

POLIMORFISMOS DE CITOCROMO P450: PAPEL COMO MARCADOR BIOLÓGICO

C. Santiago, F. Bandrés y F. Gómez-Gallego

Laboratorio de Biopatología. Dpto de Toxicología y Legislación Sanitaria. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia:

Dr. Félix Gómez Gallego
Dpto de Toxicología y Legislación Sanitaria.
Facultad de Medicina.
Universidad Complutense de Madrid.
Ciudad Universitaria
28040 MADRID

Tel: 91 394 15 76

Fax: 91 394 16 06

e-mail: fgomezga@med.ucm.es

El empleo de marcadores biológicos, entendido el concepto como un parámetro, estructura o proceso que puede ser monitorizado en el organismo humano, se presenta actualmente como un factor clave en medicina. En este contexto, el estudio de polimorfismos genéticos en enzimas involucradas en la degradación y eliminación de sustancias extrañas del organismo parece interesante habida cuenta de la variabilidad en el metabolismo observada entre individuos. En la presente revisión se realiza una actualización sobre el papel del citocromo P450 como marcador biológico en la eliminación de xenobióticos y sus diferentes polimorfismos en la susceptibilidad individual al desarrollo de diferentes patologías.

Palabras clave: Citocromo P450, polimorfismo genético, xenobióticos

CYTOCHROME P450 POLYMORPHISMS: THEIR ROLE AS BIOLOGICAL MARKERS

The use of biological markers, as a monitored parametre, structure or process in human organism, is actually a factor key in medicine. In this context, the study of genetic polymorphisms in ezymes implicated in degradation of harmful substances seems interesting due to the inter-individual differences found in their metabolism. In the present work, we carry out a new revision about the role of cytochrome P450 as a biological marker in the elimination of xenobiotics and their polymorphisms in the individual susceptibility in developing some pathologies.

Key words: Cytochrome P450, genetic polymorphism, xenobiotics

La forma en que el organismo humano responde al consumo de drogas presenta una gran variación interindividual, debido en parte a variaciones en el propio metabolismo de las drogas. Algunas de estas variaciones son consecuencia de mutaciones genéticas, es decir, diferentes polimorfismos en ciertos genes que provocan que las correspondientes

proteínas sintetizadas presenten diferentes niveles de actividad.

El primer polimorfismo hallado en una enzima involucrada en el metabolismo de drogas se describió en los años 50 a raíz de la alta incidencia de neuropatías periféricas en individuos descritos como acetiladores rápidos o lentos en respuesta al antituberculoestático isoniazida. Posteriormente se

observó, a través de estudios familiares, que el fenotipo metabolizador lento era debido a una mutación que se transmitía a la descendencia de forma recesiva. La importancia de este polimorfismo se describió más tarde, cuando se observó que también intervenía en el metabolismo de aminas aromáticas como consecuencia de la exposición a éstas, de forma

industrial, ambiental o de la dieta, afectando, por lo tanto a la susceptibilidad a desarrollar ciertos tipos de cáncer¹.

Uno de los principales enzimas implicados en el metabolismo y degradación de drogas en mamíferos es el citocromo P450 (CYP). Una de las primeras variantes polimórficas descritas fue en el denominado CYP2D6, el cual afecta al metabolismo de múltiples drogas empleadas en clínica como el antihipertensivo debrisoquina. Otro polimorfismo se detectó en el metabolismo del anticonvulsivo mefentoína, que posteriormente se observó que era debido a una mutación en el CYP2C19¹.

El citocromo P450 constituye una superfamilia enzimática involucrada en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos como esteroides, ácidos grasos o vitaminas liposolubles (A y D), y en el metabolismo de xenobióticos entre los que se encuentran muy diversas drogas, carcinógenos, pesticidas, alcaloides, etc²⁻⁶.

El complejo del citocromo P450 está altamente distribuido en animales, plantas y protistas⁷ y existe en la naturaleza desde antes de la división entre organismos eucariotas y procariotas⁸.

Se identificó en 1958 como un pigmento celular reducido y unido a membrana con un pico de absorción inusual a los 450 nm^{9,10}. Posteriormente, en 1964, se sugiere el nombre de Citocromo P450 por Omura y Sato^{11,12}, nombre por el que se conoce actualmente.

Se han descrito 74 familias, de las cuales 14 están presentes en mamíferos. Estas 14 familias comprenden a su vez a 26 subfamilias de las que 20 se han identificado en el genoma humano¹³. En la presente revisión se profundizará principalmente en las familias 1, 2 y 3, únicas familias que participan en el metabolismo de sustancias exógenas^{3,8}.

En mamíferos se ha encontrado en gran variedad de órganos, glándulas y tejidos, pudiendo destacar entre otros riñones¹⁴, cerebro¹⁵, testículos¹⁶, mucosa intestinal¹⁷, membrana nasal¹⁸, garganta^{19,20} o

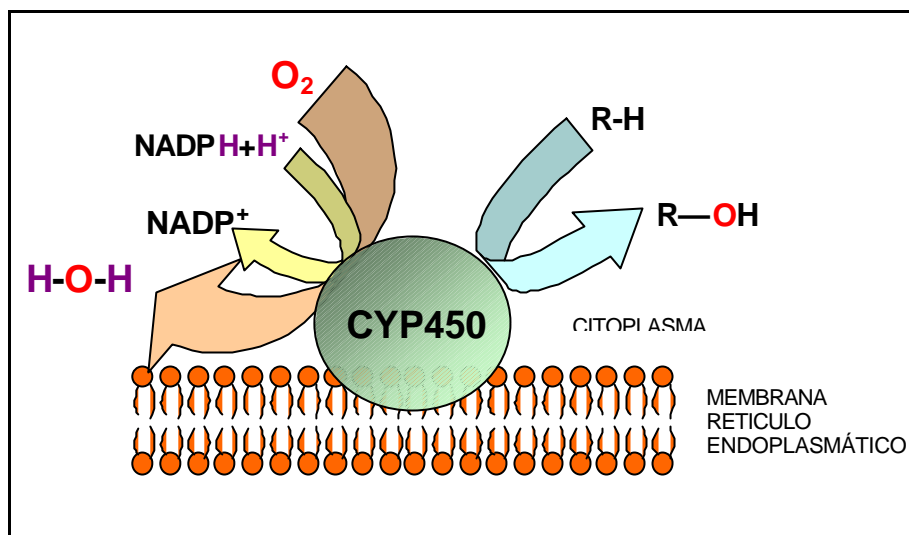


Figura 1. Mecanismo de acción del citocromo P450. Hidroxilación de una droga liposoluble por acción del citocromo P450. El producto $R\frac{3}{4}OH$ aumenta la solubilidad en agua, facilitando su excreción. (Figura modificada de ²⁸)

hígado²¹. Sin embargo, son los dos últimos los principales objetivos en el estudio de polimorfismos genéticos por su ya probada relación con el desarrollo de diversos tipos de cáncer.

Esta superfamilia enzimática, en el caso de organismos eucariotas, ha sido detectada prácticamente en todas las membranas subcelulares examinadas^{22,23} siendo la mitocondria y principalmente el retículo endoplasmático las fuentes más importantes^{24,25}. Por el contrario, los citocromos bacterianos no tienen una asociación a membrana y se solubilizan con facilidad^{26,27}.

