



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS
EN EL TRANSPORTE DE FÁRMACOS
COMO CAUSA DE FRACASO EN LA
RESPUESTA TERAPÉUTICA**

JOSÉ MIGUEL CANAL PÉREZ





UNIVERSIDAD DE SEVILLA
Facultad de Farmacia. Grado en Farmacia

TRABAJO FIN DE GRADO

Revisión bibliográfica

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN EL TRANSPORTE DE FÁRMACOS COMO CAUSA DE
FRACASO EN LA RESPUESTA TERAPÉUTICA**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Tutora: M^a Luisa Vizquete Chacón

SEVILLA, 6 de julio de 2017

JOSÉ MIGUEL CANAL PÉREZ

RESUMEN

Cuando un medicamento toma contacto con el organismo, entran en juego dos disciplinas fundamentales de la farmacología, la farmacocinética y la farmacodinámica, que describen los procesos a los que está sujeto el fármaco desde que entra en el organismo hasta que este ejerce su efecto terapéutico y es eliminado. En todo momento se busca un efecto terapéutico, pero no siempre sucede así debido a la influencia de una serie de factores que condicionan la respuesta. Uno de los factores influyentes son los polimorfismos genéticos, variaciones en las estructuras de los genes que ocasionan diferencias en la respuesta en pacientes tratados con el mismo medicamento que llegan a explicar entre el 20 y el 95% de las variabilidades interindividuales en la respuesta a los fármacos. Para que una variación en los genes sea considerada polimorfismo, debe afectar a más de un 1% de la población, como en el caso de los genes que codifican a las superfamilias de proteínas ABC (ATP-Binding Cassete) y SLC (Solute-Carriers), encargadas del transporte de fármacos antineoplásicos, antiepilépticos, antipsicóticos... Estas variaciones en las proteínas transportadoras se traducen en que el fármaco, al llegar a la célula puede ser expulsado, modificando, así, la biodisponibilidad de la dosis administrada y su distribución en el organismo provocando ineficacia o toxicidad.

De la observación de diferencias en la respuesta a fármacos nacen dos disciplinas, la farmacogenética y la farmacogenómica, que estudian la relación entre los genes y la respuesta a los fármacos. Tienen como objetivo la adecuación de las dosis de un fármaco a cada paciente adaptándolos a sus condiciones genéticas para así conseguir una respuesta eficaz y una disminución de los efectos secundarios. Ambas continúan aun en desarrollo para poder integrarlas en la práctica clínica, que puede ser compleja debido al elevado número de polimorfismos y la dificultad para identificarlos.

Palabras clave: polimorfismos genéticos, SNPs, transportadores ABC, transportadores SLC.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. Farmacocinética y Farmacodinámica	7
1.2. Farmacogenómica y Farmacogenética	8
2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	11
3. METODOLOGÍA	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1. Transportadores de Membrana	12
4.2. Superfamilia ABC	13
○ Glicoproteína P	16
○ BCRP	21
○ MRP1	24
4.3. Superfamilia SLC	27
4.3.1. Polimorfismos en los transportadores	30
○ SLC22A1	30
○ SLCO1B1	31
○ SLC6A15	31
4.4. Perspectivas de futuro	32
5. CONCLUSIONES	34
6. BIBLIOGRAFÍA	35

1. INTRODUCCIÓN

Para que un fármaco pueda ser comercializado debe pasar una investigación experimental previa conocida como Ensayo Clínico, destinado a establecer la eficacia, reacciones adversas y seguridad del mismo. Una vez aprobada la comercialización, el fármaco podrá ser usado en clínica partiendo de los criterios preestablecidos, pero no es posible en todos los casos, siendo necesarios métodos alternativos aplicados a la situación individual de cada paciente.

Esto sucede así debido a que los Ensayos Clínicos se llevan a cabo en un número reducido de pacientes bajo condiciones ideales, pero llevado a la práctica real, este tratamiento resulta ineficaz y en otros se desarrolla toxicidad. Es en este punto en el que surge la variabilidad interindividual, causada por numerosos factores relacionados con el paciente (genéticos, étnicos, ambientales, género, edad...), con patologías concomitantes o con su tratamiento farmacológico (interacciones entre fármacos).

Los factores que más afectan a la variabilidad en la respuesta a fármacos son los factores genéticos causando diferencias en la velocidad de metabolismo de los fármacos, en el transporte a través de las membranas celulares, así como en la susceptibilidad de los receptores u otras dianas farmacológicas (Flórez, 2014). Pueden llegar a explicar entre el 20 y el 95% de la variabilidad interindividual en la respuesta a fármacos.

En la farmacocinética y la farmacodinámica están implicadas un gran número de proteínas, muchas de ellas afectadas por polimorfismos genéticos como en el caso de los transportadores ABC y SLC, fundamentales en el transporte de fármacos.

En esta revisión se describen las principales proteínas transportadoras, los polimorfismos genéticos que las afectan y cómo influyen en la respuesta al tratamiento farmacológico de algunas enfermedades.

1.1. FARMACOCINÉTICA Y POLIMORFISMOS

Si repasamos lo que ocurre desde que se administra un fármaco hasta que este ejerce su acción, comprobaremos que el proceso está integrado por múltiples y complejos pasos (Arribas, 2010).

Las disciplinas que se encargan del estudio de estos procesos son la farmacocinética y farmacodinamia (Figura 1).

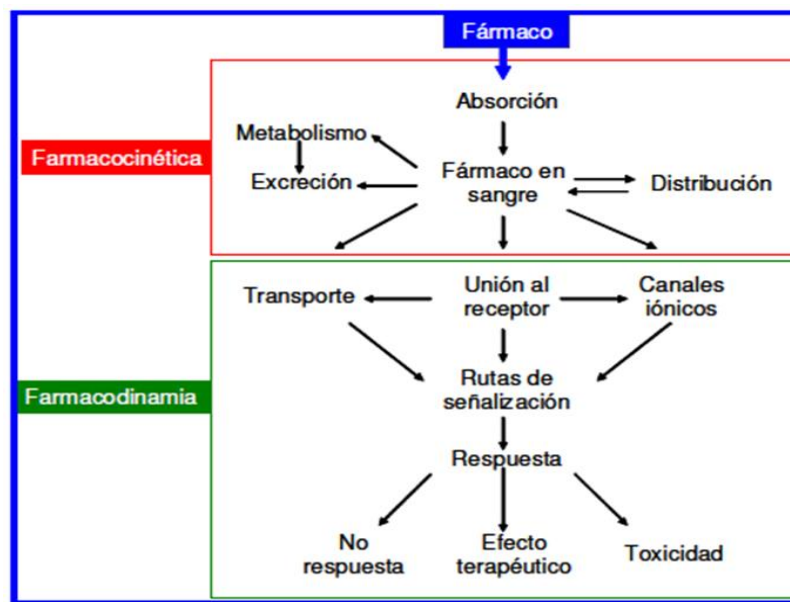


Figura 1. Procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos del fármaco en el organismo (Rodríguez, 2010).

El efecto terapéutico de un fármaco puede estar condicionado genéticamente por mutaciones localizadas en genes que codifican proteínas implicadas tanto en los procesos farmacocinéticos como en los farmacodinámicos (Rodríguez, 2010).

Por tanto, podemos hablar de polimorfismos genéticos farmacocinéticos que afectan a las enzimas que intervienen en el metabolismo de los fármacos y a los transportadores de los que depende el acceso a determinados órganos y polimorfismos genéticos farmacodinámicos que afectan a los receptores y otras dianas farmacológicas.

Ambos tipos afectan a numerosos fármacos y pueden provocar respuestas no deseadas, ineficacia o toxicidad.

Apoyándonos en el título de la presente revisión, nos centraremos en los polimorfismos genéticos farmacocinéticos en proteínas transportadoras. Para ello, antes de entrar en materia, resulta de interés definir el concepto de farmacocinética como la disciplina que estudia el curso temporal de las concentraciones y cantidades de los fármacos y de sus metabolitos en los líquidos biológicos, tejidos y excretas, así como su relación con la respuesta farmacológica, y construye modelos adecuados para interpretar estos datos (Flórez, 2014). Por tanto, la farmacocinética está integrada por 5 procesos básicos conocidos como LADME: Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción.

Un ejemplo de fracaso en la respuesta terapéutica causado por polimorfismos genéticos farmacocinéticos lo encontramos en el tratamiento del cáncer rectal y el cáncer de colon metastásico con irinotecán, un fármaco antineoplásico. Este fármaco es transportado por una proteína denominada BCRP que es codificada por un gen de la superfamilia ABC. Este gen presenta dos polimorfismos, el SNPs C763T y el C421A, consisten en la sustitución de un nucleótido por otro diferente, provocando, según los estudios realizados, una baja expresión de la proteína y un aumento de la sensibilidad al agente anticanceroso (Yanase et al., 2006).

1.2. FARMACOGENÓMICA Y FARMACOGENÉTICA

Para empezar a hablar sobre farmacogenética, tendríamos que retroceder hasta el año 510 a.C., año en el que tuvieron lugar las primeras observaciones sobre esta disciplina, cuando, Pitágoras describió la reacción adversa causada por la ingesta de habas en algunos individuos; este fenómeno fue conocido durante varios años como “favismo” (Hockwald y cols., 1952).

Otro hecho conocido sobre los inicios de la farmacogenética se desarrolló durante la II guerra mundial, periodo en el que se describió que el 10% de los soldados afro-americanos tratados con el fármaco primaquina y otros antipalúdicos desarrollaban anemia hemolítica (Hockwald y cols., 1952).

Se comprobó que ambos efectos adversos estaban propiciados por la deficiencia de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (Alving et al., 1956).

Fue en el año 1959 cuando Fredrich Vogel usó por primera vez el término Farmacogenética, para designar el estudio del papel que juega la variación de los genes individuales en la respuesta a los medicamentos. Farmacogenómica, por su parte, tiene su inicio más recientemente y su relación con la Farmacogenética no está exenta de controvertidas interpretaciones entre los investigadores de la materia (Arribas, 2010).

