 y genes duplicados. Las frecuencias en la población de los alelos variantes fueron 0.22%, 3.14%, 22.87%, 1.12% y 3.14% para CYP2D6*6, CYP2D6*5, CYP2D6*4, CYP2D6*3 y CYP2D6*MXN, siendo respectivamente. Quince sujetos presentaron dos alelos variantes que implica un metabolismo pobre, ochenta y cuatro sujetos fueron heterocigotos metabolizadores extensos. Los alelos variantes distribuidos cumplen con el equilibrio de Hardy–Weinberg y concretaron que las frecuencias funcionales de los alelos variantes del CYP2D6 en población Checa coinciden con otras poblaciones Caucásicas⁽¹⁰⁾.

Aydin M, et al. (2016) publicaron un estudio donde se analizaron las variantes del genotipo CYP1A1 y CYP2D6 y las frecuencias del alelo por PCR-RFLP en individuos turcos, descubrieron que la frecuencia relativa del alelo mutante de la CYP1A1*2A era de 15,4 % y en los alelos mutante será de CYP2D6*3 y *4 fueron 2.5% y 13.9% correspondientemente, siendo este estudio en dar los primeros resultados de

CYP1A1 y CYP2D6 perteneciente a la distribución de los alelos mutantes en la población turca, estos resultaron proporcionar un entendimiento de los estudios epidemiológicos que se relacionan desde los puntos de vista tanto terapéuticos como etiológicamente de distintos tipos de tumores malignos en pacientes turcos ⁽¹¹⁾ .

Luna Avilés I, et al. (2007) publicaron en una investigación para evaluar la susceptibilidad genética en los efectos genotóxicos perteneciente a los plaguicidas, entonces para ellos, tomaron en cuenta 4 muestras al azar de sujetos controles y expuestos. Llevaron a cabo primeramente un aislamiento del ADN guiándose del protocolo admitido por la Sección de Genómica de Cáncer del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América con algunos cambios. Posteriormente una amplificación por reacciones en cadena de la polimerasa, dado los segmentos de importancia empleando cebadores específicos planificados en el CBM-UCA por el MSc Ian Roustán Espinoza, empleando el software Biology WorkBench 3.2, Oligonucleotid Property Calculator y Primer 3; para que sean identificados los polimorfismos del 6 gen CYP2D6. Finalmente se llevó a cabo el reconocimiento de las bandas de ADN utilizando la electroforesis y revelado en luz ultravioleta ⁽¹²⁾.

González I, et al. (2007) publicaron una investigación analizando las diferencias inter-étnicas del polimorfismo metabólico de hidroxilación de debrisoquina en 260 cubanos voluntarios sanos siendo comparando con la de los españoles y evidenciaron la presencia de 2 fenotipos del CYP2D6 en la población cubana y en la frecuencia de metabolizadores ultra-rápidos con respecto a los españoles. Analizaron el índice

metabólico (IM) (divididos en blancos y mestizos) que fueron comparados con 925 españoles sanos voluntarios. La frecuencia de metabolizadores lentos fue semejante entre cubanos y españoles (un 4.6 y un 4.9%, respectivamente). Sin embargo, la prevalencia de metabolizadores ultrarrápidos ($IM \leq 0,1$) fue menor en cubanos (3.8%) que en españoles (5.2%). El IM en metabolizadores rápidos fue mayor ($p < 0.05$) en los mestizos que en los cubanos blancos. En los españoles determinaron que la frecuencia de ML es del 4.9% siendo similar a la de otras poblaciones caucásicas y superior con respecto a la población de los chinos y orientales⁽¹³⁾.

Cortés A, et al. (2007) publicaron una investigación, donde se evaluaron 21 muestras de ADN, el genotipo de CYP2D6 a través del AmpliChip CYP450 y los resultados obtenidos fueron comparados por medio de un método convencional observaron en 15 de las muestras evaluadas, una coincidencia total de los resultados adquiridos por ambos métodos mencionados. Cinco de las seis muestras con resultados distintos presentaron alelo *2 por método tradicional y alelo *35 por AmpliChip CYP450. El AmpliChip CYP450 permitió determinar la presencia de los alelos más esenciales en un periodo de tiempo corto siendo fiable para el genotipo del gen CYP2D6. La matriz de AmpliChip CYP450, abarca más de 15000 sondas de oligonucleótidos y permite detectar 33 alelos CYP2D6; 24 de ellos se caracterizan por cambios en un solo nucleótido, (*2, *3, *4, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *14A, *14B, *15, *17, *19, *20, *25, *26, *29, *30, *31, *35, *36, *40 y *41), siete alelos poseen duplicaciones del gen (*1xN, *2xN, *4xN, *10xN, *17xN, *35xN y *41xN) y se denomina alelo *5 al portador de la elección del gen. Concluyeron que por este método la asignación de alelo *35 en estas muestras es más adecuada ya que, el polimorfismo adicional que identifica

dicho alelo no se detecta por métodos convencionales. En la última muestra discrepante por método convencional se obtiene un patrón genotípico *1/*4 y la matriz es capaz de detectar la presencia de alelo *4 pero no determina el otro alelo. La asignación de la existencia del alelo *1 por defecto se interpretó como incorrecta ⁽¹⁴⁾.