ASPECTOS BIOQUÍMICOS

Desde un punto de vista bioquímico, la superfamilia del citocromo P450 se caracteriza por ser hemoproteínas capaces de transportar electrones²⁸. Al ser hemoproteínas, poseen una parte proteica (apoproteína) y un grupo hemo (grupo prostético) donde se localiza un átomo de hierro^{7,28}.

El citocromo P450 funciona como una monooxigenasa, es decir, cataliza reacciones en las que solamente se incorpora uno de los átomos del oxígeno y el otro se reduce a H_2O . Además, precisa de dos sustratos para actuar como

reductores de los dos átomos de la molécula de O_2 . El principal acepta uno de los oxígenos y un cosustrato proporciona átomos de H para reducir el otro a H_2O ²⁸.

Gracias a su intervención se produce una hidroxilación del sustrato que tiene como consecuencia la formación de productos más solubles en agua y generalmente de derivados farmacológicos menos potentes que pueden ser excretados directamente o después de una conjugación con el ácido glucurónico o el glutatión entre otros²⁹. De esta forma, entre las funciones que ejerce el citocromo P450, y teniendo en cuenta que también puede ser mediador de la activación de precarcinógenos³⁰, cabe destacar como importante el papel detoxificador que realiza gracias al cual se facilita la eliminación de muchas drogas y sustancias perjudiciales para el organismo.

En la **Figura 1** se muestra un esquema del mecanismo de acción consistente en la hidroxilación de un sustrato orgánico RH (sustrato principal) a R-OH a expensas de un átomo de una molécula de oxígeno. El otro átomo es reducido a H_2O por los equivalentes de reducción proporcionados por el NADH o NADPH (cosustrato), habitualmente transferidos al P450 directamente o vía citocromo b₅, gracias a una flavoproteína oxidoreductasa²⁸.

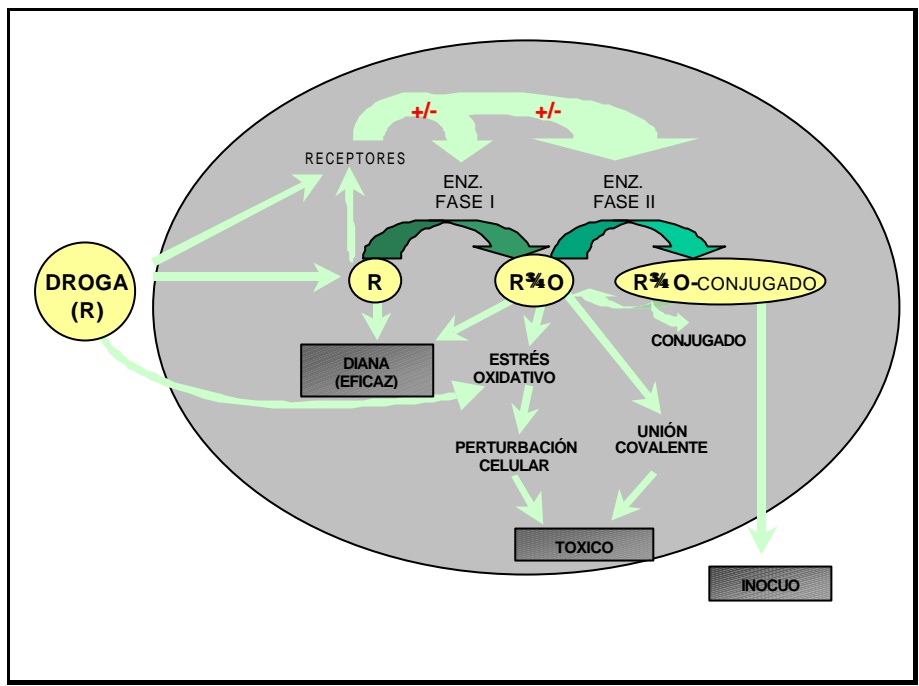


Figura 2. Esquema del metabolismo de una droga (R) cuando entra en una célula: Una vez que ha penetrado en la célula, tanto la droga no metabolizada como su metabolito pueden ejercer un efecto beneficioso actuando sobre su diana terapéutica o por el contrario pueden llegar a ser tóxicos como consecuencia de una perturbación en el ciclo celular o por la formación de uniones covalentes con ácidos nucleicos o proteínas (Tomada de ³¹).

FUNCION CELULAR DEL CITOCROMO P450

Las enzimas que metabolizan compuestos xenobióticos se han clasificado históricamente en dos categorías: las de fase I, que cumplen una misión metabolizadora y las de fase II, que tienen la misión de conjugar los sustratos con otros compuestos.

El citocromo P450, enzimas principales del metabolismo de fase I, va a actuar dentro de la célula acompañado de las enzimas de fase II, encargadas de la conjugación de los metabolitos producidos por las primeras, entre las que se encuentran las glutatión-S-transferasas (GST) y las N-acetiltransferasas (NAT)^{3,31}. La mayor o menor acción de unas y otras va a tener como consecuencia que las sustancias exógenas que llegan a la célula, ya sean agentes terapéuticos, drogas o carcinógenos resulten inofensivos o tengan un efecto tóxico o un efecto beneficioso y eficaz³.

Estas sustancias van a ser reconocidas por la célula como señales exógenas mediante diver-

sos mecanismos de recepción y entrarán en ella por difusión pasiva o mediante transportadores activos (Figura 2). Una vez dentro actuarán las enzimas de fase I (principalmente la superfamilia del citocromo P450). Los metabolitos que se generan y las propias moléculas no metabolizadas podrán actuar sobre su diana y ser eficaces, o podrán resultar tóxicos para la célula por uniones covalentes a proteínas y ácidos nucleicos o por una perturbación en el ciclo celular provocado por un estrés oxidativo^{3,31}.

El que una droga, carcinógeno o agente terapéutico resulte inofensivo para la célula impidiendo su efecto beneficioso o perjudicial va a depender de la cantidad formada de sustratos intermedios, de la estabilidad química de éstos y de la presencia cercana de enzimas de fase II³. Si dichas enzimas pueden actuar, formarán conjugados que serán excretados de la célula no teniendo ninguno de los efectos mencionados^{3,31}.

Además estas sustancias van a poder actuar como agonistas o

antagonistas para inducir o reprimir los genes que codifican para las enzimas de fase I y fase II. Esto les va a permitir regular su propio metabolismo³¹.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Las familias 1, 2 y 3 del citocromo P450 son enzimas activas en el metabolismo de una gran variedad de xenobióticos, aunque alguno de ellos también metabolizan compuestos endógenos, como esteroides, hormonas y ácido araquidónico^{32,33}. Prácticamente el 50% de la totalidad de citocromos P450 en humanos pertenecen a alguna de estas tres familias³⁴, aunque las funciones catalíticas de muchos de estos enzimas permanecen todavía sin determinar. En la Tabla I se recoge una recopilación de los principales citocromos P450 y los sustratos conocidos sobre los que actúan.

Familia CYP1

Esta familia está constituida por los genes CYP1A1, CYP1A2 y CYP1B1. Los tres comparten la característica de ser activados por hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), y por el tabaco. Sin embargo, existe una variación en el grado y en la especificidad celular de esta expresión e inducción. Todos ellos son activos en la metabolización de PAHs a compuestos intermedios que pueden unirse a ADN, pudiendo llegar a provocar, en algunos casos mutaciones involucradas en procesos de transformación neoplásica³⁵. Por eso, han sido relacionados con la formación de cánceres de origen químico³⁶.