Desde el nacimiento de estas disciplinas ha habido confusión entre ambas por la falta de una definición precisa para cada una de ellas, por esta razón, *The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), creó una guía en la que incluía ambos términos, definiendo la farmacogenética como “el estudio de la influencia de las variaciones en la secuencia del ADN sobre la respuesta a fármacos” y la diferenció de la farmacogenómica como “la investigación de las características de las variaciones del ADN y ARN en relación con la respuesta a fármacos”.

A pesar de esta diferenciación, la mayoría de autores está de acuerdo en considerar los términos farmacogenómica y farmacogenética como sinónimos. Por tanto, la farmacogenómica es un concepto más amplio convirtiendo a la farmacogenética en un apartado de la farmacogenómica.

Para justificar la variabilidad en la respuesta a los medicamentos en la especie humana causada por factores genéticos, debemos fundamentarnos en los polimorfismos.

En términos científicos, el polimorfismo se define como «la existencia simultánea en una población de genomas con distintos alelos para un locus determinado» (Torrades, 2002). Esto quiere decir que existen variaciones en la secuencia del ADN, pudiendo dar lugar a una reducción o a un incremento de la actividad génica. Estas variaciones son estables y hereditarias y existen distintos tipos:

- ✓ SNPs: single nucleotide polymorphisms. Consiste en la sustitución de una base, dónde solo un nucleótido (A, C, G ó T) es reemplazado por otro.
- ✓ DIPs: deletion insertion polymorphisms. Inserción o delección de una base o de un

conjunto de bases en el ADN. Puede ser desde cientos a miles.

- ✓ STRs: short tandem repeats. Inserción o deleción, repetidas varias veces, de una o más bases. Generan fragmentos denominados microsatélites, secuencias de ADN en las que un fragmento, que puede ser desde 2 hasta 6 pb (pares de bases), se repite de manera sucesiva. La variación en el número de repeticiones es lo que crea diferentes alelos.

Del total de variaciones genéticas detectadas hasta día de hoy, el 90% de estas se deben a SNPs (single nucleotide polymorphisms) y se encuentran dispersos por todo el genoma humano.

Es importante diferenciar 3 subtipos de SNPs:

- Synonymous: no existe ningún cambio en la secuencia de aminoácidos por lo que generará una proteína natural o mejor conocido en genética como “wild-type”.
- Non-synonymous: cambio en la secuencia de aminoácidos generando una proteína mutada.
- Nonsense: cambia un codón stop que genera una proteína truncada (Yin et al., 2011).

Existe otra clasificación para diferenciar a las variaciones del ADN que las divide en dos: aquellas que pueden encontrarse en las regiones codificantes del genoma (regiones que codifican para una proteína), recibiendo el nombre de «polimorfismos génicos». Y aquellas que podemos encontrar en las regiones no codificantes (regiones que no codifican para ningún producto génico, pero que pueden tener una función reguladora o simplemente estructural); entonces reciben el nombre de «polimorfismos genéticos» y son los responsables de la exclusividad del perfil genético de un individuo.

Por ejemplo, la digoxina, un fármaco utilizado como antiarrítmico en insuficiencias cardíacas tiene significativamente mayor biodisponibilidad en pacientes que tienen el genotipo 3435TT para la glicoproteína-P, proteína transmembrana transportadora de fármacos (Evans y McLeod, 2003).

Se considera que existe polimorfismo genético cuando un determinado alelo

mutante, que suele producir un fenotipo anómalo, se observa en más de 1% de la población (Flórez, 2014)

Llevar a cabo una revisión de todos los farmacogenes conocidos excedería los límites de este trabajo. Por tanto, centraremos la revisión en aquellos que afectan a las proteínas transportadoras de fármacos repercutiendo en la respuesta terapéutica.

2. OBJETIVOS

1. Describir los conceptos asociados a farmacogenética y farmacogenómica para comprender la complejidad del estudio, así como las causas de las diferencias interindividuales en los tratamientos farmacológicos.
2. Describir el concepto de polimorfismo, así como los diferentes tipos que existen.
3. Analizar los transportadores de fármacos fundamentales, así como describir los principales polimorfismos que los afectan.
4. Breve perspectiva del estado actual de la medicina personalizada y señalar las pautas a seguir en el futuro.

3. METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este trabajo, se utilizaron como fuentes bibliográficas “PubMed” y Google Académico.

Debido a que el título de la revisión bibliográfica es muy general y el tema a tratar es amplio, se llevó a cabo una primera búsqueda bibliográfica apoyándonos en la opción MeSH (Medical Subject Headings), tesauro de vocabulario utilizado para la indexación de artículos para PubMed. La palabra empleada fue “polymorphism” y las palabras sugeridas fueron “Polymorphisms”, “Genetic, Genetic Polymorphism”, “Polymorphism (Genetics)”, “Genetic Polymorphisms”. Los artículos revisados y seleccionados mostraron la amplitud del tema y la necesidad de concretar sobre los puntos más característicos para no exceder los límites de espacio. Esto hizo necesaria una segunda búsqueda usando como palabras claves: “Polymorphisms, Single Nucleotide”, “SNPs”. Los artículos obtenidos permitieron hacer un cribado y seleccionar las proteínas transportadoras más características afectadas por polimorfismos y causantes del fracaso terapéutico para

incluirlas en la presente revisión.

Como fuente de información complementaria, fue de gran interés el uso de la base de datos <https://www.pharmgkb.org/> que recopila y difunde conocimientos sobre el impacto de la variación genética humana en la respuesta a fármacos. Los genes de particular relevancia actual en farmacogenómica, denominados farmacogenes, se encuentran clasificados en una lista elaborada por dicha base de datos, se conocen 64 y los clasifica como VIPs (Very Important Pharmacogenes o en español «fármacogenes muy importantes»), fueron seleccionados aquellos con mayor impacto en el fracaso terapéutico.

Para la síntesis de la bibliografía, así como de las referencias bibliográficas utilizadas, se recurrió a Mendeley Desktop, una aplicación de gestión de referencias bibliográficas y de documentos en formato PDF.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TRANSPORTADORES DE MEMBRANA

Al hablar de transportadores, hablamos de proteínas, que en este caso tienen como función ayudar a los fármacos y sus metabolitos a atravesar las membranas biológicas mediante la captación y el eflujo permitiendo la transferencia de sustancias desde el intestino a la circulación sistémica, y desde la sangre a las vías de excreción, es decir, el hígado y los riñones. Actúan en células relevantes, como, por ejemplo, en los hepatocitos, células de interés farmacogenético entre otras (Daly, 2010).

Por lo tanto, son claves en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos.

Como proteínas, su concentración está regulada por la dotación génica del individuo, que condiciona la concentración basal de proteínas transportadoras que dicho individuo posee, y por la posibilidad de que su síntesis sea favorecida por agentes inductores, o de que su función se vea entorpecida por la presencia de sustratos que compitan o inhiban el mecanismo (Flórez, 2014). En consecuencia, existirán diferencias interindividuales en las concentraciones plasmáticas de fármacos.

El número de proteínas transportadoras conocidas va en aumento, por este motivo tienen cada vez más importancia, siendo un factor determinante de la disposición de fármacos y la respuesta al mismo.

Desde el punto de vista farmacológico, destacan dos transportadores de membrana divididos en dos grandes familias:

- La superfamilia de transportadores ATP binding cassette (ABC), relacionada con el eflujo de fármacos y afectada por numerosos polimorfismos.
- La familia de transportadores de solutos (SLC), relacionada con la captación del fármaco a las células tales como hepatocitos y las células del túbulo renal (Daly, 2010).

Ambos juegan un papel fundamental en la regulación de la homeostasis del cuerpo.

Se estima que los polimorfismos genéticos en las proteínas transportadoras determinan el 20-95% de la variabilidad interindividual de los efectos del fármaco respecto a todos los factores que influyen en la respuesta al mismo (Kerb, 2006).

4.2. SUPERFAMILIA ABC

Los transportadores ATP binding cassette (ABC) comprenden una larga familia de proteínas de membrana capaces de transportar diversas moléculas mediante transporte activo primario, usando la hidrólisis de ATP como fuente de energía para trasladar de forma activa sus sustratos tales como iones, azúcar, aminoácidos, lípidos, iones metálicos, péptidos, proteínas, complejos organometálicos y antibióticos en contra de gradiente de concentración.

Todas ellas poseen una estructura básica que se compone de al menos cuatro dominios necesarios para ser funcionales. Dos dominios altamente conservados de unión a nucleótidos que son intracelulares, conocidos por las siglas en inglés NBDs (Nucleotide-Binding Domains), dominio que suministra la energía por hidrólisis de ATP y dos dominios hidrofóbicos menos conservados (TMDs: Transmembrane Domains) de al menos seis segmentos α -hélice transmembrana (MSD) que son los que fijan el sustrato

y abren camino a la permeación (Lewinson y Livnat-Levanon, 2017).

El dominio NBD contiene dos motivos peptídicos cortos, uno rico en glicina y otro hidrófobo, conocidos como motivo Walker A y Walker B. Ambos están involucrados en la unión e hidrólisis del ATP. Hay un tercer motivo altamente conservado, la secuencia ABC o motivo C. Es un motivo único de la superfamilia ABC. Estos 3 motivos son muy importantes para la función catalítica.

En algunos genes que codifican proteínas transportadoras ABC, los diferentes dominios ya están fusionados en unidades estructurales mayores, como los “transportadores medios” [TMD-NBD] formados por un solo dominio TMD y otro NBD o los “transportadores completos” [TMD-NBD]₂, formados por dos dominios TMD y dos NBD. La organización de los genes en organismos eucariotas muestra una amplia variación. Las diferentes 12 combinaciones de dominios se distribuyen normalmente en uno o dos genes que codifican “transportadores medios o completos” [TMD-NBD] (Lage, 2003).