Schaeffeler E, et al. (2003) publicaron una investigación donde desarrollaron un novedoso método para determinar la dosis gen CYP2D6 por genoma. El ensayo de PCR TaqMan para amplificar específicamente genómica 7 a tiempo real CYP2D6 fue establecida mediante el uso de un conjunto específico de cebadores de amplificación y la sonda, que se encuentra en el exón 9, que prevenir eficazmente la amplificación de pseudogénes CYP2D7 y CYP2D8. Amplificación CYP2D6 cuantitativa los datos se normalizaron a la albúmina como un gen de referencia interna que se coamplifican simultáneamente en un ensayo bplex en un solo tubo. El ensayo se validó con una selección de muestras de ADN previamente genotipo contiene ninguno, uno, dos, o tres copias del gen CYP2D6. Los resultados fueron altamente reproducible y estrechamente emparejado el número de genes con ningún solapamiento entre los grupos. El análisis mostro una alta sensibilidad y especificidad para muestras de ADN que contienen todos los principales alelos y genotipos y demostrando que se puede determinar la presencia de alelos CYP2D6n*2 (duplicación de genes) y CYP2D6*5 (gen supresor). La previsibilidad de la nueva estrategia fue evaluada de forma sistemática. La semiautomatización del Ensayo TaqMan permite el alto flujo de muestras y será útil para los estudios de farmacogenética como también para ajustar los diagnósticos clínicos ⁽¹⁵⁾.

Guzmán V, et al. (2006), hicieron una revisión sistemática a los artículos en el idioma español, inglés y portugués, publicados hasta el 30 de junio de 2005, de las bases de literatura biomédica PubMed, Excerpta Medica, LILACS y SciELO. Ellos evaluaron la influencia de factores biológicos y sociales del hospedero en el comportamiento de este complejo enzimático y la relación entre los factores genéticos y fenotípicos del sistema enzimático del citocromo P450 y la respuesta terapéutica a cuatro antimaláricos: cloroquina, la amodiaquina, la mefloquina y el proguanil. Se usaron los siguientes descriptores: “CYP-450” y “citocromo P-450” y sus combinaciones con cada uno de los antimaláricos en estudio, luego “farmacocinética de proguanil” y “resistencia a proguanil” de cada una de las drogas, luego se buscaron los descriptores “metabolismo”, “farmacogenética”, “enfermedad”, “inflamación”, “infección”, “enfermedad hepática”, “malaria”, “nutrición” y “desnutrición”. Estos mismos términos se buscaron en inglés. Encontraron que algunos factores genéticos del citocromo P 450 humano, tal como de otros, ya sea de tipo biológico y social, influyen en la función de ese complejo enzimático en biotransformación de la amodiaquina y de la cloroquina. Encontraron que la eficacia terapéutica a los medicamentos antimaláricos es un proceso multifactorial y poco conocido⁽¹⁶⁾.

Ford G et al. (2003) publicaron una investigación donde trataron de determinar si CYP2D6 (hidroxilasa debrisoquina) o CYP2C19 (S-mefenitoína hidroxilasa) es un factor de riesgo para la cardiotoxicidad de 8 terodilina, de cuya concentración dependiente los cambios en el segmento QT. Los ocho pacientes sobrevivieron a la taquicardia ventricular o taquicardia ventricular en pointes, luego de haber recibido tratamiento con terodilina y la prevalencia del genotipo se comparó con el de la

población general. Los resultados determinaron que un paciente era un metabolizador pobre del CYP2D6 siendo CYP2D6*4 homocigotos y otro era heterocigoto para CYP2D6*4 que correspondía a la frecuencia ligeramente menor para estos genotipos en la población general (P=0.31). En el caso de CYP2C19, un paciente era un pobre metabolizador y cuatro eran heterocigotos para la variante CYP2C19*2 alelo, en comparación con las frecuencias de la población general de 2% y 23%, respectivamente (P=0.035). Concluyeron que el metabolismo pobre de debrisoquina no es el principal responsable de la cardiotoxicidad de terodilina. Sin embargo, el alelo CYP2C19*2 parece contribuir a reacciones cardíacas adversos a terodilina, de esta manera demostraron la contribución de los genotipos que afectan el metabolismo de la terodilina en la aparición de reacciones adversas poco comunes de este medicamento ⁽¹⁷⁾.

Fité R, et al. (2015) publicaron una investigación donde se evaluó la constancia alélica de las variantes CYP2D6*4, *6 y *10, en 21 personas menonitas en el país centroamericano de México y se encontró que después del genotipo *1/*1 (0.57), el más constante fue el *1/*4 (0.33). La frecuencia de la variante alélica *10 (0.05) en esta población fue semejante a la descrita en población rusa (0.042) y más elevada que la descrita en alemanes (0.015) ⁽¹⁸⁾.

Roco A, et al. (2014) publicaron una investigación en Venezuela donde se compararon las frecuencias obtenidas con poblaciones de otros países y se encontró

que el alelo más dominante fue CYP2D6*4 con 16.5%, se encontró una diferencia significativa con la reportada en pobladores asiáticos⁽¹⁹⁾.

Se hizo una revisión de la bibliografía en National Center for Biotechnology Information y no se encontró ninguna investigación del gen CYP2D6 en los pobladores peruanos. Tampoco se encontró ninguna aplicación de la técnica de secuenciamiento para encontrar mutaciones en el gen CYP2D6.