El CYP1A1 constituye la mayor fracción del citocromo P450 extrahepático. Contribuye notablemente a la toxicidad de muchos carcinógenos, especialmente los PAHs. El gen CYP1A1 codifica para una enzima con actividad aril-



Tabla I
PRINCIPALES CYP HUMANOS Y SUSTRATOS SOBRE LOS QUE ACTÚAN
 (TOMADA DE HODGSON Y GOLDSTEIN¹)

Subfamilia	Enzima	Sustrato
CYP1A	1A1 1A2	Hidrocarburos aromáticos policíclicos Cafeína, fenacetina
CYP1B	1B1	Algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos, 17 b-estradiol
CYP2A	2A6	Cumarina, (metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), nitrosamina encontrada en el tabaco, nicotina
CYP2B	2B6	4-hidroxilación de ciclofosfamida, S-mefenitoina-demetilación, ciertos barbitúricos, 7-etoxi-4-trifluorometilcuramina (7EFC)
CYP2C	2C19 2C9 2C8	S-Mefenitoina (anticonvulsionante), omeprazol (antiulceroso), proguanil (antipalúdico), ciertos barbitúricos, diazepam (valium), propanodol (b-bloqueante), imipramina (antidepresivo), ciertos herbicidas Fenitoina (anticonvulsionante), drogas anti-inflamatorias como el ibuprofeno, warfarina (anticoagulante), tolbutamida (droga diabética) Taxol, ácido retinoico
CYP2D	2D6	Antihipertensivos: debrisoquina b-bloqueantes: metoprolol, propanodol, bufuralol Antidepresivos: nortriptilina, desipramina, clomipramina Neurolépticos: tioridacina, perfenazina, trifluoperidol, clozapina Opiáceos: dimetilación de codeína a morfina
CYP2E	2E1	Alcohol, tetracloruro de carbono, benceno, drogas como el acetaminofén (tilenol), activa nitrosaminas a mutágenos y carcinógenos
CYP3A	3A4 3A5 3A7	60% de drogas usadas clínicamente como eritromicina (antibiótico), nifedipina (antihipertensivo), lidocaina (anestésico), ciclosporina (droga inmunosupresiva), 17a-etnilestradiol (estrógeno de reemplazo), tamoxifeno (usado para el cáncer de pecho), lovastatina (usada para disminuir niveles de colesterol), dapsona (lepra), testosterona, cortisol (hormonas) Mismo patrón de sustratos que CYP3A4 Forma fetal; metaboliza sustratos del CYP3A4
CYP4A	4A11	Ácidos grasos, clofibrato (droga hipolipidémica)

hidrocarburo-hidrolasa (AHH)⁸, siendo inducible por ligandos de los receptores de aril-hidrocarburos en casi todos los tejidos estudiados, entre los que se encuentran pulmones, linfocitos, glándulas mamarias y placenta. En este gen se ha descrito un polimorfismo que se relaciona con el cáncer de pulmón³⁷. Esta enzima sólo se expresa en tejido pulmonar cuando se produce la acción de inductores como

los hidrocarburos aromáticos presentes en el humo del tabaco³⁸. La enzima a su vez inicia el proceso de oxidación de alguno de ellos transformándolos en carcinógenos iniciales que serán catalizados a finales tras una epoxidación³⁹.

El polimorfismo da lugar a dos alelos. Uno más frecuente, denominado m1 con una lisina (K) en la posición 462 de la proteína; y otro mutante, m2 con una valina (V) en

esa posición^{8,40}. La enzima CYP1A1(V) posee mayor actividad que la CYP1A1(K), de forma que el alelo m2 puede aumentar el riesgo de padecer cáncer de pulmón⁸.

El CYP1A2 es un enzima prácticamente exclusivo de hígado, constituye aproximadamente el 13 % del total de contenido hepático en CYP⁴¹.

Este CYP activa PAHs, nitrosaminas, aflatoxina B1 y especial-

mente arilaminas generando compuestos que se pueden unir a DNA provocando mutaciones⁴².

Su expresión está inducida por el humo del tabaco, la carne carbonizada, algunos vegetales, rifampicina y omeprazol⁴³.

Existen 6 variantes alélicas del gen CYP1A2, de las cuales dos de ellas están correlacionadas con aumentos y disminuciones en los niveles de inducción por el hábito de fumar^{44,45}. Estas variantes podrían explicar, al menos parcialmente, las diferencias interindividuales observadas en la actividad enzimática cuando se evalúa con cafeína como sonda^{46,47}. El CYP1A2 es el principal citocromo P450 que cataliza el metabolismo de muchas drogas, como la clozapina, teofilina y tacrina⁴³.

Por otra parte, el CYP1B1 constituye también una fracción importante del CYP extrahepático con expresión en casi todos los tejidos, como son: riñón, próstata, glándulas mamarias y ovarios^{35,48,49}.

Este CYP cataliza el metabolismo de PAHs y arilaminas y se ha sugerido su sobreexpresión en algunos tumores⁵⁰.

Este gen presenta varios alelos, y curiosamente, aquéllos con actividad enzimática reducida han sido relacionados con glaucomas primarios congénitos^{51,52}.

Familia CYP2

La familia 2 del citocromo P450 comprende al menos cinco subfamilias³. Originalmente se la conocía como "familia inducible por fenobarbital", sin embargo se ha comprobado que la mayoría de los genes inducidos por este compuesto se encuentran principalmente en las subfamilias 2B y 2C³.

Dentro de la subfamilia de CYP2A, el polimorfismo genético más interesante es el CYP2A6. Este citocromo se expresa en hígado, donde constituye aproximadamente el 4 % del total, aunque también se ha detectado en mucosa nasal adulta y fetal.

El interés por el estudio de este polimorfismo se ha basado, sobre

todo, en el papel que desempeña en el metabolismo de nicotina, tanto in vitro^{53,54,55} como in vivo⁵⁶.

Algunos polimorfismos genéticos de CYP2A6 se han relacionado con las diferencias interindividuales observadas en cuanto al comportamiento en el hábito de fumar⁵⁷. Algunas deleciones en este gen también se han relacionado con la reducción en el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón⁵⁸. Aunque no se conocen muy bien los mecanismos de regulación del CYP2A6, se sabe que es inducido in vivo por fenobarbital y otras drogas antiepilépticas⁵⁹. En hepatocitos humanos también se induce por fenobarbital y rifampicina^{60,61}.

El CYP2B6 está presente en hígado de una forma minoritaria, representando únicamente el 1 - 2 % del total. Entre sus sustratos se encuentran el 6-aminocriseno⁶², el metoxicloro⁶³ y la ciclofosfamida⁶⁴. En hepatocitos humanos se induce por fenobarbital y rifampicina^{61,65}.

La subfamilia CYP2C representa aproximadamente el 20% del total del contenido hepático en citocromo P450^{66,67} y dentro de ella, el más abundante es CYP2C9, seguido de CYP2C8 y CYP2C19⁶⁸.

Entre los productos farmacéuticos que actúan como sustratos están el diazepam, omeprazol, mefentoína, tolbutamida y warfaina⁶⁹. También aparecen muchos antiinflamatorios no esteroideos. Asimismo existen determinados sustratos que son selectivos de algunas enzimas, así tenemos el taxol por el CYP2C8, tolbutamida por CYP2C9 y mefentoína por CYP2C19.