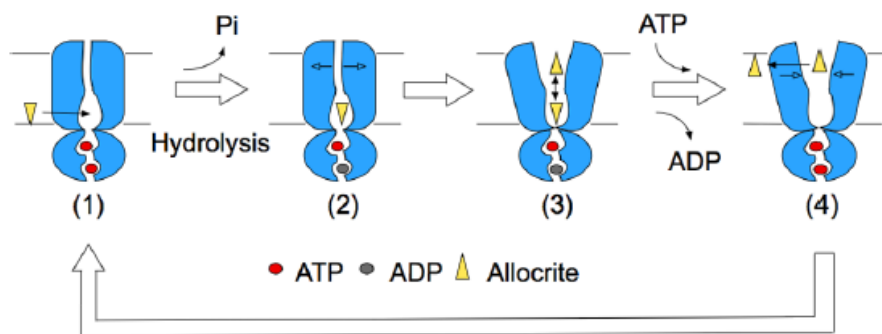


Figura 2. Ciclo de funcionamiento de proteínas ABC (Xu et al., 2017).

En la figura 2 observamos 4 estados que reflejan el funcionamiento de un transportador ABC con sus dos moléculas de ATP unidas a los dominios NBDs y los dominios TMDs que se encuentran cerrados (estado 1) permitiendo el acceso parcial a los solutos a la cavidad interna, esto provoca la hidrólisis de ATP de uno de los dominios NBS, liberando fosfato inorgánico (P_i) dejando a los dominios NBDs con una ocupación asimétrica al eliminar las interacciones electrostáticas claves (estado 2) favoreciendo la apertura de los dominios transmembrana y la permeación del sustrato (estado 3). Como la concentración citosólica de ATP es alta, tan pronto como se libera el ADP, se une un

nuevo ATP al dominio correspondiente generando nuevas interacciones electrostáticas que estabilizan la estructura, favoreciendo que los dominios NDB se cierren (estado 4) (Xu et al., 2017). La fijación e hidrólisis del ATP en los NBD proporcionan la energía para el transporte activo de los sustratos a través de la membrana.

Un transportador ABC puede funcionar tanto importando como exportando moléculas (Tabla 1), estando los exportadores presentes en todo tipo de células y los importadores solo en bacterias y plantas (Lewinson y Livnat-Levanon, 2017).

FAMILIA DE TRANSPORTADORES	NOMENCLATURA	PRINCIPALES SUSTRATOS TRANSPORTADOS
MDR-1,2	ABCB1,4	Sustratos de la glucoproteína P, cationes orgánicos, sustancias neutras, lípidos
cBAT/BSEP	ABCB11	Ácidos biliares
MRP1,2,3,...,n	ABCC1,...,n	Aniones orgánicos, conjugados de glutatión
cMOAT (MRP2)	ABCC2	Aniones
BCRP/MXR	ABCG2	Mitoxantrona, doxorubicina, daunorrubicina

Tabla 1. Ejemplos de transportadores ABC, nomenclatura de los mismos y sus principales sustratos (Flórez, 2014).

Representan en el ser humano un conjunto de 49 proteínas agrupadas en siete familias según la homología de su secuencia: ABCA (12 miembros), ABCB (11 miembros), ABCC (13 miembros), ABCD (4 miembros), ABCE (1 miembro), ABCF (3 miembros) y ABCG (5 miembros).

Cada proteína es específica para un sustrato o grupo de sustratos relacionados, por ejemplo, la proteína MDR3 pertenece a la familia ABC-B, transporta cationes orgánicos y fosfolípidos (Flórez, 2014).

Destacan 3 tipos, la glicoproteína P (ABCB1, MDR1), la proteína de resistencia al cáncer de pulmón BCRP (ABCG2) y la proteína 1 asociada a la resistencia a múltiples drogas MRP1 (ABCC1).

GLICOPROTEÍNA P

La glicoproteína P (P-gp) (Figura 3) es codificada por el gen ABCB1, presente en todo reino de vida, responsable de la homeostasis celular. Fue clonado por primera vez por Riordan et al. (1985), se sitúa en la banda 21 del cromosoma 7 y está formado por 29 exones, aunque solo 27 son responsables de la codificación de la glicoproteína P (Bodor et al., 2005).

El término ABCB1 nos da idea de que es una proteína transportadora, miembro 1 de la subfamilia B.

Se trata de una proteína glicosilada con un peso molecular de 170kDa, formada por 1280 aminoácidos que dan lugar a dos mitades homólogas con seis segmentos transmembrana hidrofóbicos en cada mitad y un segmento intracelular, con un sitio de enlace para el ATP. Dichas dos mitades están unidas por un polipéptido flexible de enlace (Arribas, 2010). La proteína sufre modificaciones postraduccionales, fosforilación y N-glicosilación. Las quinasas, enzimas encargadas de llevar a cabo la fosforilación, muestran diferencias a la hora de actuar, hecho que influirá en la actividad final de la proteína (Hodges et al., 2011).

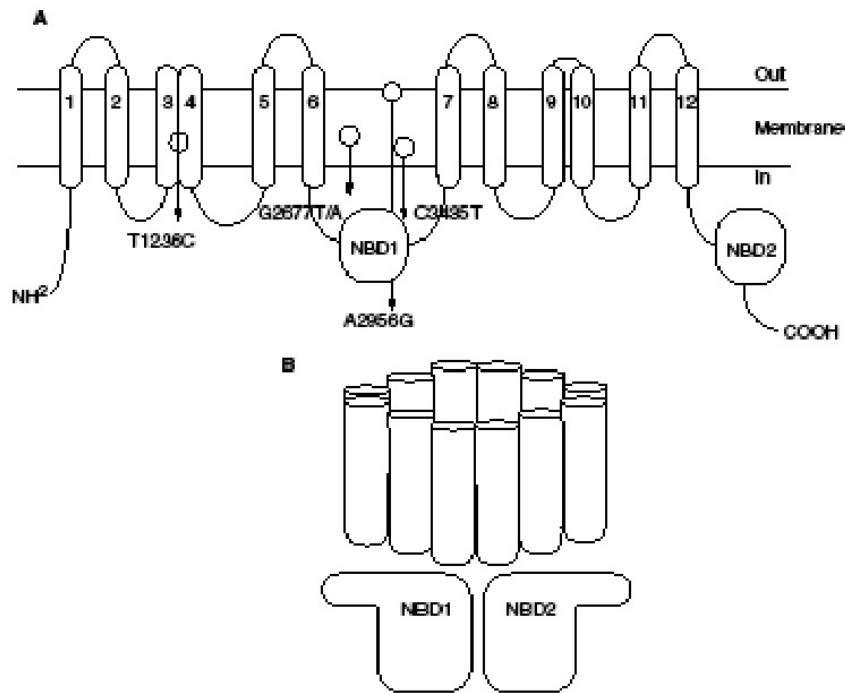


Figura 3. Estructura de la P-gp con indicación de algunos polimorfismos que la afectan (A). Estructura de la P-gp sin desplegar (B) (Hodges et al., 2011).

P-gp es expresada en una gran variedad de tejidos con función excretora como por ejemplo el intestino grueso y delgado, la glándula suprarrenal, el hígado y riñón, la placenta y los capilares de las células endoteliales de testículos y cerebro (Leschziner et al., 2007). La glicoproteína P intestinal está localizada en la membrana apical de los enterocitos actuando como una bomba que trae de vuelta a los xenobióticos al interior de la luz intestinal, de esta forma se limita la absorción de los sustratos de la glicoproteína P administrados por vía oral tales como ciclosporinas, inhibidores de la proteasa del VIH, talinolol y digoxina (Drescher et al., 2002). Podemos intuir que la P-gp puede condicionar la biodisponibilidad de fármacos, independientemente de la naturaleza química de los mismos.

La proteína reconoce y expulsa multitud de compuestos que pueden actuar como sustratos, inhibidores, inductores o represores de la actividad (Figura 4). La modulación de la expresión del gen ABCB1 y/o la actividad de la P-gp por varios mecanismos consecuentemente influye en la disposición de los fármacos en el organismo (Hodges et al., 2011).

P-gp substrates

Actinomycin D, Aldosterone, ALLM peptide, ALLN peptide, Amitriptyline, Amprenavir, Atorvastatin, β -amyloid, Bromperidol, Calcein acetoxymethylester, Carbamazepine, Celiprolol, Chlorpromazine, Clopidogrel, Cimetidine, Citalopram, Colchicine, Corticosterone, Cortisol, Cyclosporine A, Daunorubicin, Dexamethasone, Digoxin, Diltiazem, Docetaxel, Domperidon, Doxycycline, Doxorubicin, Erythromycin, Etoposide, Fexofenadine, Grapefruit juice, Gramacidin D, Gramacidin S, Imatinib, Indinavir, Irinotecan, Itraconazole, Ivermectin, Ketoconazole, Lamotrigine, Lansoprazole, Levetiracetam, Levofloxacin, Loperamide, Losartan, Lovastatin, Melphalan, Methylprednisolone, Mevinolin, Mitomycin C, Mitoxantrone, Morphine, Nelfinavir, Omeprazole, Ondansetron, Paclitaxel, Pantoprazole, Pentazocine, Phenobarbital, Phenothiazine, Phenytoin, Propranolol, Quinidine, Ranitidine, Rifampicin, Ritonavir, Saquinavir, short chain lipids, Simvastatin, Sirolimus, Sparfloxacin, Tacrolimus, Talinolol, ^{99m}Tc -MIBI, Teniposide, Terfenadine, Tetracycline, Topotecan, Valspodar, Vecuronium, Verapamil, Vinblastine,