2.2 Bases teóricas

El complejo enzimático CYP

Posee 144 enzimas repartidas en diferentes órganos y tejidos, sobre todo en las membranas endoplasmáticas del hígado. Cada una de las enzimas están constituidas mediante los siguientes elementos como; grupo proteínico determinado hémico del tipo ferroprotoporfirina IX, cadena polipeptídica encriptada por un solo gen, enzima flavoproteínica sujeta a la NADH y el Citocromo b5⁽²⁰⁾.

Las enzimas dependen de la familia, para poseer una nomenclatura, la sub-familia y el gen que las codifica. La familia está constituida por un conjunto de enzimas con una estructura homóloga de 35 a 40% y se refleja por un número arábico predeterminada de la sigla CYP. Las subfamilias enzimas constituidas por una homología de 65 a 70% se reconocen a través de la adición de una letra mayúscula, por ejemplo, CYP3A, CYP2C, siendo la subfamilia CYP3A, la más abundante en los humanos y cumpliendo un rol principal en el metabolismo de los medicamentos²¹. El gen que codifica una enzima se enlaza agregando un número arábico y utilizando letra cursiva⁽²²⁾.

Es importante destacar que gracias a la experimentación en animales y cultivos celulares se demostró que diversos químicos son capaces de inducir a las P450. Por el contrario, la inducción In vivo en humanos no ha sido llevada a cabo con la misma facilidad, debido a que hay una notable carencia de parámetros farmacocinéticos de diagnósticos para varios P450 ⁽²³⁾.

Además, se han realizado estudios en ratones modificados genéticamente mediante inductores e inhibidores de esta enzima, lo cual aporta una clara evidencia de que la alteración en su actividad puede modificar la sensibilidad de los ratones a diversos productos químicos. Son incuestionables los efectos de la variabilidad de P450 en la toxicidad química y el riesgo de cáncer, a pesar de ello, demostrar la relación con la enfermedad humana ha sido difícil. Actualmente se busca la identificación de SNPs como base de asociaciones epidemiológicas a diferentes enfermedades ⁽²⁴⁾.

Las integrantes de esta gran familia de enzimas son las siguientes:

- La P450 1A1 que se encuentra principalmente en el hígado fetal, pulmón, placenta y células sanguíneas periféricas y está asociada con susceptibilidad al cáncer pulmonar en los fumadores ⁽²⁵⁾.
- La P450 1A2 de la cual se conocen al menos 13 variantes de sus alelos, tiene una de las más altas expresiones en los sistemas bacterianos y está asociada con el aumento de cáncer de colon ⁽²⁵⁾.
- La P450 1B1 tiene una variante asociada con el glaucoma y es posible activador de carcinógenos ⁽²⁵⁾.
- La P450 2A6 cataliza una hidroxilación de la nicotina que produce precursores de carcinógenos pulmonares y se conoce que tiene efectos en cáncer pulmonar y esofágico ⁽²⁵⁾.

- La P450 2A13 se expresa en hígado y otros tejidos como: mucosa nasal, pulmón, tráquea, cerebro, mama, etc., cataliza diversas reacciones, la más importante de ellas relacionada al tabaco, a la carcinogénesis ⁽²⁵⁾.
- La P450 2B6 se encuentra en el hígado, intestino delgado y puede oxidar algunos contaminantes ambientales ⁽²⁵⁾.
- La P450 2C8 se expresa en hígado y riñón, tiene un rol importante en la oxidación hepática y renal de los ácidos: retinoico y araquidónico ⁽²⁵⁾.
- La P450 2C9 es una de las más relevantes en lo que respecta a metabolismo de fármacos. Se expresa en hígado e intestino delgado ⁽²⁵⁾.
- La P450 2C18 se expresa en pulmón y piel. Tiene una actividad farmacológica limitada, debido a su baja expresión ⁽²⁵⁾.
- La P450 2C19 se expresa en el hígado, representa menos del 5% del total de P450, es una enzima inducible por Rifampicina. Se diferencia de la P450 2D6 por ser polimórfica e inducible y es responsable de la hidroxilación de drogas de efecto teratógeno ⁽²⁵⁾.
- La P450 2D6 es una de las enzimas fundamentales para el metabolismo de las drogas. Fue el primer metabolizador xenobiótico reconocido. Se encuentra en el hígado, pero también en el cerebro. Se encarga de la oxidación del 25% de todas las drogas oxidadas por la P450. En el hígado fetal existe poca cantidad de P450 2D6, sin embargo, después del nacimiento se apreció un incremento rápido de proteínas. No es inducible a diferencia de la P450 2C19 y tiene baja habilidad para metabolizar la Debrisoquina. Cataliza muchas reacciones oxidativas. La Quinidina es su inhibidor más estable. En 1984 Se le asoció con cáncer pulmonar (en fumadores), pero estudios posteriores afirmaron que esta

enzima no tenía ninguna asociación. También existen los auto-antígenos como el (LKM1), que están asociados con algunos casos de Hepatitis ⁽²⁵⁾.