En el CYP2C19 se han detectado al menos 7 alelos diferentes, la mayoría con fenotipos de metabolizadores lentos. Diversos estudios han puesto de manifiesto que estos fenotipos metabolizadores lentos aparecen en el 4% de Caucasoideos y en aproximadamente el 20% de los asiáticos⁷⁰.

En lo referente al CYP2C9 también se han detectado dos polimorfismos. Uno de ellos, denominado CYP2C9*3 contiene una sustitución de un residuo de isoleucina por leucina en posición 359 de la

proteína provocando una menor afinidad por drogas como la tolbutamida. Individuos homocigotos para esta mutación son metabolizadores lentos para warfaina, tolbutamida y fenitoína. El otro polimorfismo detectado se denomina CYP2C9*2 y ocasiona una menor pérdida de afinidad que el anterior por algunos sustratos.

La subfamilia CYP2D presenta un único gen y cuatro pseudogenes¹³. El polimorfismo CYP2D6 fue el primer defecto en el metabolismo de drogas que fue específicamente relacionado con una alteración en la expresión de un CYP. El fenotipo metabolizador lento de este citocromo está presente en aproximadamente el 6 % de Caucasoies⁷⁰. El CYP2D6 interviene en el metabolismo de un gran número de productos farmacéuticos, entre los que se incluyen antihipertensivos como la debrisoquina, antiarrítmicos como flecainida, b-bloqueantes como metoprolol, propanolol, y bufuralol, antidepresivos del tipo de la nortriptilina, desipramina y clomipramina, neurolepticos como el halperidol y la tioridacina y opiáceos como la codeína. Muchas de estas sustancias presentan un rango de efectividad terapéutica muy estrecho por lo que en aquellos fenotipos catalogados de metabolizadores lentos pueden causar serios problemas de toxicidad. También opiáceos como la codeína son activados a través de un O-dimetilación a morfina mediante el CYP2D6. Por lo tanto, la codeína no es efectiva en individuos con un metabolismo lento de este CYP.

El CYP2D6 representa aproximadamente el 2 % del total del contenido hepático, aunque también se expresa en duodeno y cerebro⁷¹.

Existen al menos 30 alelos deficientes en actividad enzimática, de los cuales aproximadamente 6 constituyen el 95-99 % de los fenotipos metabolizadores lentos⁷⁰. También se han detectado polimorfismos de metabolizadores ultrarrápidos en los que los efectos de las drogas que actúan como sustratos del CYP2D6 están disminuidos⁷².

Los polimorfismos del CYP2D6 también han estado relacionados con la susceptibilidad alterada a la enfermedad de Parkinson y al cáncer de pulmón⁷³ y se ha especulado que pueden alterar el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón como consecuencia del hábito de fumar, ya que pueden estar involucrados en la transducción de señales en la ruta dopaminérgica del cerebro⁷⁴.

En la subfamilia CYP2E se encuentra una enzima con un papel importante en el metabolismo del etanol: CYP2E1

Esta enzima, responsable de la actividad MEOS, oxida el etanol y otros alcoholes primarios, además de N-nitrosaminas, otros carcinógenos potenciales y varias drogas⁸. Esto implica que gracias a su intervención, mutágenos iniciales pueden transformarse en los respectivos mutágenos finales⁷⁵. Es inducible por un consumo crónico de alcohol y su actividad en el hígado se incrementa en sujetos alcohólicos. Su inducción implica en menor proporción al CYP3A4 y al CYP1A2, y contribuye a una tolerancia del alcohol y otras drogas⁷⁶.

Se han descrito varios polimorfismos genéticos que afectan al gen *CYP2E1*: el primero de ellos se localiza en la región anterior del extremo 5' del gen⁷⁷. Da lugar a dos alelos: uno frecuente que se le conoce como c1 y otro raro llamado c2. El alelo mutante c2 tiene una tasa transcripcional mayor que el alelo c1⁷⁷, lo que parece estar relacionado con el desarrollo de determinados tipos de cáncer.

Un estudio realizado en Japón en 1994 sugirió que este polimorfismo estaba relacionado con el desarrollo de enfermedades del hígado en las que está implicado el consumo de alcohol, con una prevalencia significativa del alelo c2⁷⁸. Otros dos estudios posteriores realizados en Gran Bretaña⁷⁹ y España⁸⁰ ponen también de manifiesto, respectivamente, el incremento del riesgo de padecer este tipo de enfermedades y una mayor probabilidad de hepatocarcinoma celular en consumidores habituales

de alcohol cuando poseen una copia de c2.

Sin embargo, parece que es el genotipo c1/c1 el factor susceptible en el desarrollo de cáncer de garganta con una aparente asociación al hábito de fumar⁸¹, y en el desarrollo de otros tipos de cáncer en el tracto aerodigestivo en grandes bebedores⁸².

Otro polimorfismo habitualmente analizado por su posible relación con el riesgo de padecer algún tipo de cáncer está localizado en un intrón. Los alelos descritos para este polimorfismo son C (raro) y D (frecuente).

Este polimorfismo, en su forma alélica C, se asocia principalmente al cáncer del pulmón especialmente en fumadores moderados^{83,84}, pero su estudio sólo parece relevante en poblaciones orientales donde la frecuencia de C es lo suficientemente alta como para encontrar diferencias significativas⁸. A pesar de ello y con la necesidad de estudios a mayor escala, otro estudio realizado con población europea caucásica relaciona el alelo C con un incremento en el riesgo de padecer cáncer de faringe o laringe⁸².

Familia CYP3

La familia CYP3 posee una única subfamilia: CYP3A13, que a su vez comprende cuatro genes: *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* y *CYP3A43* (este último identificado recientemente). *CYP3A4*, *CYP3A5* y *CYP3A7* codifican para enzimas que metabolizan prácticamente los mismos sustratos⁸⁵. La diferencia entre ellos se encuentra en el lugar de expresión; mientras que *CYP3A4* es el citocromo principal del hígado, *CYP3A5* y *CYP3A7* se van a expresar fundamentalmente en tejidos extrahepáticos y en hígado fetal, respectivamente⁸⁶. Por otro lado, *CYP3A4* y *CYP3A7* están regulados por PXR (Pregnane X Receptor) y *CYP3A5* por un receptor de glucocorticoides⁸⁵.

El CYP3A4 cataliza el metabolismo oxidativo de gran variedad de

sustancias con marcadas diferencias estructurales⁸⁷. Está implicado en el metabolismo de más del 60% de las drogas en uso entre las que se incluyen agentes inmunosupresores como la ciclosporina, antimicóticos como el clotrimazol y antibióticos macrólidos, como la eritromicina⁸⁸. También actúa en la hidroxilación de algunos esteroides como la testosterona, la progesterona y el cortisol⁸⁹, y varios estudios lo implican en la N-demetilación de la metadona⁹⁰.

Es la forma predominante en el hígado (30-40% del CYP total del hígado)^{66,67} y en el intestino delgado^{88,91}. En el hígado se han observado grandes variaciones interindividuales en la expresión de esta enzima⁹¹ además de variaciones en el metabolismo de los distintos sustratos. Todo esto sumado con el ancho rango de especificidad pone de manifiesto una de las bases en la interacción de drogas en pacientes con terapias en las que se combinan varias de ellas⁹², y afecta a la propia eficacia y toxicidad de la droga^{91,93,94}.