P-gp inhibitors

Amiodarone, Amitriptyline, Astemizole, Atorvastatin, Bepridil, Biricodar, Bromocriptine, Carotenoids, Carvedilol, Chlorpromazine, Clarithromycin, Cobalamin, Cortisol, Cremophor EL, Curcumin, Cyclosporine A, Desipramine, Dietary antioxidants, Diltiazem, Dipyridamole, Disulfiram, Elacridar, Erlotinib, Erythromycin, Felodipine, Fluoxetine, Flupenthixol, Fluphenazine, Gefitinib, Haloperidol, Indinavir, Itraconazole, Ketoconazole, Laniquidar, Lansoprazole, Leupeptin, Lonafarnib, Maprotiline, Mefloquine, Midazolam, Mifepristone, Natural diterpenes, Natural triterpenes, Nelfinavir, Nicardipine, Nitrendipine, ONT-093, Omeprazole, Pantoprazole, Paroxetine, Pentazocine, Progesterone, Propafenone, Quinidine, Quinine, Reserpine, Ritonavir, Saquinavir, Sertraline, Simvastatin, Sirolimus, Spironolactone, Tacrolimus, Tamoxifen, Tariquidar, Terfenadine, Tetrabenzine, Tocopherol, Valinomycin, Valspodar, Vanadate, Verapamil, Vinblastine, XR9051, Zosuquidar

P-gp inducers/stimulators

Amiodarone, Amprenavir, Bromocriptine, Chlorambucil, Cisplatin, Clotrimazole, Colchicine, Cyclosporine A, Daunorubicin, Dexamethasone, Diltiazem, Doxorubicin, Efavirenz, Erythromycin, Etoposide, FCME peptide, Flurouracil, GGCME peptide, Hydroxyurea, Insulin, Indinavir, Methotrexate, Midazolam, Mitoxantrone, Morphine, Nelfinavir, Nicardipine, Nifedipine, Phenytoin, Phenothiazine, Prenylcysteines, Probenecid, Reserpine, Retinoid acid, Rifampicin, Ritonavir, Saquinavir, St John's wort, Tacrolimus, Tamoxifen, Verapamil, Vinblastine, Vincristine, Yohimbine

Figura 4. Substratos, Inhibidores e inductores/estimulantes de la P-gp (Hodges et al., 2011).

ABC1 (P-gp) fue el primer transportador humano clonado y caracterizado por su capacidad para conferir un fenotipo MDR (multidrug resistance) a las células cancerosas (Dey, 2006).

La glicoproteína-P, (Pgp o ABC1) es un ejemplo de transportador ABC encargado de extraer fármacos antitumorales de las células cancerosas, al facilitar su expulsión y reducir su concentración intracelular, disminuye su eficacia, las hace multirresistentes de

forma simultánea a varios fármacos antineoplásicos tales como daunorrubicina, vimblastina, colchicina.

Tras este descubrimiento, aumentó el interés por esta familia de proteínas en el campo de la farmacología.

Por lo tanto, se suma un nuevo término para referirnos a la glicoproteína P, MDR o multidrug resistance. Al no ser la única proteína de la familia multirresistente a xenobióticos, se la reconoce como MDR1.

Diferencias en alelos individuales de la secuencia del gen MDR1 pueden asociarse a diferentes niveles de expresión. La actividad de MDR1 puede verse alterada cuando la secuencia de aminoácidos de la P-gp cambia debido a los polimorfismos a los que están sujetos. El cambio de aminoácidos puede alterar la especificidad de los sustratos de la P-gp, el potencial de eflujo y la inhibición o inducción de la P-gp.

Se han identificado más de 50 polimorfismos SNPs (single nucleotide polymorphisms) para MDR1 (Göktaş et al., 2016). Destacan 3 de ellos: C3435T, G2677T/A y C1236T.

C3435T y C1236T constituyen una mutación silente (Göktaş et al., 2016), está afectada la expresión del gen, y concretamente los niveles de P-gp en el duodeno (Arribas, 2010). C3435T afecta al exón 26 sustituyendo C por T, C1236T sustituye C por T en el exón 1211. G2677T/A está localizado en el exón 21 y resulta de la sustitución de G por T/A. Todos ellos poseen efectos clínicos significantes (Göktaş et al., 2016), algunos expuestos a continuación.

Helicobacter pylori es una bacteria clasificada como carcinógeno de clase 1. Para erradicarla, existe una triple terapia que utiliza dos antibióticos y un inhibidor de la bomba de protones (IBP) pero se ha visto que solo funciona en el 80-90% de los pacientes. Además de la posible resistencia a antibióticos como fracaso de la terapia, existe otro motivo por el que podría no ser efectiva y es que los IBP son sustratos de la P-gp. Un estudio llevado a cabo por Li et al. (2017) demostró que los homocigotos que presentaban el genotipo TT del polimorfismo C3435T de MDR1 disminuían la

erradicación de *H. pylori* en la población asiática y también asoció un menor grado de curación en pacientes que tomaban lansoprazol y omeprazol (IBPs), frente a esomeprazol y pantoprazol, por ser estos últimos IBPs de última generación, estructuralmente diferentes y menos afectados por el polimorfismo (Li et al., 2017). El mecanismo de resistencia, causante del fracaso terapéutico, consiste en que el genotipo TT del polimorfismo C3435T, frente a los que presentan el genotipo CC o CT, provoca una sobreexpresión de la Glicoproteína P. Como sabemos que su función consiste en extraer fármacos de las células, el exceso de proteína conducirá a una mayor salida del fármaco, disminuyendo su acción terapéutica y aumentando la concentración plasmática tras la administración oral.

La digoxina también serviría como ejemplo para explicar la influencia del genotipo MDR1 3435 TT. Esta disminuye la expresión de la P-gp en el duodeno, lo que significa que cuando se administra vía oral, las personas con el genotipo 3435TT verán aumentada su biodisponibilidad. Esto significaría que, para la misma dosis de digoxina, los portadores TT tenga una concentración plasmática un 38% más alta que los portadores CC. Si además tenemos en cuenta que la digoxina se secreta en el túbulo proximal renal, y para este proceso también interviene la digoxina, los individuos con el genotipo TT verán reducida su eliminación, lo que puede ponerles en riesgo de presentar posibles efectos adversos a la digoxina, ya que por una parte se aumenta su biodisponibilidad a la vez que su eliminación se ve reducida (Arribas, 2010).

El polimorfismo C3435T también se ha estudiado con respecto a los fármacos anti-VIH. Estos fármacos actúan inhibiendo las proteasas del VIH y son transportados por la P-gp por lo que su absorción intestinal y penetración en el SNC depende de ella. Se ha visto niveles reducidos de ARN mensajero de MDR1 y de la expresión de la proteína P-gp en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con VIH que presentan el genotipo TT en comparación con el genotipo CT y CC. Además, los pacientes con el genotipo TT tienen mayores recuentos de células CD4 después de iniciar el tratamiento antirretroviral en comparación con los grupos de genotipo CT y CC.

Numerosas investigaciones se han centrado en intentar establecer una relación entre los genotipos de los pacientes depresivos con respecto a estos tres polimorfismos

del gen ABCB1 y la respuesta al tratamiento antidepresivo con ISRS (Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina).

En un estudio realizado con 68 japoneses depresivos que fueron tratados con el ISRS paroxetina, se observó una asociación significativa del SNP en posición G2677T/A con la respuesta al tratamiento de paroxetina entre los pacientes. Los genotipos TT, TA y AA presentaban una mejor respuesta que los genotipos GG, GT y GA. Asimismo, en este estudio se consideró que estos tres SNPs (C3435T, G2677T/A y C1236T) estaban ligados, constituyendo un haplotipo. Un haplotipo es un conjunto de variantes alélicas que se heredan juntas en la misma cromátida y no tienden a segregarse de forma independiente en cada generación (Hodges et al., 2011). Así, el haplotipo compuesto por las variantes alélicas 3435C-2677G-1236T dentro del gen ABCB1, se asoció con una sintomatología depresiva más severa 6 semanas después del tratamiento, es decir con una respuesta pobre a los antidepresivos. La hipótesis postulada en este estudio es que estas variantes alélicas darían lugar a una mayor expresión de la P-gp o a una forma de la proteína más activa. De manera que, los pacientes con este haplotipo presentarían una activación mayor de la P-gp en respuesta al tratamiento con paroxetina, lo que resultaría en un nivel más bajo de paroxetina en el cerebro y, por tanto, resistencia al tratamiento (Kato et al., 2008).

BCRP (Proteína de Resistencia al Cáncer de Pulmón)

La proteína de Resistencia al Cáncer de Pulmón (Figura 5) es codificada por el gen ABCG2, clonado por primera vez desde la línea celular MCF-7. La sobreexpresión de la proteína en células tumorales confiere resistencia a gran variedad de agentes anticancerosos como el topotecán o el metotrexato como veremos más adelante (Sarkadi et al., 2004).

ABCG2 es una proteína ABC de tipo “half transporter” que forma un homodímero funcional constituido por un dominio transmembrana formado por 6 α -hélices, un nucleótido intracelular N-terminal que contiene el dominio NBD y una porción intracelular C-terminal (Cleophas et al., 2017).

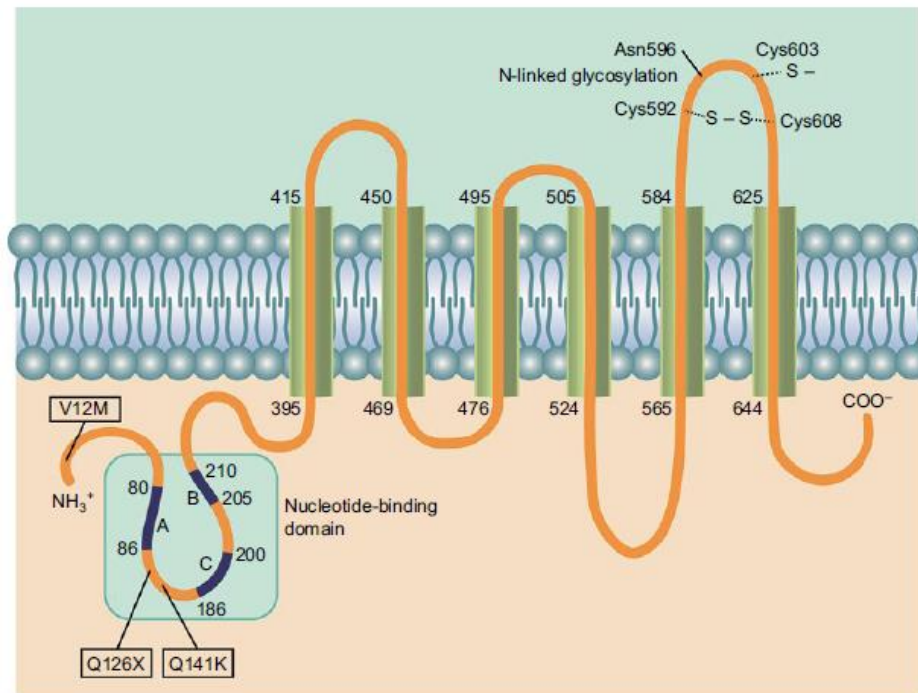


Figura 5. Estructura de la BCRP en la que se indican la zona a la que afectan algunos polimorfismos (Cleophas et al., 2017).