- La P450 2F1 se expresa principalmente en los pulmones y tiene la habilidad de activar potenciales tóxicos pulmonares ⁽²⁵⁾.
- La P450 2J2 se aisló en un inicio en el hígado humano, sin embargo, su mayor expresión se da en el corazón ⁽²⁵⁾.
- De las P450 2R1, P450 2U1, P450 2W1 no se tiene mucha información, pero los genes CYP2R1, CYP2U1 y CYP2W1 se han identificado en el genoma humano ⁽²⁵⁾.
- La P450 2S1 se encuentra en la tráquea, pulmones, en el pulmón fetal, estómago, intestino delgado y bazo ⁽²⁵⁾.
- La P450 3A4 se expresa principalmente en el hígado e intestino delgado, así como en tejidos extra hepáticos como en pulmones, estómago y colon, además en riñón, próstata, testículos y timo ⁽²⁵⁾.
- P450 3A4, la cual se encuentra en menor cantidad. Sin embargo, luego del nacimiento, esta enzima aumenta rápidamente. Además, esta enzima se expresa también en algunos tumores. Tiene mayor actividad catalítica que las demás enzimas ⁽²⁵⁾.

También es indispensable adentrarse en los estudios de la estructura genética de la comunidad del Perú, la cual se establece por el conglomerado de, fundamentalmente, europeos meridionales, africanos occidentales e indígenas americanos. Al igual que el resto de Latinoamérica, los pueblos mestizos no están cerca de ser homogéneas. Asimismo, a partir del siglo XVI, se han incorporado además no solo el proceso de

mestizaje sino también, distintas facciones étnicas de diferentes fuentes tales como chinos, italianos, judíos, otros latinoamericanos, entre otros. ⁽²⁶⁾

Alteración del CYP en ciertas patologías

La manifestación de las distintas especies de CYP son recónditamente modificadas afectando la enfermedad ⁽²⁴⁾.

Existe un conocimiento limitado de la consecuencia de las enfermedades ante la labor del CYP en los humanos, dado que hay numerosos hallazgos que revelan que el CYP se localiza modificado en modelos animales de diabetes, hipertensión y obesidad ⁽²⁴⁾.

Los estudios realizados en animales no se pueden extrapolar o conjugar a humanos, debido a que existen escasos datos para el estudio in vivo.

Función cardiovascular e hipertensión: Ácido araquidónico (AA) metabolizado por monooxigenasa, lipooxigenasas y CYP, de esta última genera dos productos, ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs) y el ácido 20-hidroxi-eicosatetraenoico (20 HETE) compuesto, que posee un rol crítico en la moderación del funcionamiento pulmonar, renal, cardíaca y el tono vascular. Estos metabolitos del AA cooperarían en el dominio del volumen o formación de los líquidos corporales y, asimismo abarcando la fisiopatología de la hipertensión arterial que son las propiedades vaso activas y en la emisión del flujo de iones y eliminación de sodio y agua. En animales de experimentación algunas EETs cumplirían el papel de vasodilatadores mientras que las HETEs el papel de vasoconstrictoras y de natriuresis, pero en humanos se producen mayor cantidad de HETEs que de EETs a nivel renal ⁽²⁶⁾.

Inflamación e infección: Numerosos estudios de enfermedades inflamatorias o infecciosas (la influenza, las infecciones por adenovirus o la malaria) aminoran el metabolismo de drogas en humanos, produciendo graves consecuencias clínicas⁽²⁶⁾.

Diabetes mellitus: La constancia de la manifestación hepática del CYP 2E1 y 4A1 fue lo más investigado. Se menciona que la hipercetonemia sería el factor que más se inclina al CYP 2E1 y, por otro lado, el incremento en los estados plasmáticos y tisulares de los ácidos grasos ocasionados en la diabetes, serían los encargados de incitar a las enzimas CYP4A⁽²⁶⁾.

Obesidad: Realizando estudios en roedores obesos genéticamente, como por ejemplo las ratas Zucker (fa/fa) y los ratones ob/ob. Ambos roedores marcados respectivamente, hiperlipidémicos e hiperinsulinémicos desarrollando diabetes tipo 2 poseyendo leve elevación en la glicemia, sin presentar hipercetonemia. En el hígado de individuos obesos humanos, sin presentar diabetes, se halló que la actividad del CYP2E1 estaba acrecentada⁽²⁶⁾.

El gen CYP2D6

Se conoce como cluster a un grupo de dos o más genes que codifican el mismo producto, o productos similares. El cluster CYP2D contiene al gen CYP2D6 y a los pseudogénos CYP2D7 y CYP2D8. Estos tres genes son similares en un 92-97% de sus nucleótidos a lo largo de sus intrones y exones⁽²⁷⁾.

El gen CYP2D6 ya ha sido secuenciado y se reconoce que se encuentra en el cromosoma 22q13.1, y se conoce que tiene 9 exones²⁵. El gen es altamente

polimórfico en la población; muchos alelos resultan en el fenotipo del metabolizador pobre, caracterizado por la baja capacidad de metabolizar los sustratos ⁽²⁸⁾.

Las mutaciones más frecuentes de este gen son los SNPs, o mutaciones puntuales de una sola base nitrogenada⁵. Existen diversos métodos para analizar los SNPs: usando PCR, allele-specific PCR con energy-transfer primers y capillary array electrophoresis microchips, y creando circuitos eléctricos con DNA para detectar SNP ⁽²⁹⁾.

El interés por el estudio del gen CYP2D6 es debido a su gran polimorfismo y a la gran cantidad de fármacos que metaboliza su enzima, relacionados a enfermedades del SNC y cardiovasculares ⁽³⁰⁾.