El CYP3A4 también activa pre-carcinógenos como la aflatoxina B¹⁹⁵, PAHs, NNK⁹⁶, y el 6-aminocriseno⁹⁷. Es inducido en hepatocitos humanos por rifampicina^{98,99}, dexametasona⁹⁹⁻¹⁰¹ y fenobarbital^{99,101} entre otros; y se ha visto que in vivo la rifampicina y los barbitúricos lo inducen en el hígado^{102,103} y la rifampicina en el intestino delgado¹⁰⁴. La inducción de este citocromo se regula principalmente por el receptor PXR^{92,105}, aunque otros receptores como el CAR (*Constitutive Active Receptor*) y el receptor de glucocorticoides también desempeñan un pequeño papel¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

La expresión variable de *CYP3A4* se debe a múltiples factores entre los que se encuentra, además de la inducción por drogas, compuestos endógenos o compuestos ambientales, los factores genéticos⁹¹.

El gen que codifica para la enzima CYP3A4 se localiza en humanos en el cromosoma 7. En los últimos años se han descrito varios polimorfismos genéticos que afec-

tan a este gen, sin embargo el estudio de la relación que puedan tener sobre el riesgo de desarrollar alguna enfermedad o de los efectos que ejerzan en el metabolismo de una droga se encuentra aun en los inicios.

En 1998¹⁰⁸ se apunta que una alteración en la región promotora 5' del gen, en donde se produce un cambio de A por G, altera el metabolismo de drogas quimioterapéuticas decreciendo el riesgo de leucemia debido a que los metabolitos que se producen por la acción del tipo normal de CYP3A4 dañan el DNA. Tres años después, otro estudio asocia este mismo polimorfismo a la pubertad temprana y sugiere que puede influir en los niveles de testosterona¹⁰⁹.

También en el año 2001⁹¹, se publicó un artículo que describía varios polimorfismos asociados a este gen entre los que encontraron dos que influían significativamente en los niveles de testosterona. Uno de ellos, F189S, se localiza en el exón 7 y en él se produce un cambio de una T por una C. El otro, L293P, se localiza en el exón 10 y también se caracteriza por el cambio de una T por una C. Estos polimorfismos se asociaron, respectivamente, con un metabolismo lento y un metabolismo rápido de la testosterona.

En estudios de 1996¹¹⁰ y 1998⁶⁸ se demuestra que el CYP3A5 se encuentra en todas la muestra de hígado analizadas. Sin embargo, a pesar de que este citocromo se expresa polimórficamente en el hígado humano¹¹¹, a lo largo de los años 90 se ha visto una gran expresión en garganta¹¹², colon¹¹³, riñón¹¹⁴, esófago¹¹⁵ y glándula pituitaria anterior¹¹⁶.

Se han descrito dos pseudogenes de CYP3A5¹³ y varios polimorfismos que afectan a este gen^{110,117}. Uno de ellos se relaciona con el incremento de su expresión en el hígado¹¹⁷.

Metaboliza el mismo patrón de sustratos que el CYP3A4, aunque con niveles menores^{97,118,119}, pero es incapaz de catabolizar la eritromicina y la quinidina¹¹⁹. No es inducible en el hígado humano ni en hepatocitos primarios^{99,111,120}, no obstante

recientemente se han podido inducir estos últimos por rifampicina y fenorbital⁶¹. Además hay evidencias de una inducción por reserpina y clotrimazol en líneas celulares de carcinoma de colon¹²¹.

El CYP3A7 se expresa mayoritariamente en el hígado fetal, donde es la principal forma¹²². Se han detectado niveles bajos de mRNA de CYP3A7 en hígado adulto^{123,124} y se ha visto que es inducible en hepatocitos primarios humanos de adultos por rifampicina¹²⁵. Esta inducción esta mediada por la ruta PXR¹²⁶.

El CYP3A43 se ha encontrado predominantemente en próstata de adultos, aunque también esta presente en múltiples órganos como el hígado donde es inducible por rifampicina¹²⁷. No obstante, otros autores lo señalan como una isoforma no funcional del citocromo P450¹²⁸.

BIBLIOGRAFÍA

- Hodgson, E, Goldstein, J. A. (2001) Metabolism of toxicants: phase I reactions and pharmacogenetics. In: Introduction to Biochemical Toxicology. 3rd Ed. (Ed. Hodgson, E y Smart, R. C.) Wiley-Interscience
- Wislocki PG, Miwa GT, Lu AYH (1980) In: Enzymatic Basis of Detoxication (Jakoby WB, Ed) Vol 1, pp 135-182, Academic Press, New York
- Nebert DW, González FJ. P450 genes: structure, evolution, and regulation. Annu Rev Biochem 1987; 56: 945-93
- Guengerich FP. Reactions and significance of cytochrome P-450 enzymes. J Biol Chem 1991; 266: 10019-10022
- Porter TD, Coon MJ. Cytochrome P-450. Multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms. J Biol Chem 1991; 266: 13469-13472
- Ortiz de Montellano PR (ed) (1995) Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry, 2nd Ed., Plenum Press, New York
- Black SD and Coon MJ (1986) In: Cytochrome P450, pp 161-216, P Ortiz de Montellano, Ed. Plenum, New York
- Ladero JM, García-Agúndez JA, Benítez J. [Enzymatic polymorphisms and lung cancer]. Med Clin (Barc) 1998; 111: 465-470
- Klingerberg, M. Arch Biochem Biophys 1958; 75: 376-386
- Garfinkel, D. Arch Biochem Biophys 1958; 77: 493-509
- Omura, T. and Sato, R., J Biol Chem 1964; 239: 2370-2378
- Omura, T. and Sato, R., J Biol Chem 1964; 239: 2379-2385
- Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, Gunsalus IC, Nebert DW. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. Pharmacogenetics 1996; 6: 1-42
- Ogita K, Kusunose E, Yamamoto S, Ichihara K and Kusunose M. Multiple forms of cytochrome P-450 from kidney cortex microsomes of rabbits treated with phenobarbital. Biochem Int 1983; 6: 191-198
- Cohen G. In: Handbook of Neurochemistry (1983), Vol 4, pp 315-329, A. Lajtha, Ed, 2nd ed., Plenum, New York
- Nakajin S, Shively JE, Yuan PM, Hall PF. Microsomal cytochrome P-450 from neonatal pig testis: two enzymatic activities (17 alpha-hydroxylase and c17, 20-lyase) associated with one protein. Biochemistry 1981; 20: 4037-4042
- Kaku M, Ichihara K, Kusunose E, Ogita K, Yamamoto S, Yano I, Kusunose MJ. Purification and characterization of cytochrome P-450 specific for prostaglandin and fatty acid hydroxylase activities from the microsomes of rabbit small intestinal mucosa. J Biochem (Tokyo) 1984; 96: 1883-91.
- Dalh AR, Hadley WM, Hahn FF, Benson JM, McClellan RO. Cytochrome P-450-dependent monooxygenases in olfactory epithelium of dogs: possible role in tumorigenicity. Science 1982; 216: 57-59
- Serajbit-Singh CJ, Wolf CR, Philpot RM, Plopper CG. Cytochrome p-450: localization in rabbit lung. Science 1980; 207: 1469-1470.
- Williams DE, Hale SF, Okita RF, Masters BS. A prostaglandin omega-hydroxylase cytochrome P-450 (P-450PG-omega) purified from