La proteína de resistencia al cáncer de pulmón normalmente es expresada en una gran variedad de tejidos como la placenta, el intestino, el hígado, los riñones, glándulas mamarias, ovario, testículos, etc. Se ha visto que la expresión de esta proteína en múltiples tipos de células tumorales podría estar asociada con una pobre respuesta a quimioterapéuticos, por lo tanto, es responsable, en parte, de la resistencia a este tipo de fármacos al expulsarlos de la célula (Sugimoto et al., 2005).

La serina/treonina proteína quinasa, encargada de fosforilar los grupos hidroxilos de la Ser y Thr, se encuentra sobreexpresada en algunas líneas celulares cancerígenas resistentes a quimioterapéuticos, por ejemplo, en células MCF-7 en carcinoma de pulmón o en HNSCC (Head y Neck Squamous Cell Carcinoma) (Chu et al., 2008). En los últimos años, los inhibidores de la tirosín-quinasa se han posicionado como tratamientos de primera línea frente a diversos tipos de cáncer debido a que suprimen los mecanismos de proliferación en células cancerosas. Encontramos como ejemplo al imatinib, que además de actuar como inhibidor de quinasas, es sustrato y modulador de la proteína BCRP (Caetano-Pinto et al., 2017). La inhibición de quinasas con imatinib además, disminuye la función de la proteína BCRP, por lo que los fármacos son

expulsados de la célula en menor proporción, como en el caso del quimioterapéutico doxorrubicina, sustrato de la proteína BCRP, que, usado en monoterapia, es expulsado de las células tumorales sin ejercer efecto, sin embargo, al usarse en combinación con imatinib, mejora la respuesta (Chu et al., 2008).

Hasta la fecha, más de 80 SNPs han sido caracterizados en la región codificante de BCRP. Los dos más abundantes son Q141K y V12M (Figura 6), que aparecen con una frecuencia del 12% y el 16% respectivamente en la población global (Caetano-Pinto et al., 2017).

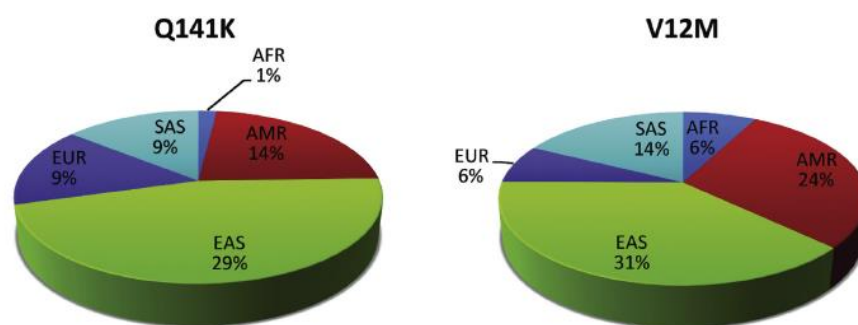


Figura 6. Gráficas circulares sobre el % de afección de los polimorfismos Q141K y V12M en EUR: European, SAS: South Asian, AFR: African, AMR: Ad Mixed American, EAS: East Asian (Caetano-Pinto et al., 2017).

El polimorfismo en el gen que codifica la proteína BCRP en el alelo G34A se sitúa en el exón 2 afectando a la región N-terminal intracelular de la proteína, como puede verse en la Figura 5. En el caso del gen natural, el aminoácido N-terminal es Val mientras que, en el afectado por el polimorfismo es Met. Por eso a este polimorfismo se le conoce como V12M. En ambos casos las cadenas laterales serían hidrofóbicas no cargadas.

El polimorfismo fue encontrado en todos los grupos étnicos testados con una gran diferencia en la frecuencia de expresión (Ishikawa et al., 2005). Este cambio de aminoácido provoca la deslocalización del transportador en la membrana plasmática apical, así como una habilidad para transportar fármacos reducida (Zhou et al., 2014).

El polimorfismo Q141K afecta al alelo C421A y fue localizado en el exón 5 y conduce a la sustitución de Gln, con carga negativa por Lys, cargado positivamente. Este polimorfismo afecta al dominio de unión al ATP como puede verse en la Figura 5. La

variante Q141K también fue detectada en todos los grupos poblacionales probados. Las poblaciones japonesas y chinas con altas frecuencias alélicas (Ishikawa et al., 2005).

El cambio de Gln por Lys se ha asociado con niveles de expresión menores de la proteína transportadora además se ha visto que *in vitro* posee una sensibilidad alterada frente a antitumorales como la mitoxantrona y el topotecán en comparación con el genotipo silvestre (Kim et al., 2007).

Existe una relación entre la enfermedad de la gota y la variante Q141K. Esta enfermedad se caracteriza por niveles de urato elevados en plasma que conduce a la formación de cristales que se acumulan en las articulaciones. En individuos sanos, el urato es eliminado por los riñones. En este proceso de eliminación está implicada la proteína BCRP. La variante Q141K, al estar asociada a un menor nivel de proteína transportadora, contribuye al incremento de los niveles plasmáticos de urato con estados de hiperuricemia e inicio de la gota (Ichida et al., 2012).

El genotipo Q141K también está asociado a alterar la función de la proteína BCRP en términos farmacocinéticos. Por ejemplo, los niveles plasmáticos de sunitinib, un inhibidor de proteínas quinasas, se mostraron elevados en las células renales de pacientes con carcinoma con genotipos homo- y heterocigotos en comparación con el tipo silvestre de la proteína (Miura et al., 2014). Por otro lado, en pacientes heterocigotos con la variación Q141K se vieron niveles plasmáticos elevados de diflomotecán, un inhibidor de la topoisomerasa I (Sparreboom et al., 2004). Esto ocurre con numerosos fármacos antineoplásicos, los resultados de niveles elevados del fármaco en plasma aumentan los riesgos de toxicidad en órganos incluyendo a los riñones.

Puesto que la proteína BCRP puede desempeñar papeles cruciales en la absorción y excreción de fármacos anticancerosos, como los inhibidores de la ADN topoisomerasa I, habría que considerar los SNP que la afectan durante el desarrollo clínico de nuevos agentes anticancerosos.

MRP1 (Proteína 1 asociada a la resistencia a múltiples drogas)

La proteína 1 asociada a la resistencia a múltiples drogas (MRP1) es codificada por el

gen ABCC1, formado por 31 exones y localizado en el cromosoma 16p13.1. Este gen fue descubierto a causa de la resistencia a múltiples fármacos en células tumorales. MRP1 también está implicada en la eficacia y toxicidad de fármacos como antibióticos, opioides, agentes antivirales... (Cole, 2014).

Los 1531 aminoácidos que componen la proteína MRP1 forman una estructura atípica a la del resto de transportadores ABC. La estructura está formada por los siguientes dominios (Figura 7):

- 2 dominios de unión a nucleótidos (NBDs) responsables de la unión e hidrólisis de ATP que aportan la energía para el transporte de sustratos. Ambos contienen los motivos Walker A y Walker B y el motivo ABC o motivo C altamente conservado formado por 13 aminoácidos entre el motivo Walker A y Walker B. Estos dos dominios forman un dímero en forma de “sándwich”. A diferencia de la mayoría de las proteínas ABC, NBD1 posee mayor afinidad por el ATP, pero una menor actividad hidrolítica que NBD2, a pesar de esta diferencia, ambas cooperan juntas.
- 17 dominios transmembrana (TM) distribuidos en 3 dominios de membrana (MSDs):
 - MSD0: contiene los dominios transmembrana del 1 al 5
 - MSD1: contiene los dominios transmembrana del 6 al 11
 - MSD2: contiene los dominios transmembrana del 12 al 17

La función del NH₂-terminal en MSD0 es incierta y podría depender del tipo celular en el que es expresada la proteína (Cole, 2014) (Yin et al., 2011).

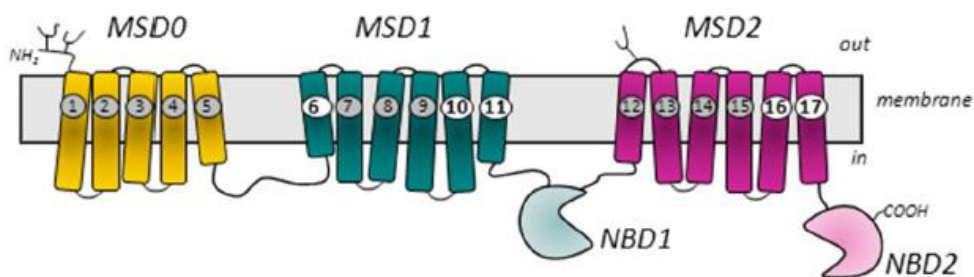


Figura 7. Estructura detallada de los dominios presentes en MRP1 (Cole, 2014).

Un gran número de agentes anticancerosos y sustancias endógenas son sustratos de esta proteína como por ejemplo antraciclinas, etopósido, metotrexato, vinblastina,

vincristina, conjugados del glutathione... (Yin et al., 2011). Además de contribuir a fenómenos de resistencia a múltiples fármacos, se ha detectado la presencia de la proteína en una gran variedad de órganos y tejidos como las células del endotelio vascular, el hígado, los pulmones y el bazo (Schumacher y Benndorf, 2017).