Los alelos del gen CYP2D6

Numerosos estudios que identifican la frecuencia de estos alelos en diferentes poblaciones nos revelan que hay una gran variación de estas frecuencias entre razas y lugares geográficos ⁽²⁴⁾.

De esta manera, entre la población caucásica, el 5-10% de la población es metabolizador pobre, causado principalmente por los alelos mutantes CYP2D6*3, CYP2D6*4 y CYP2D6*5. En sujetos africanos, el CYP2D6*17 es muy común y causante de actividad disminuida de la enzima. Entre los asiáticos, hay poca cantidad de pobres metabolizadores (0-2%), hay una ausencia casi total de CYP2D6*3 y CYP2D6*4, y una gran prevalencia de CYP2D6*10 y CYP2D6*14 ⁽²⁴⁾.

La enzima CYP2D6

La enzima CYP 2D6 tiene un peso molecular de 55769 Da y 497 aa. Esta proteína se localiza en el retículo endoplasmático y es conocida por metabolizar más del 20% de las drogas prescritas más comunes. Sus sustratos incluyen debrisoquina, bloqueadores adrenérgicos, esparteína y propafenona (ambas drogas antiarrítmicas), amitriptilina y antidepresivos ⁽³¹⁾.

Para medir la actividad de la enzima CYP2D6 en una persona, se puede usar el metabolic ratio (MR) de varios fármacos. Comúnmente se usa dextrometorfan o debrisoquina ⁽²⁴⁾.

2.3 Definición de términos básicos

Genética: Es el análisis de la variación y la propagación de características, ya sea de una generación u otra. En este concepto, el término variación se refiere a la variación genética; por lo tanto, la jerarquía de valores probables para una característica cuando está siendo afectada por la herencia ⁽²¹⁾.

Polimorfismos: Es de carácter mendeliano es decir monogénico, que se manifiesta a partir de dos maneras alternas en una población. Su nacimiento se encuentra en el proceso de conversiones (mutaciones), no obstante, su conservación no puede pertenecer a la constancia de una mutación.

Podría ser posible, hablar de polimorfismos cromosómicos o de otros, en alteraciones de la secuencia de ADN, y solo quedaría el establecimiento de una regla de evaluación de modo cuantitativo ⁽²²⁾.

Farmacogenética: Es el análisis de los cambios hereditarios de las proteínas que se interrelacionan con la farmacocinética y la farmacodinamia del fármaco. A causa de la relevancia de este espacio, es que surge la definición de la medicina personalizada que permite elegir fármacos óptimos según la constitución genética del individuo ⁽²²⁾.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Formulación de la hipótesis

En este estudio no requiere de hipótesis por ser una investigación de tipo descriptivo.

3.2 Variables y su operacionalización

Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías y sus valores	Medio de verificación
Mutación en los alelos 9 del gen CYP2D6	Presencia demostrada de variantes o mutaciones en el exon 9 del gen CYP2D6 mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturizante	Cualitativa	Ww	nominal	Silvestre homocigoto	Secuenciación
					Mutación heterocigota	
					Mutación homocigota	
Genotipo del gen CYP2D6	Presencia demostrada de genotipos del gen CYP2D6 mediante secuenciamiento.	Cualitativa	Gg	nominal	Genotipo expresado en alelos.	Secuenciación
Procedencia Geográfica	el lugar de donde habita la persona	Cualitativa	-	nominal	Nombre del lugar de procedencia.	Ficha de recolección de Datos
Lugar de Nacimiento	El lugar donde nació la persona	Cualitativa	-	nominal	Nombre del lugar de nacimiento	Ficha de recolección de Datos
Antecedente de reacción Adversa a Medicamento	Reacción no usual producto de la aplicación de un fármaco	cuantitativa	RAM	nominal	leve	Ficha de recolección de Datos
					Moderada	
					severa	

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Tipos y diseño

Es una investigación de tipo descriptivo, observacional, transversal, prospectivo con un diseño no experimental.

4.2 Diseño muestral

Población universo

Personas peruanas, adultas, procedentes de diferentes departamentos del Perú.

Población de estudio Personas peruanas, adultas, procedente de diferentes departamentos del Perú con mutaciones CYP2D6.

Tamaño de la muestra Se aplicara tipo de muestreo probabilísticos aleatorio simple el tamaño de muestra se obtiene en un tamaño de 368

4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos

Estrategias y métodos de genotipificación del gen CYP2D

Se han hallado diferentes procedimientos para la genotipificación del CYP2D6 como Single Strand Conformation Polymorphism ⁽²²⁾, PCR (Polymerase Chain Reaction) en tiempo real ⁽²¹⁾, microselección para análisis de DNA (24), Taq Man Real Time Polymerase Chain Reaction ⁽¹⁶⁾, pero el gold estándar para la genotipificación del CYP2D6 es la técnica de secuenciamiento.