- lungs of pregnant rabbits. *J Biol Chem* 1984; 259: 14600-14608.
21. van der Hoeven TA, Coon MJ. Preparation and properties of partially purified cytochrome P-450 and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome P-450 reductase from rabbit liver microsomes. *J Biol Chem* 1974; 249: 6302-6310.
 22. Stasiecki P, Oesch F, Bruder G, Jarasch ED, Franke WW. Distribution of enzymes involved in metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons among rat liver endomembranes and plasma membranes. *Eur J Cell Biol* 1980; 21: 79-92
 23. Oesch F, Bentley P, Golan M, Stasiecki P. Metabolism of benzo(a)pyrene by subcellular fractions of rat liver: evidence for similar patterns of cytochrome P-450 in rough and smooth endoplasmic reticulum but not in nuclei and plasma membrane. *Cancer Res* 1985; 45: 4838-4843
 24. Lee CP, Schatz G, Dallner, G. Eds (1981) *Mitochondria and Microsomes*, Addison-Wesley Reading, Massachusetts
 25. Nebert DW, Negishi M, Lang MA, Hjelmelend LM, Eisen HJ. The Ah locus, a multigene family necessary for survival in a chemically adverse environment: comparison with the immune system. *Adv Genet* 1982; 21: 1-52
 26. Gunsalus IC, Wagner GC. Bacterial P-450cam methylene monooxygenase components: cytochrome m, putidaredoxin, and putidaredoxin reductase. *Methods Enzymol* 1978; 52: 166-88
 27. Gunsalus IC, Blattacharyya PK, Suhara K. Bioregulation of binding and dynamics: the cytochrome P-450CAM model. *Curr Top Cell Regul* 1985; 26: 295-309
 28. Lenhinger (1984) *Principios de Bioquímica*, Omega, Barcelona
 29. Williams RT. (1959) *Detoxification Mechanisms*, pp 717-744, Wiley, New York
 30. Deutsch J, Leutz JC, Yang SK, Gelboin HV, Chiang YL, Vatsis KP, Coon MJ. Regio- and stereoselectivity of various forms of purified cytochrome P-450 in the metabolism of benzo[a]pyrene and (-) trans-7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo[a]pyrene as shown by product formation and binding to DNA *Proc Natl Acad. Sci USA* 1978; 75: 3123-3127
 31. Nebert DW. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist? *Clin Genet* 1999; 56: 247-58
 32. Gonzalez, F. J. Human cytochromes P450: problems and prospects. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 346-52
 33. Capdevila JH, Falck JR, Harris RC. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation. Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *J Lipid Res* 2000; 41: 163-81
 34. Nelson DR. Cytochrome P450 and the individuality of species. *Arch Biochem Biophys* 1999; 1: 1-10
 35. Shimada T, Hayes CL, Yamazaki H, Amin S, Hecht SS, Guengerich FP, Sutter TR. Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1 *Cancer Res* 1996; 1: 2979-2984
 36. Nebert DW, McKinnon RA, Puga A. Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol* 1996; 15: 273-280
 37. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic susceptibility of squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 1991; 51: 5177-5180
 38. McLemore TL, Adelberg S, Liu C, McMahan NA et al. Expression of CYP1A1 gene in patients with lung cancer: evidence for cigarette smoke-induced gene expression in normal lung tissue and for altered gene regulation in primary pulmonary carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1333-1339
 39. Koehl W, Amin S, Staretz ME, Ueng IF, Yamazaki H, Tateishi T et al. Metabolism of 5-methylchrysene and 6-methylchrysene by human hepatic and pulmonary cytochrome P450 enzymes. *Cancer Res* 1996; 56: 316-324
 40. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shinoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphism of the cytochrome P450IA gene. *FEBS Lett* 1990; 263: 131-133
 41. Raunio H, Pasanen M, Mäenpää J, Hakkola J, Pelkonen O (1995) Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans. In: Pacifici GM & Fracchia GN (eds) *Advances in Drug Metabolism in Man*: 234-287. European Commission, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
 42. Hecht SS. Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol* 1998; 11: 559-603
 43. Landi MT, Sinha R, Lang NP, Kadlubar FF (1999) Human cytochrome P4501A2. In: Vineis P, Malats N, Lang M, d'Errico A, Caporaso N, Cuzick J & Boffetta P (eds) *Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer*: 173-195. IARC Scientific Publications No 148, Lyon
 44. Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem (Tokyo)* 1999; 125: 803-808
 45. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C@A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 47: 445-449
 46. Kalow W, Tang B-K. Use the caffeine metabolite ratios to explore CYP1A2 and xanthine oxidase activities. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 508-519
 47. Butler MA, Lang NP, Young JF, Caporaso NE, Vineis P, Hayes RB, Teitel CH, Massengill JP, Lawson MF, Kadlubar FF. Determination of CYP1A2 and acetyltransferase 2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites. *Pharmacogenetics* 1992; 2: 116-127
 48. Sutter Tr, Tang YM, Hayes CL, Wo Y-YP, Jabs EW, Li X, Yin H, Cody CW, Greenlee WF. Complete cDNA sequence of a human dioxin-inducible mRNA identifies a new gene subfamily of a cytochrome that maps to chromosome 2. *J Biol Chem* 1994; 269: 13092-13099
 49. Tang YM, Chen G-F, Thompson PA, Lin D-X, Lang NP, Kadlubar FF. Development of an antipeptide antibody that binds to the C-terminal region of human CYP1B1. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 274-280