El desarrollo de la resistencia a múltiples fármacos (MDR) sigue siendo una de las principales causas de fracaso en tratamientos para el Neuroblastoma, uno de los tumores sólidos extracraneales más comunes en niños. Hasta la fecha se han detectado diversos polimorfismos SNPs que afectan a la MDR1, uno de ellos corresponde al “non-synonymous polymorphisms” (cambio en la secuencia de aminoácidos que genera una proteína mutada) en el alelo G2012T cuya variante T (Gly por Val) ha mostrado estar asociada a diferencias en la codificación de MRP1, en particular, a una disminución de la estabilidad del ARNm del gen ABCC1, mejorando los resultados clínicos en pacientes infantiles con neuroblastoma. Estos hallazgos reforzaron el vínculo entre los niveles de ABCC1 y los resultados clínicos en esta enfermedad (Pajic et al., 2011).

Se encontró que otro polimorfismo de tipo “non-synonymous” localizado en el exón 28, A4009G, se correlaciona con la eficacia terapéutica del metotrexato en un estudio realizado por Warren et al. (2008) a 374 pacientes con psoriasis en placa crónica que recibieron metotrexato en monoterapia. Se vio que el polimorfismo A4009G en heterocigotos se expresaba en mayor proporción en pacientes que respondían al tratamiento frente a los que no, lo que sugiere que el polimorfismo A4009G puede aumentar las respuestas de metotrexato. El exón 28, se sitúa dentro de una región codificante del gen (Choudhuri y Klaassen, 2006) y desempeña un papel en la producción de uno de los dos NBD, permitiendo de este modo una hidrólisis eficiente de ATP (Hyde et al., 1990). Dado que este polimorfismo provoca un cambio de aminoácido, Al → Thr, es biológicamente plausible que tenga un efecto significativo sobre la función de la proteína por interferencia con la unión al ATP. Se postuló que tal SNP, está relacionado con la disminución de la actividad de esta bomba de eflujo dependiente de ATP, dando lugar a la retención intracelular de metotrexato. Este proceso es citotóxico y, si involucra células T, mejoraría la eficacia (Warren et al., 2008).

A pesar de los estudios publicados, hasta el momento, no hay suficiente

información sobre la importancia de los SNPs ABCC1 en la fisiología *in vivo* y el fenotipo clínico de resistencia a los fármacos que podrían utilizarse para aplicaciones clínicas como personalización del tratamiento y minimización de la toxicidad.

Existen cuantiosas oportunidades para mejorar la comprensión de ABCC1 en la resistencia a los medicamentos. Antes de aplicar los conocimientos sobre ABCC1 en clínica, deben llenarse algunos vacíos (Kunická y Souček, 2014).

4.3. SUPERFAMILIA SLC

La superfamilia de transportadores de solutos (SLC) constituye la segunda familia más numerosa de proteínas de membrana en el genoma humano (Rives et al., 2017). Está formada por 395 genes agrupados en 55 familias (Figura 9). Los genes se denominan utilizando el símbolo de raíz SLC, seguido de un número que corresponde a la familia, una letra que define la subfamilia y un número que designa el gen transportador individual.

Estos transportadores regulan la entrada y/o eflujo a través de las membranas celulares de una gran variedad de moléculas esenciales, como azúcares, amino ácidos, iones inorgánicos, neurotransmisores, hormonas, vitaminas y fármacos (Rives et al., 2017).

Esta superfamilia se clasifica dentro del grupo de los transportadores activos secundarios o también conocido como transporte pasivo. Esto significa que acoplan el transporte de un ión a favor de gradiente electroquímico con el movimiento de otra u otras sustancias que van en contra de su propio gradiente (Flórez, 2014).

Dentro de los transportadores activos secundarios podemos encontrar dos tipos de transporte: aquel en el que ambas sustancias van en la misma dirección, denominado cotrasporte y antitrasporte en caso de que cada sustancia lleve un sentido diferente (Flórez, 2014).

Los transportadores activos primarios son los responsables de generar un gradiente electroquímico, transportando sus sustratos a favor de gradiente y favoreciendo a su vez el mecanismo de los transportadores activos secundarios. Como

en el caso de la superfamilia ABC, crean un gradiente de concentración a través de la membrana, para ello emplean diversos mecanismos de acoplamiento de energía, como por ejemplo la hidrólisis de ATP. Las bombas de iones también son responsables de generar gradiente electroquímico mediante la hidrólisis de ATP activando el flujo de Na^+ , K^+ , Ca^+ y Cu^{2+} fuera de las células o dentro de orgánulos (Figura 7) (Hediger et al., 2013).

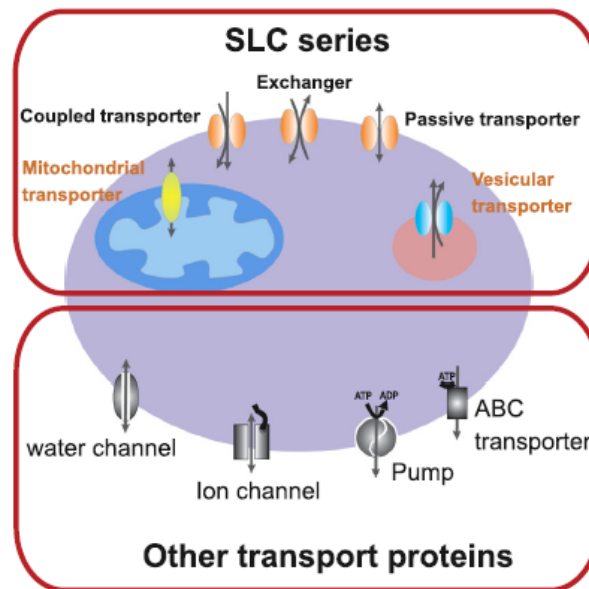


Figura 8. Dibujo de una célula con transportadores SLC y otro tipo de proteínas transportadoras (Hediger et al., 2013).

La importancia de los transportadores SLC en la enfermedad se ilustra por datos genéticos humanos que sugieren que > 50% de los miembros de la familia SLC se asocian con una enfermedad humana (Rives et al., 2017). Por ejemplo, el gen SLC6A4 ha sido ampliamente estudiado en relación con la depresión y con la respuesta al tratamiento farmacológico con antidepresivos.

Este grupo de transportadores también se encuentra afectado por variaciones genéticas que condicionan los efectos del fármaco, provocando en los pacientes una falta de efectividad, así como toxicidad por sobreexposición, tal y como hemos venido hablando hasta ahora.

The HGNC Solute Carrier Family Series	Total 2004	Total
SLC1: The high affinity glutamate and neutral amino acid transporter family	7	7
SLC2: The facilitative GLUT transporter family	14	14
SLC3: The heavy subunits of the heteromeric amino acid transporters	2	2
SLC4: The bicarbonate transporter family	10	10
SLC5: The sodium glucose cotransporter family	8	12
SLC6: The sodium- and chloride-dependent neurotransmitter transporter family	16	21
SLC7: The cationic amino acid transporter/glycoprotein-associated amino-acid transporter family	14	14
SLC8: The Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger family	3	3
SLC9: The Na ⁺ /H ⁺ exchanger family	8	13
SLC10: The sodium bile salt cotransport family	6	7
SLC11: The proton coupled metal ion transporter family	2	2
SLC12: The electroneutral cation-Cl cotransporter family	9	9
SLC13: The human Na ⁺ -sulfate/carboxylate cotransporter family	5	5
SLC14: The urea transporter family	2	2
SLC15: The proton oligopeptide cotransporter family	4	5
SLC16: The monocarboxylate transporter family	14	14
SLC17: The vesicular glutamate transporter family	8	9
SLC18: The vesicular amine transporter family	3	4
SLC19: The folate/thiamine transporter family	3	3
SLC20: The type III Na ⁺ -phosphate cotransporter family	2	2
SLC21/SLCO: The organic anion transporting family	11	12
SLC22: The organic cation/anion/zwitterion transporter family	18	23
SLC23: The Na ⁺ -dependent ascorbic acid transporter family	4	4
SLC24: The Na ⁺ /(Ca ²⁺ -K ⁺) exchanger family	5	6
SLC25: The mitochondrial carrier family	27	53
SLC26: The multifunctional anion exchanger family	10	11
SLC27: The fatty acid transport protein family	6	6
SLC28: The Na ⁺ -coupled nucleoside transport family	3	3
SLC29: The facilitative nucleoside transporter family	4	4
SLC30: The zinc efflux family	9	10
SLC31: The copper transporter family	2	2
SLC32: The vesicular inhibitory amino acid transporter family	1	1
SLC33: The Acetyl-CoA transporter family	1	1
SLC34: The type II Na ⁺ -phosphate cotransporter family	3	3
SLC35: The nucleoside-sugar transporter family	17	30
SLC36: The proton-coupled amino acid transporter family	4	4
SLC37: The sugar-phosphate/phosphate exchanger family	4	4
SLC38: The System A & N, sodium-coupled neutral amino acid transporter family	6	11
SLC39: The metal ion transporter family	14	14
SLC40: The basolateral iron transporter family	1	1
SLC41: The MgtE-like magnesium transporter family	3	3
SLC42: The Rh ammonium transporter family (pending)	3	3
SLC43: Na ⁺ -independent, system-L like amino acid transporter family	2	3
SLC44: Choline-like transporter family		5
SLC45: Putative sugar transporter family		4
SLC46: Folate transporter family		3
SLC47: Multidrug and Toxin Extrusion (MATE) family		2
SLC48: Heme transporter family		1
SLC49: FLVCR-related transporter family		4
SLC50: Sugar efflux transporters		1
SLC51: Transporters of steroid-derived molecules		2
SLC52: Riboflavin transporter family		3
Total	298	395

Figura 9. Lista de transportadores SLC. A la derecha, el número total de miembros de cada familia (Hediger et al., 2013).