Técnica de secuenciamiento

El método de secuenciación fue elaborado por Sanger en 1975, consiste en la agregación de didesixinucleótidos, prescritos a una cadena de ADN durante el

transcurso de copiado de esta misma. Los didesixinucleótidos no tienen un grupo 3' OH imprescindible para la constitución del enlace fosfodiéster que permite la adhesión entre nucleótidos, por lo que se impide la elongación de la cadena cada vez que uno de estos es anexado en ella. Y así se generan sucesiones de distintos tamaños. Estas migran por medio de un gel de poliacrilamida separándose por tamaños. La agrupación de secuencia posee un dispositivo que autoriza percibir la emisión de luz de los cuatro didesixinucleótidos. La lectura se produce iniciándose de las sucesiones más escasas hasta las sucesiones más completas, generándose un gráfico con altos picos de emisión de luz en la posición perteneciente de cada uno de los nucleótidos de la sucesión de interés (cromatograma) ⁽²²⁾.

Toma de muestra de sangre y extracción de DNA: Los individuos participantes lo realizarán voluntariamente declarando dicho procedimiento en un consentimiento informado certificado por el comité de ética para la investigación de la FMH –USMP. Las muestras a utilizar provendrán del banco de muestras y genómico del Centro de investigación genética FMH – USMP, esta comprenderá de sangre de 5ml o hisopado bucal, a los cuales se aislará el DNA mediante el método de extracción de ADN según rutina de laboratorio CGBM-USMP, cada muestra pasará previamente por un control de calidad para verificar que el ADN esté en buen estado para esto serán revelados ante electroforesis en gel de agarosa al 1% a 100v en buffer Tris-borate-EDTA 1X, luego será coloreado por el reactivo de bromuro de etidio y revelado con un transiluminador ultravioleta⁽²²⁾.

Construcción de primers por Bioinformática: Se emplearán los primers elaborados con programas bioinformáticos a través de la comparación de las secuencias del gen CYP2D6 en humanos y las secuencias de ADN de mamíferos.

Amplificación por PCR: Se preparará el master Mix específico para cada exón (ver tabla 1), después se repartirán la misma cantidad en cada uno de los tubos de PCR, finalmente agregarán 1 μ L de ADN en cada tubo. Luego se amplificarán los 4 exones del gen en el termociclador, donde se empleará el programa con el nombre de X1X9 que consiste en comenzar la denaturación de 95°C por 5 minutos luego de 35 ciclos que comprende una denaturación de 95°C por 30 segundos, seguido de hibridación de 55°C por 45 segundos y un paso de prolongación de 72°C por 2 minutos. Por último, se da un proceso final de 72°C por 10 minutos.

Tabla 1. Amplificación por PCR

	Exón 7
H2O	6,85 μ L
10X buffer PCR	1 μ L
DNTPs	0,25 μ L
MgCl₂	0,4 μ L
pF	0,2 μ L
pR	0,2 μ L
Taq Polimerasa	0.1 μ L

Visualización de productos por PCR

Estos serán planteados aelectroforesis en gel de agarosa al 1% a 100v en buffer, buffer Tris-borate 1X, aproximadamente por 20 min. Luego, serán coloreados en bromuro de etidio y revelados con un transiluminador ultravioleta.

Método de la electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (CSGE): se colocarán 2 μ L de muestra problema junto con 2 μ L de muestra control. El volumen total de 4 μ L se, mezclara para luego agregarle aceite mineral. También se cargar la muestra problema (4 μ L). Luego se denaturaran ambas muestras a 94 °c durante 20 minutos en agua en ebullición, para luego incubarlas a 62 °c durante 30 minutos. Seguidamente se cargarán las muestras con colorante para CSGE, colocando 2 μ L en cada muestra por 5 minutos antes de cargar la muestra. Se tomará un tiempo de prerecorrido de 20 minutos para el gel, durante el cual se utilizará 600 mL de buffer TTE 0,5 X en los tanques, el programa que se usara para a precorrida y corrida del gel fue el numero 10(70 mv, 150 mA, 43 W, 999 minutos). Para la tinción con nitrato de plata se sumergirá en solución de etanol al 10% por 8 minutos, luego se sumergirá el vidrio en 500ml de solución de ácido nítrico al 1% por 4 minutos, luego de retirar el ácido se enjuagará con agua destilada por 4 minutos. Seguidamente se sumergirá el vidrio en una solución de nitrato de plata al 1% contenido 600 μ L de formaldehído al 37 % por 20 minutos. Se retirará la solución de plata y se enjuagara el vidrio con agua destilada, luego de lo cual se sumergirá el vidrio en 400 mL de solución de carbonato de sodio 0,28 (12g) contenido 600 μ L de formaldehído al 37 % y 10 μ L de tiosulfato de sodio hasta que las bandas fueran visibles. Se detendrá el revelado agregando 200 mL de ácido acético al 10%, luego de lo cual se retirará la mezcla, se hidratará el gel en agua destilada por 15 minutos y se dejará secar al medio ambiente.

Secuenciamiento

Luego de este proceso, se seleccionarán muestras mutadas que se enviarán a secuenciar por servicios de terceros. La secuenciación que consiste el método de secuenciación por dideoxinucleótidos nos ayudara para el análisis de secuencias de ADN de gen CYP2D6.

El secuenciador utilizado, para el presente trabajo es el Analizador Genético ABI 3500, en combinación con los kits de Applied Biosystems BigDye® Cycle Sequencing.

Instrumentos de recolección y medición de variables

La lectura y el estudio de las secuencias genéticas del exón 7 del gen *CYP2D6*, se realizó empleando el Software de acceso libre en Internet BioEdit.