50. Murray GI, Taylor MC, McFadyen MCE, McKay JA, Greenlee WF, Burke MD, Melvin WT. Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res* 1997; 57: 3026-3031
51. Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M. Identification of three different truncating mutations in cytochrome P4501B1 (CYP1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A locus on chromosome 2p21. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 641-647
52. Stoilov I, Akarsu AN, Alozie I, Child A, Barsoum-Homsy M, Turacli ME, Or M, Lewis RA, Ozdemir N, Brice G, Aktan SG, Chevrette L, Coca-Prados M, Sarfarazi M. Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 573-584
53. Nakajima M, Yamamoto T, Nunoya K-I, Yokoi T, Nagashima K, Inoue K, Funae Y, Shimada N, Kuroiwa Y. Role of human cytochrome P4502A6 in C-oxidation of nicotine. *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 1212-1217
54. Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM. A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1608-1614
55. Yamazaki H, Inoue K, Hashimoto M, Shimada T. Roles of CYP2A6 and CYP2B6 in nicotine C-oxidation by human livers microsomes. *Arch Toxicol* 1999; 73: 65-70
56. Kitagawa K, Kunugita N, Katoh T, Yang M, Kawamoto T. The significance of the homozygous CYP2A6 deletion on nicotine metabolism: a new genotyping method of CYP2A6 using a single PCR-RFLP. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 146-151
57. Pianezza ML, Sellers EM, Tyndale RF. Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature* 1998; 393: 750-750
58. Miyamoto M, Umetsu Y, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Kunitoh H, Nemoto N, Sato K, Ariyoshi N, Kamataki T. CYP2A6 gene deletion reduces susceptibility to lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 658-660
59. Sotaniemi EA, Rautio A, Bäckström M, Arvela P, Pelkonen O. CYP3A4 and CYP2A6 activities marked by the metabolism of lignocaine and coumarin in patients with liver and kidney diseases and epileptic patients. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 39: 71-76
60. Dalet-Beluche I, Boulenc X, Fabre G, Maurel P, Bonfils C. Purification of two cytochrome P450 isozymes related to CYP2A and CYP3A4 gene families from monkey (baboon, *Papio papio*) liver microsomes. Cross reactivity with human forms. *Eur J Biochem* 1992; 204: 641-648
61. Rodríguez-Antona C, Jover R, Gómez-Lechón MJ, Castell JV. Quantitative RT-PCR measurement of human cytochrome P-450s: application to drug induction studies. *Arch Biochem Biophys* 2000; 376: 109-116
62. Mimura M, Baba T, Yamazaki H, Ohmori S, Inui Y, Gonzalez FJ, Guengerich FP, Shimada T. Characterization of cytochrome P-450 2B6 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1993; 21: 1048-1056
63. Dehal SS, Kupfer D. Metabolism of the proestrogenic pesticide methoxychlor by hepatic P450 monooxygenases in rats and humans. Dual pathways involving novel ortho ring-hydroxylation by CYP2B6. *Drug Metab Dispos* 1994; 22: 937-946
64. Chang TKH, Weber GF, Crespi CL, Waxman DJ. Differential activation of cyclophosphamide and ifosfamide by cytochromes P-450 2B and 3A in human liver microsomes. *Cancer Res* 1993; 53: 5629-5637
65. Gervot L, Rochat B, Gautier JC, Bohnenstengel F, Kroemer H, de Berardinis V, Martin H, Beaune P, de Waziers I. Human CYP2B6: expression, inducibility and catalytic activities. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 295-306
66. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Inter-individual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414-423
67. Imaoka S, Yamada T, Hiroi T, Hayashi K, Sakaki T, Yabusaki Y, Funae Y. Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*, systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem Pharmacol* 1996; 51: 1041-1050
68. Edwards RJ, Adams DA, Watts PS, Davies DS, Boobies AR. Development of a comprehensive panel of antibodies against the major xenobiotic metabolising forms of cytochrome P450 in humans. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 377-387
69. Guengerich FP (1995) Cytochromes P450 of human liver. Classification and activity profiles of the major enzymes. In: Pacifici GM & Fracchia GN (eds) *Advances in drug metabolism in man*: 179-231. European Commission. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg
70. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 342-349
71. Pelkonen O, Raunio H. Metabolic activation of toxins: Tissue-specific expression and metabolism in target organs. *Environ Health Perspect* 1997; 105: 767-774
72. Dalen P, Dahl M-L, Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L. 10-hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 63: 444-452
73. Rostami-Hodjegan A, Lennard MS, Woods HF, Tucker GT. Meta-analysis of studies of the CYP2D6 polymorphism in relation to lung cancer and Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 227-238
74. Saarikoski ST, Sata F, Husgafvel-Pursiainen K, Rautalahti M, Haukka J, Impivaara O, Järvisalo J, Vainio H, Hirvonen A. CYP2D6 ultrarapid metabolizer genotype as a potential modifier of smoking behaviour. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 5-10
75. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M. Role of cytochrome P-450IIE1 in the oxidation of many molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol* 1991; 4: 168-179
76. Meskar A, Phee-Gautier E, Amet Y, Berthou F, Lucas D. [Alcohol-xenobiotic interactions. Role of cytochrome P450 2E1] *Pathol Biol (Paris)* 2001; 49: 696-702

77. Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J Biochem (Tokyo)* 1991; 110: 559-565
78. Tsutsumi M, Takada A, Wang JS. Genetics polymorphisms of cytochrome P450 2E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; 107: 1430-1435
79. Pirmohamed M, Kitteringham NR, Quest LJ, Allot RL, Green VJ, Gihuore IT, Park BK. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2E1 and risk of alcoholic liver disease in Caucasians. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 351-357
80. Ladero JM, Agundez JA, Rodriguez-Lescure A, Diaz-Rubio M, Benitez J. Rsa I polymorphism at the cytochrome P450 2E1 locus and risk of hepatocellular carcinoma. *Gut* 1996; 39: 330-333
81. Li Z, Tan W, Shao K. [Susceptibility to lung cancer in Chinese is associated with genetic polymorphism in cytochrome P4502E1] *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2000; 22: 5-7
82. Bouchardy C, Hirvonen A, Coutelle C, Ward PJ, Dayer P, Benhamou S. Role of alcoholic dehydrogenase 3 and cytochrome P-4502E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer* 2000; 87: 734-740
83. Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abet T, Sagami I et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 254-256
84. Uematsu F, Ikawa S, Kikuchi H, Sagami I, Karamaru T, Satoh AK et al. Restriction fragment length polymorphism of the human CYP2E1 (cytochrome 2IIE1) gene and susceptibility to lung cancer-possible relevance to low smoking exposure. *Pharmacogenomics* 1994; 4: 58-63
85. Hukkanen J. Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in human lung. *Acta Univ. Oul.* 2000; D 621
86. Thummel KE, Wilkinson GR. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A4. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 389-430
87. Guengerich FP. Characterization of human cytochrome P450 enzymes. *FASEB J.* 1992; 6: 745-748
88. Maurel P (1996) The CYP3A4 family: in cytochromes P450: metabolic and toxicological Aspects. C. Ioannides, editor. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 241-270
89. Waxman DJ, Attisano C, Guengerich FP, Lapenson DP. Human liver microsomal steroid metabolism: identification of the major microsomal steroid hormone 6 beta-hydroxylase cytochrome P-450 enzyme. *Arch Biochem Biophys.* 1988; 263: 424-36
90. Oda Y, Kharasch ED. Metabolism of methadone and levo-?-Acetylmethadol (LAAM) by human intestinal cytochrome P450 3A4 (CYP3A4): potential contribution of intestinal metabolism to presystemic clearance and bioactivation. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298: 1021-1032
91. Dai D, Tang J, Rose R, Hodgson E, Bienstock RJ, Mohremweiser HW, Goldstein JA. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 825-831
92. Lehmann JM, McKee DD, Watson MA, Willson TM, Moore JT, Kliewer SA. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. *J Clin Invest* 1998; 102(5): 1016-1023
93. Thummel KE and Wilkinson GR. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A4. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 389-430
94. Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 1-17
95. Aoyama T, Yamano S, Guzelian PS, Gelboin HV, Gonzalez FJ. Five of 12 forms of vaccinia virus-expressed human hepatic cytochrome P450 metabolically activate aflatoxin B1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4790-4793
96. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1194-1210
97. Yamazaki H, Inui Y, Wrighton SA, Guengerich FP, Shimada T. Procarcinogen activation by cytochrome P450 3A4 and 3A5 expressed in *Escherichia coli* and by human liver microsomes. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2167-2170
98. Morel F, Beaune PH, Ratanasavanh D, Flinois J-P, Yang CS, Guengerich FP, Guillouzo A. Expression of cytochrome P-450 enzymes in cultured human hepatocytes. *Eur J Biochem* 1990; 191: 437-444
99. Schuetz EG, Schuetz JD, Strom SC, Thompson MT, Fisher RA, Molowa DT, Li D, Guzelian PS. Regulation of human liver cytochromes P-450 in family 3A in primary and continuous culture of human hepatocytes. *Hepatology* 1993; 18: 1254-1262
100. Pichard L, Fabre I, Daujat M, Domergue J, Joyeux H, Maurel P. Effect of corticosteroids on the expression of cytochromes P450 and on cyclosporin A oxidase activity in primary cultures of human hepatocytes. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 1047-1055
101. Kocarek TA, Schuetz EG, Strom SC, Fisher RA, Guzelian PS. Comparative analysis of cytochrome P4503A induction in primary cultures of rat, rabbit, and human hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 1995; 23: 415-421
102. Perrot N, Nalpas B, Yang CS, Beaune PH. Modulation of cytochrome P450 isozymes in human liver, by ethanol and drug intake. *Eur J Clin Invest* 1989; 19: 549-555
103. Ged C, Rouillon JM, Pichard L, Combalbert J, Bressot N, Bories P, Michel H, Beaune P, Maurel P. The increase in urinary excretion of 6b-hydroxycortisol as a marker of human hepatic cytochrome P450IIIA induction. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 28: 373-387
104. Kolars JC, Schmiedlin-Ren P, Schuetz JD, Fang C, Watkins PB. Identification of rifampicin-inducible P450IIIA (CYP3A4) in human small bowel enterocytes. *J Clin Invest* 1992; 90: 1871-1878
105. Moore LB, Parks DJ, Jones SA, Bledsoe RK, Consler TG, Stimmel JB, Goodwin B, Liddle C, Blanchard SG, Willson TM, Collins JL, Kliewer SA. Orphan nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor

- share and steroid ligands. *J Biol Chem* 2000; 275: 15122-15127
106. Sueyoshi T, Kawamoto T, Zelko I, Honkakoski P, Negishi M. The repressed nuclear receptor CAR responds to phenobarbital in activating the human CYP2B6 gene. *J Biol Chem* 1999; 274: 6043-6046
107. Pascussi J-M, Gerbal-Chaloin S, Pichard-García L, Daujat M, Fabre J-M, Maurel P, Vilarem M-J. Interleukin-6-negatively regulates the expression of pregnane X receptor and constitutively activated receptor in primary human hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274: 707-713
108. Felix CA, Walker AH, Lange BJ, Williams TM, Winick NJ, Cheung NK, Lovett BD et al. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukaemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(22): 13176-13181
109. Lai J, Vesprini D, Chu W, Jernström H, Narod SA. CYP gene polymorphisms and early menarche. *Mol Genet Metab*. 2001; 74(4): 449-57
110. Jounaidi Y, Hyrilles V, Gervot L, Maurel P. Detection of CYP3A5 allelic variant: a candidate for the polymorphic expression protein? *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221: 466-470
111. Wrighton SA, Ring BJ, Watkins PB, VandenBranden M. Identification of a polymorphically expressed member of the human cytochrome P-450III family. *Mol Pharmacol* 1989; 86: 97-105
112. Kivistö KT, Griese E-U, Fritz P, Linder A, Hakkola J, Raunio H, Beaune P, Kroemer HK. Expression of cytochrome P4503A enzymes in human lung: a combined RT-PCR and immunohistochemical analysis of normal tissue and lung tumors. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1996; 353: 207-212
113. Gervot L, Carriere V, Costet P, Cugnenc PH, Berger A, Beaune P, de Waziers I. CYP3A5 is the major cytochrome P4503A expressed in human colon and colonis cell lines. *Environ Tox Pharm* 1996; 2: 381-388
114. Schuetz EG, Schuetz JD, Grogan WM, Naray-Fejes-Toth A, Fejes-Toth G, Raucy J, Guzelian P, Gionela K, Watlington CO. Expression of cytochrome P4503A in amphibian, rat, and human kidney. *Arch Biochem Biophys* 1992; 294: 206-214
115. Lechevrel M, Casson AG, Wolf CR, Hardie LJ, Flinterman MB, Montesano R, Wild CP. Characterization of cytochrome P450 expression in human oesophageal mucosa. *Carcinogenesis* 1999; 20: 243-248
116. Murray GI, Pritchard S, Melvin WT, Burke MD. Cytochrome P450 CYP3A5 in the human pituitary gland. *FEBS Lett* 1995; 364: 79-82
117. Paulussen A, Lavrijsen K, Bohets H, Hendrickx J, Verhasselt P, Luyten W, Konings F, Armstrong M. Two linked mutations in transcriptional regulatory elements of the CYP3A5 gene constitute the major genetic determinant of polymorphic activity in humans. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 415-424
118. Aoyama T, Yamano S, Waxman DJ, Lapenson DP, Meyer UA, Fischer V, Tyndale R, Inaba T, Kalow W, Gelboin HV, Gonzalez FJ. Cytochrome P-450 hPCN3, a novel cytochrome P-450 IIIA gene product that is differentially expressed in adult human liver. *J Biol Chem* 1989; 264: 10388-10395
119. Wrighton SA, Brian WR, Sari MA, Iwasaki M, Guengerich FP, Raucy JL, Molowa DT, VandenBranden M. Studies on the expression and metabolic capabilities of human liver cytochrome P450III A5 (HLp3). *Mol Pharmacol* 1990; 38: 207-213
120. Chang TKH, Yu L, Maurel P, Waxman DJ. Enhanced cyclophosphamide and ifosfamide activation in primary human hepatocyte cultures: response to cytochrome P-450 inducers and autoinduction by oxazaphosphorines. *Cancer Res* 1997; 57: 1946-1954
121. Schuetz EG, Beck WT, Schuetz JD. Modulators and substrates of P-glycoprotein and cytochrome P4503A coordinately up-regulate these proteins in human colon carcinoma cells. *Mol Pharmacol* 1996; 49: 311-318
122. Kitada M, Kamataki T. Cytochrome P450 in human fetal liver: significance and fetal specific expression. *Drug Metab Rev* 1994; 26: 305-323
123. Hakkola J, Pasanen M, Purkunen R, Saarikoski S, Pelkonen O, Mäenpää J, Rane A, Raunio H. Expression of xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 forms in human adult and fetal liver. *Biochem Pharmacol* 1994; 48: 59-64
124. Schuetz JD, Beach DL, Guzelian PS. Selective expression of cytochrome P450 CYP3A mRNAs in embryonic and adult human liver. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 11-20
125. Greuet J, Pichard L, Bonfils C, Domerque J, Maurel P. The fetal specific gene CYP3A7 is inducible by rifampicin in adult human hepatocytes in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 689-694
126. Pascussi JM, Jounaidi Y, Drocourt L, Domergue J, Balabaud C, Maurel P, Vilarem M-J. Evidence for the presence of a functional pregnane X receptor response element in the CYP3A7 promoter gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 260: 377-381
127. Gellner K, Eiselt R, Hustert E, Arnold H, Koch I, Haberl M, Deglmann CJ, Burk O, Buntfuss D, Escher S et al. Genomic organization of human CYP3A locus: identification of a new inducible gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 111-121
128. Westlind A, Malmebo S, Johansson I, Otter C, Andersson TB, Ingelman-Sundberg M, Oscarson M. Cloning and tissue distribution of a novel human cytochrome P450 of the CYP3A subfamily, cyp3a43. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281: 1349-1355