4.3.1. POLIMORFISMOS EN LOS TRANSPORTADORES

SLC22A1

La familia SLC22 contiene 13 proteínas funcionalmente caracterizadas y situadas en la membrana plasmática. Cada una posee 12 dominios transmembrana α -helicoidales. La familia está compuesta por transportadores de cationes orgánicos (OCTs), transportadores orgánicos de zwitterión/cationes (OCTN) y transportadores de

aniones orgánicos (OATs) (Koepsell 2013).

Adentrándonos en los transportadores de cationes orgánicos (OCT), que actúan mediante difusión facilitada, encontramos a la proteína OCT1, encargada de mediar el paso de diversos iones desde la sangre a las células epiteliales. Es codificada por el gen SLC22A1, localizado en una porción del cromosoma 6 y contiene 7 exones y 6 exones. En cuanto a la proteína, contiene 12 dominios transmembrana tipo α -hélices y un largo bucle hidrofílico entre los dominios transmembrana 1 y 2 (Goswami S et al., 2014).

El papel de los polimorfismos SLC22A1 en la farmacología clínica de la metformina ha sido ampliamente estudiado. Existen cuatro variantes “non-synonymous” de particular importancia: Arg61Cys (rs12208357), Gly401Ser (rs34130495), Met420del (rs72552763) que consiste en la delección de 3 pares de bases (ATG) en el codón 420 y Gly465Arg rs34059508. Varios estudios llevados a cabo en voluntarios sanos mostraron que los cuatro polimorfismos se encuentran relacionados con la reducción de la captación de metformina (Goswami S et al., 2014). OCT1 además de expresarse en la membrana basolateral de los enterocitos, también lo hace en la de los hepatocitos, mediando el transporte de la metformina dentro de estas células. La entrada de la metformina al hepatocito por esta vía es fundamental para disminuir los niveles de glucosa (Shu et al., 2007). Cuando la metformina entra en la célula activa a AMPK, una proteína quinasa que suprime la estimulación del glucagón, productor de glucosa y aumenta a su vez la captación de glucosa en el músculo y las células hepáticas. Se ha visto que esta activación mejora en líneas celulares que poseen actividad OCT, mejorando la respuesta a la metformina. Sin embargo, los individuos afectados por estos polimorfismos, mostraron una mayor área bajo la curva (AUC) de metformina en plasma, mayor concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y un volumen de distribución menor (Tood y Florez, 2014).

SLCO1B1

El gen SLCO1B1, codifica la proteína transportadora OATP1B1, polipéptido transportador de aniones orgánicos. Es expresado exclusivamente en la membrana basolateral de los hepatocitos mediando la captación hepática y el aclaramiento de sus sustratos (Nozawa et al., 2005).

De todas las variaciones presentes en el gen SLCO1B1, dos SNPs son conocidos por alterar al transportador: 388A>G y 521T>C (Chen, 2016).

El polimorfismo 521T>C ha mostrado una menor expresión en la membrana del transportador conduciendo a la reducción del transporte de estrona-3-sulfato, estradiol-17β-D-glucurónido y rifampicina (Tirona et al., 2001). Este polimorfismo también se asocia con una reducción de la actividad de OATP1B1, incrementando en la sangre la concentración de simvastatina y consecuentemente, incrementando la toxicidad y reduciendo su eficacia (Ma y Lu, 2011). La exposición a estatinas aumenta el riesgo a sufrir mialgia y rabdomiolisis (Vandell et al., 2016).

SLC6A15

El genoma humano codifica 20 miembros de la familia de genes SLC6 (Sucic et al., 2017). Esta familia opera mediante cotransporte activo secundario (Bala et al., 2013) como transportador dependiente de NaCl. Aprovechan el gradiente electroquímico del Na⁺ para impulsar el transporte hacia dentro del sustrato (Sucic et al., 2017).

Esta familia transporta serotonina, dopamina, GABA, taurina, aminoácidos y está asociada con un gran número de enfermedades y desórdenes, convirtiéndola en una diana terapéutica. Además, muchos miembros de esta familia se ven involucrados en la acción de drogas de abuso como la cocaína, las anfetaminas, el éxtasis (Bala et al., 2013).

Los transportadores SLC6 también pueden operar como intercambiadores de sustrato, que es la base para el transporte inverso inducido por anfetamina de dopamina, noradrenalina y serotonina; esto explica las acciones psicoestimulantes de las anfetaminas (Suci et al., 2017).

El gen SLC6A15 codifica una proteína transportadora de aminoácidos neutros específicos para neuronas. Este gen se asocia con la vulnerabilidad al estrés y la depresión. El polimorfismo (SNP) en una región reguladora de SLC6A15, rs1545843, se relacionó significativamente con una mayor incidencia de depresión. Además, los portadores del alelo de riesgo para este SNP han reducido el volumen del hipocampo y los niveles de glutamato (Kohli et al., 2012).

4.4. PERSPECTIVAS DE FUTURO

La variabilidad interindividual presente en la expresión y función de transportadores SLC y ABC contribuyen a las diferencias en la eficacia de los tratamientos, así como en la aparición de reacciones adversas medicamentosas (RAM). En consecuencia, nace el concepto de medicina personalizada, que se apoya de biomarcadores que permiten decidir sobre la actuación terapéutica, predecir la respuesta a un fármaco e individualizar el tratamiento.

Un ejemplo lo encontramos en los test genéticos, chips de ADN compuestos por una matriz que contiene miles de sondas de oligonucleótidos sintéticas. Tienen la ventaja de que, de forma rápida y poco laboriosa, a partir de una muestra de ADN del paciente, detectan las variantes alélicas que porta el individuo. De manera que, la información extraída de estos test permite a los médicos seleccionar el fármaco más eficaz y ajustar la dosis más adecuada para cada paciente (Miller y O'Callaghan, 2013).

Otra herramienta prometedora, y que se está perfeccionando, son los biochips electrónicos. Estos chips se implantarían en el cuerpo del paciente y serían capaces de monitorizar en tiempo real la acción de enzimas como oxidasas y deshidrogenasas, que tienen gran implicación en el metabolismo de fármacos (Carrara, 2010).

La caracterización de los transportadores de fármacos para comprender los factores que contribuyen a la variabilidad interindividual de la expresión/función específica del transportador es esencial, ya que, en particular, un transportador dañado o con su función reducida en combinación con varios fármacos o con enfermedades concomitantes es probable que afecten de manera crítica al tratamiento y deben ser considerados en la clínica para maximizar los beneficios del tratamiento farmacológico y minimizar las RAM.

Un aspecto muy importante para avanzar en la eficacia de los tratamientos farmacológicos es crear bases de datos genéticas orientadas a ayudar a los médicos en la elección de los tratamientos. En Estados Unidos hay un ejemplo muy interesante de este aspecto. El senado de EE.UU propuso la creación de una base de datos colaborativa orientada al desarrollo de un sistema de prescripción genómico. Este proyecto, llamado

Genomic Prescribing Sistem o GPS, se está desarrollando en la Universidad de Chicago, y permitiría a los médicos introducir los datos genéticos del paciente en el sistema (previamente debe haber sido secuenciado su genoma), donde serán cruzados con datos sobre los posibles fármacos a utilizar para el tratamiento concreto. El sistema devolverá el tratamiento farmacológico más adecuado (Ratain, 2007).

El principal objetivo para el futuro que permita seguir avanzando hacia una medicina más personalizada, es diseñar nuevos modelos para integrar estos factores, y encontrar buenas correlaciones entre la genética y la eficacia farmacológica (Piquette-Miller y Grant., 2007).

6. CONCLUSIONES

1. La respuesta farmacológica experimentada por un paciente es de carácter poligénico y el factor genético influye en un alto porcentaje.
2. La farmacogenética debe integrarse junto al resto de conocimientos y técnicas farmacéuticas para ayudar a conocer y utilizar mejor los medicamentos.
3. Identificar los polimorfismos genéticos que afectan a proteínas transportadoras resulta fundamental para:
 - Predecir la respuesta a un fármaco
 - Minimizar los efectos adversos
 - Elegir el tratamiento más adecuado para cada paciente
 - Asegurar el éxito terapéutico
4. Los polimorfismos en ocasiones aumentan las probabilidades de efectos adversos de los fármacos, que incluso pueden llegar a ser mortales y en otras, mejora la respuesta al tratamiento respecto a los fenotipos normales.
5. Además de los polimorfismos en proteínas transportadoras, sería necesario conocer el perfil farmacocinético completo del individuo para evitar el fracaso terapéutico causado por este factor.
6. Adaptar el tratamiento a cada paciente no solo aseguraría el éxito terapéutico si no que reduciría considerablemente los gastos del tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*. 1956; 1126(124):484-485.
2. Arribas IA. Discurso leído en el acto de su recepción académica. Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. Academia de farmacia "Reino de Aragón": Cometa, S.A.; 2010.
3. Bala PA, Foster J, Carvelli L, Henry LK. SLC6 Transporters: Structure, Function, Regulation, Disease Association and Therapeutics. *Mol Asp. Med*. 2013;34(2-3):197-219.
4. Bodor M, Kelly EJ, Ho RJ. Characterization of the human MDR1 gene. *AAPS J*. 2005;7(1):1-5.
5. Caetano-Pinto P, Jansen J, Assaraf YG, Masereeuw R. The importance of breast cancer resistance protein to the kidneys excretory function and chemotherapeutic resistance. *Drug Resist. Updat.*; 2017;30:15-27.
6. Carrara S. Nano-bio-technology and sensing chips: New systems for detection in personalized therapies and cell biology. *Sensors (Basel)*. 2010;10(1): 526-543.
7. Chen S, Sutiman N, Zhenxian C, Yu Y, Lam S, Khor CC et al. Pharmacogenetics of irinotecan, doxorubicin and docetaxel transporters in Asian and Caucasian cancer patients: a comparative review. *Drug Metab. Rev*. 2016; 48 (4): 502-540.
8. Choudhuri S, Klaassen CD. Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *Int J Toxicol*. 2006;25(1):231–259.
9. Chu TS, Chen JS, López JP, Pardo FS, Aguilera H, Ongkeko WM et al. Imatinib-mediated inactivation of Akt regulates ABCG2 function in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch. Otolaryngol. Head. Neck Surg*. 2008;134(9):979-984.
10. Cleophas MC, Joosten LA, Stamp LK, Dalbeth N, Woodward OM, Merriman TR. ABCG2 polymorphisms in gout: insights into disease susceptibility and treatment approaches. *Pharmgenomics. Pers. Med*. 2017;10:129-142.
11. Cole SPC. Multidrug resistance protein 1 (mrp1, abcc1), a «multitasking» atp-binding cassette (abc,) transporter. *J. Biol. Chem*. 2014;289(45):30880-30888.
12. Daly AK. Pharmacogenetics and human genetic polymorphisms. *Biochem. J*.