Primero, se realizará una lectura de todas las secuencias genéticas, en la que señalamos la ubicación donde se encontraba una mutación y, para un posterior alineamiento de la misma, copiaremos la secuencia específica.

Luego, serán ingresadas al Software BioEdit, las secuencias del exón 7 del gen CYP2D6 y contrastadas con la secuencia normal o salvaje del gen CYP2D6, de acceso libre en Internet en el portal del Genome Database NCBI.

Ingresadas las secuencias en mención, se aplicará la función Clusta Multiple Alignment, de esta forma, según la posición de sus bases nucleotídicas, las secuencias fueron alineadas o apareadas.

Posterior a ello, se procederá a suministrar la función Back-coloredviewmode, con ello, automáticamente, se delimitará las bases o posiciones nucleotídicas donde existen polimorfismos de cambio de una base (SNP).

4.4 Procesamiento y análisis de datos

Los polimorfismos que serán detectados ingresarán a Excel, una base de datos, delimitando la localización del nucleótido involucrado y afectado, organizándolos individualmente, ya siendo por combinaciones en alelos, haplotipos y genotipos, respectivamente como lo indica el portal del National Center for Biotechnology Information.

Para el estudio individual de los polimorfismos, como el nucleótido afectado, se organizará de la siguiente manera: alelo wt (salvaje), alelo mt (mutante), genotipo wt/wt (homocigoto salvaje), genotipo wt/mt (heterocigoto mutante), y mt/mt (homocigoto mutante).

Para la observación del estudio integral de los acoplamientos de los polimorfismos, con respecto a nucleótidos afectados en el exón 7 del gen *CYP2D6*, se aplicará el citocromo P450 humano, refiriéndose a su base de datos, decretado por el comité para llevar a cabo la nomenclatura de los alelos de acceso libre en Internet. Asimismo, se nombrará en distintas clases de haplotipos y genotipos.

Los haplotipos y genotipos (conocidos), pero sin fenotipo definido, serán designados como “Desconocido”. Los haplotipos y genotipos (nuevos), ergo (sin fenotipo) tipificado, serán designados como “Nuevo”, unido por una letra mayúscula, dependiendo del orden numérico alfa.

Se recolectarán los datos prospectivamente, éstos se ingresarán en una base de datos simple a doble digitación, también se establecerán en tablas y gráficos de frecuencias cruzadas y simples, en este proceso se empleará el programa estadístico SPSS. A causa del origen de las variables cualitativas consideradas datos nominales, para la evaluación de la estadística significativa de las tablas de frecuencia cruzadas, se empleará la prueba estadística de Fisher y Chi cuadrado, aquellas considerarán un valor $p < 0.05$ para un intervalo de confianza del 95% siendo considerado como significativo.

Además, se empleará el test de equilibrio alélico (Hardy-Weinberg), para ello se utilizará un software que es de uso libre llamado Arlequín y por último el Stata 5.0.

4.5 Aspectos éticos

Todos los procedimientos que serán realizados del dicho estudio, respetarán tanto la integridad como también los derechos de los sujetos a investigar, basándose en las normas de las calificadas prácticas clínicas y la ética en la investigación. Se respetará la confidencialidad de los datos conseguidos.

CRONOGRAMA

Pasos	2018										
	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Redacción final del proyecto de investigación	X										
Aprobación del proyecto de investigación		X									
Recolección de datos			x	x	x						
Procesamiento y análisis de datos						X	X				
Elaboración del informe							X				
Correcciones del trabajo de investigación								X	X		
Aprobación del trabajo de investigación										X	
Publicación del artículo científico											X

PRESUPUESTO

Concepto	Monto estimado (soles)
Material de escritorio	400.00
Adquisición de software	900.00
Secuenciamiento	3300.00
Impresiones	400.00
Logística	300.00
Material de laboratorio	1000.00
TOTAL	6300.00

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci.* 2004; 25(4):193-200.
2. Benet LZ, Kroetz DL, Sheiner LB. Pharmacokinetics. En: Hardman JG, Goodman Gilman A, Limbird LE (eds). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.* 9º Ed. New York: McGraw-Hill; 1996. pp 3-27.
3. Llerena A., Cobaleda J., Martinez C., Benitez J. Interethnic differences in drug metabolism: influence of genetic and environmental factors on debrisoquine hydroxylation phenotype. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1996; 21(2):129-38.
4. Dahl ML. Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41(7):453-70
5. Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>. (Accesado el 20 de julio 2009)
6. Sachse C, Brockmoller J, Baue S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet.* 1997; 60(2):284-95.
7. Koo SH, Lee EJD. Pharmacogenetics approach to therapeutics. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006; 33(5-6):525-32.
8. Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Pharmacogenomics J.* 2006; 6(1):16-21.
9. Kalow W. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: origin, status, and the hope of personalized medicine. *Pharmacogenomics J.* 2006; 6(3):162-5.
10. Johanna Sistonen, et al. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genomics.* 2007; 17(2):93-101.