- 2010;429(3):435-449.
13. Dey S. Single nucleotide polymorphisms in human P-glycoprotein: its impact on drug delivery and disposition. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006; 3(1):23-35.
 14. Drescher S, Schaeffeler E, Hitzl M, Hofmann U, Schwab M, Brinkmann U, et al. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2002;53(5):526-534.
 15. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics - drug disposition, drug targets, and side effects. *N. Engl. J. Med.* 2003;348(6):538-549.
 16. Flórez Jesús. *Farmacología Humana. 6ª Edición.* Barcelona: ELSEVIER MASSON; 2014.
 17. Gökteş MT, Pepedil F, Karaca Ö, Kalkışım S, Cevik L, Gumus E, et al. Relationship between genetic polymorphisms of drug efflux transporter MDR1 (ABCB1) and response to losartan in hypertension patients. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20(11):2460-2467.
 18. Goswami S, Gong Li, Giacomini K ARB and KTE. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for SLC22A1. *Pharmacogenet Genomics.* 2014;24(6):324-328.
 19. Hediger MA, Cléménçon B, Burrier RE, Bruford EA. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): Introduction. *Mol. Aspects Med.* 2013;34(2-3):95-107.
 20. Hockwald RS, Arnold J, Clayman CB, Alving AS. Toxicity of primaquine to Negroes. *JAMA.* 1952;149 (17):1568–1570.
 21. Hodges L, Markova SM, Chinn LW, Gow JM, Kroetz DL, Klein TE, et al. A very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenet Genomics.* 2011;21(3):152-161.
 22. Hyde SC, Emsley P, Hartshorn MJ, Mimmack MM, Gileadi U, Pearce SR et al. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature.* 1990;346(1):362–365.
 23. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nat. Commun.* Nature Publishing Group; 2012;3:764
 24. Ishikawa T, Tamura A, Saito H, Wakabayashi K, Nakagawa H. Pharmacogenomics of the human ABC transporter ABCG2: From functional evaluation to drug molecular

- design. *Naturwissenschaften*. 2005;92(10):451-463.
25. Kato M, Fukuda T, Seretti A, Wakeno M, Okugawa G, Ikenaga Yuka et al. ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *P.N.P. & B.P. journal*. 2008;32(2): 398-404.
 26. Kerb R. Implications of genetic polymorphisms in drug transporters for pharmacotherapy. *Canlet*. 2006; 234(1): 4–33.
 27. Kim HS, Sunwoo YE, Ryu JY, Kang HJ, Jung HE, Song IS, et al. The effect of ABCG2 V12M, Q141K and Q126X, known functional variants in vitro, on the disposition of lamivudine. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 2007;64(5):645-654.
 28. Koepsell H. The SLC22 family with transporters of organic cations, anions and zwitterions. *Mol. Aspects Med*. 2013;34(2):413-435.
 29. Kohli MA, Lucae S, Saemann PG, Schmidt M V, Hek K, Czamara D, et al. Depression. 2012;70(2):252-265.
 30. Kunická T, Souček P. Importance of ABCC1 for cancer therapy and prognosis. *Drug Metab. Rev*. 2014;46(3):325-342.
 31. Lage H. ABC-transporters: Implications on drug resistance from microorganisms to human cancers. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2003;22(3):188-199.
 32. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, Johnson MR. ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J*. 2007;7(3):154-179.
 33. Lewinson O, Livnat-Levanon N. Mechanism of Action of ABC Importers: Conservation, Divergence, and Physiological Adaptations. *J. Mol. Biol. Elsevier Ltd*; 2017;429(5):606-619.
 34. Li M, Li T, Guo S, Liang H, Jiang D. The effect of MDR1 C3435T polymorphism on the eradication rate of *H. pylori* infection in PPI-based triple therapy A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(13): 1536-5964.
 35. Ma Q, Lu A YH. Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine. *Pharmacol Rev*. 2011; 63(2): 437-459.
 36. Miller D.B., O'Callaghan J.P. Personalized medicine in major depressive disorder - Opportunities and pitfalls. *Metabolism*. 2013;62(1): 1-9.
 37. Miura Y, Imamura CK, Fukunaga K, Katsuyama Y, Suyama K, Okaneya T, et al. Sunitinib-induced severe toxicities in a Japanese patient with the ABCG2 421 AA genotype.

- BMC Cancer. 2014;14(1):964.
38. Nozawa T, Minami H, Sugiura S, Tsuji A, Tamai I. Role of organic anion transporter OATP1B1 (OATP-C) in hepatic uptake of irinotecan and its active metabolite, 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin: in vitro evidence and effect of single nucleotide polymorphisms. *Pharmacology*. 2005;33(3):4349.
 39. Pajic M, Murray J, Marshall GM, Cole SPC, Norris MD, Haber M. ABCC1 G2012T single nucleotide polymorphism is associated with patient outcome in primary neuroblastoma and altered stability of the ABCC1 gene transcript. *Pharmacogenet. Genomics*. 2011;21(5):270-279.
 40. Piquette-Miller M, Grant DM. The art and science of personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81(3): 311–315.
 41. Ratain MJ. Personalized medicine: building the GPS to take us there. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81(3):321-322.
 42. Riordan JR, Deuchars K, Kartner N, Alon N, Trent J, Ling V. Amplification of P-glycoprotein genes in multidrug-resistant mammalian cell lines. *Nature*. 1985; 316(6031): 9-817.
 43. Rives ML, Javitch JA, Wickenden AD. Potentiating SLC transporter activity: Emerging drug discovery opportunities. *Biochem. Pharmacol*. Elsevier Inc.; 2017;135:1-11.
 44. Rodríguez RL. «Implicación De Los Polimorfismos Genéticos En La Farmacocinética Y Farmacodinamia De Antipsicóticos: Estudio Farmacogenético En Voluntarios Sanos». 2010;1-10.
 45. Sarkadi B, Özvegy-Laczka C, Németh K, Váradi A. ABCG2 - A transporter for all seasons. *FEBS Lett*. 2004;567(1):116-120.
 46. Schumacher T, Benndorf RA. ABC Transport Proteins in Cardiovascular Disease—A Brief Summary. *Molecules*. 2017;22(4):589.
 47. Shu Y, Sheardown SA, Brown C, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J. Clin. Invest*. 2007;117(5):1422–1431.
 48. Sparreboom A, Gelderblom H, Marsh S, Ahluwalia R, Obach R, Principe P et al. Diflomotecan pharmacokinetics in relation to ABCG2 421C>A genotype. *Clin. Pharmacol. Ther*. 2004;76 (1), 38–44.
 49. Sucic S, Kasture A, Asjad HMM, Kern C, El-kasaby A. When transporters fail to be transported : how to rescue folding- deficient SLC6 transporters. 2017;1(9):34-40.

50. Sugimoto Y, Tsukahara S, Ishikawa E, Mitsuhashi J. Breast cancer resistance protein: Molecular target for anticancer drug resistance and pharmacokinetics/pharmacodynamics. *Cancer Sci.* 2005;96(8):457-465.
51. Tirona RG, Leake BF, Merino G, Kim RB. Polymorphisms in OATP-C: Identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J. Biol. Chem.* 2001;276(38):35669-35675.
52. Tood JN, Florez JC. An update on the pharmacogenomics of metformin: progress, problems and potential. *Pharmacogenomics J.* 2014; 15(4): 529–539
53. Torrades S. Diversidad del genoma humano: los polimorfismos. *OFFARM.* 2002; 21(5): 122-126.
54. Vandell AG, Lee J, Shi M, Rubets I, Brown KS, Walker JR. An integrated pharmacokinetic/pharmacogenomic analysis of ABCB1 and SLCO1B1 polymorphisms on edoxaban exposure. *Pharmacogenomics J;* 2016; 00:1-7.
55. Warren RB, Smith RL, Campalani E, Eyre S, Smith CH, Barker JNWN, et al. Genetic Variation in Efflux Transporters Influences Outcome to Methotrexate Therapy in Patients with Psoriasis. *J. Invest. Dermatol. Elsevier Masson SAS;* 2008;128(8):1925-1929.
56. Xu Y, Seelig A, Bernèche S. Unidirectional Transport Mechanism in an ATP Dependent Exporter. *ACS Cent. Sci.* 2017;3(3):250-258.
57. Yanase K, Tsukahara S, Mitsuhashi J, Sugimoto Y. Functional SNPs of the breast cancer resistance protein-therapeutic effects and inhibitor development. *Cancer Lett.* 2006; 234(1):73-80.
58. Yin JY, Han LF, Huang Q, Xu XJ, Zhou HH, Liu ZQ. ABCC1 polymorphism Arg723Gln (2168G>A) is associated with lung cancer susceptibility in a Chinese population. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2011;38(9):632-637.
59. Zhou D, Liu Y, Zhang X, Gu X, Wang H, Luo X, et al. Functional polymorphisms of the ABCG2 gene are associated with gout disease in the Chinese Han male population. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15(5):9149-9159.