11. Silveira Vda S, Canalle R, Scrideli CA, Queiroz RG, Tone LG. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes in a Brazilian population. *Biomarkers*. 2009; 14(2):111-7.
12. Muñoz S, Vollrath V, Vallejos MP, Miquel JF, Covarrubias C, Raddatz A, Chianale J. Genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP1A1 and CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics*. 1998; 8(4):343-51.
13. Estévez F, Giusti M, Parrillo S, Oxandabarat J. Enzyme polymorphism on the metabolic O-demethylation of dextromethorphan in a South American population. *Medicina (B Aires)*. 1996;56(4):378-82.
14. Isaza CA, Henao J, López AM, Cacabelos R. Isolation, sequence and genotyping of the drug metabolizer CYP2D6 gene in the Colombian population. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2000; 22(9):695-705.
15. Grimán P., Morán Y., Camargo M., Chiurillo M. Caracterización de variantes alélicas del citocromo CYP2D6 en la población de la región centrooccidental de Venezuela. *Acta biol.Colomb*. 2009; 14(1): 195-202.
16. Bailliet G, Santos MR, Alfaro EL, Dipierri JE, Demarchi DA, Carnese FR, Bianchi NO. Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutat Res*. 2007; 627(2):171-7.
17. Escalante L., Gil D., Gómez M., Gutiérrez W., Moya R. Implementación de un protocolo para la búsqueda de mutaciones y genotipaje del gen CYP2D6 en pobladores peruanos. Proyecto de Investigación del Curso de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres (2008).
18. Walker, J.M., Rapley Ralph. *Medical Biomethods Handbook*. Humana Press, Inc. Conformation-Sensitive Gel Electrophoresis. pp 147-153.
19. Ganguly, A., Rock, M. J., and Prockop, D. J. (1993) Conformation-sensitive gel electrophoresis for rapid detection of single-base differences in double-stranded PCR products and DNA fragments: evidence for solvent-induced bends in DNA heteroduplexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 10,325–10,329.

20. Orellana M, Guajardo V. Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. *Rev. Méd. Chile* 2004; 132: 85-94.
21. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54(10):1271-94.
22. Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P-450: a success story. *Genome Biol.* 2000;1(6):3003.1-9.
23. Guengerich P. Human Cytochrome P450 Enzymes. En Paul R. Ortiz de Montellano, editor. *Cytochrome P450: Structure Mechanism and Biochemistry.* 3ed. New York: Academic / Plenum Publishers; 2005.
24. Universidad Andina Simón Bolívar. Globalización, migración y derechos humanos. Ediciones Abya-Yala. Pg 79-83.
25. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA and Gonzalez FJ (1989) The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am. J. Hum. Genet.* 45:889-904.
26. Ebbert MT, Beckstead WA, O'Connor TD, Clement MJ, McClellan DA. Pharmacogenomics: Analyzing SNPs in the CYP2D6 Gene Using Amino Acid Properties. *Int J Bioinform Res Appl.* 2007; 3(4):471-9.
27. Fuselli S, Dupanloup I, Frigato E, Cruciani F, Scozzari R, Moral P, et al. Molecular diversity at the CYP2D6 locus in the Mediterranean region. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12(11):916-24.
28. Vanessa Da Silva Silveira et al. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes in a Brazilian population - *Biomarkers*, Volume 14, Issue 2 March 2009, pages 111 – 117.
29. Gaedigk A, Bradford LD, Marcucci KA, Leeder JS. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72:76–89.

30. Ji L, Pan S, Marti-Jaun J, Hanseler E, Rentsch K, and Hersberger M (2002a) Single-step assays to analyze CYP2D6 gene polymorphisms in Asians: allele frequencies and a novel *14B allele in mainland Chinese. *Clin Chem* 48:983–988.
31. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects, and functional diversity. *Pharmacogenomics J* 2005; 5(1):6-13.

ANEXOS

1. Matriz de consistencia

Título	Pregunta de Investigación	Objetivos	Tipo y diseño de estudio	Población de estudio y procesamiento de datos	Instrumento de recolección
<p>Frecuencia de polimorfismos del exón 9 del gen metabolizador de fármacos cyp2d6 en pobladores peruanos en el año 2017</p>	<p>¿Cuál es la frecuencia de polimorfismo del exón 9 del gen metabolizador de fármaco CYP2D6 en pobladores peruanos?</p>	<p>Objetivo general Determinar la frecuencia de polimorfismos del exón 9 del gen metabolizador de fármacos cyp2d6 en pobladores peruanos</p> <p>Objetivo específico Detectar nuevas mutaciones en el exón 9 del gen CYP2D6 en pobladores peruanos.</p> <p>Comparar las frecuencias de mutaciones del exón 9 del gen CYP2D6 entre pobladores peruanos.</p> <p>Comparar si la frecuencia de polimorfismos en el gen CYP2D6 en las poblaciones peruanas elegidas es semejante a la ubicada en la población hispánica.</p>	<p>Esta es una investigación de tipo exploratoria, no experimental, descriptivo transversal</p>	<p>368 muestras de sangre recolectadas de los pobladores peruanos de diferentes regiones</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>

2. Instrumento de recolección de datos

Nombre:

Código de la muestra:

Mutación del gen CYP2D6:

Genotipo:

Procedencia geográfica:

Antecedente de reacción adversa medicamentosa:

3. Tabla de codificación de variables

Variable	Categorías	Códigos para base datos
Mutación gen CYP 2D6	Wt	1
	Ww	2
Reacción adversa al medicamento	Normal	1
	Leve	2
	Moderada	3
	Grave	4
Edad	Años que presenta	1 al 100