

Estudio farmacogenético de los citocromos *CYP2D6* y *CYP3A4*1B* y **22* y el transportador *ABCB1* en pacientes españoles afectos de la Enfermedad de Gaucher.

Autor:

Alberto Almeida Calpe



Universidad San Jorge

Facultad de Ciencias de la Salud

Villanueva de Gállego, 2020

Estudio farmacogenético de los citocromos *CYP2D6* y *CYP3A4*1B* y **22* y el transportador *ABCB 1* en pacientes españoles afectos de la Enfermedad de Gaucher.

Autor:

Alberto Almeida Calpe



Director:

Pilar Giraldo Castellano



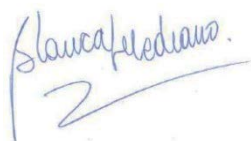
Codirector 1:

María Pilar Ribate Molina



Codirector 2:

Blanca Medrano Engay



Universidad San Jorge

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Facultad de Ciencias de la Salud

Villanueva de Gállego, 2020

Dra. Pilar Giraldo Castellano: presidenta de la Fundación Española para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEETEG).

Dra. María Pilar Ribate Molina: profesora de Facultad de Ciencias de la Salud Universidad San Jorge.

Dra. María Blanca Medrano Engay: investigadora del grupo de estudio de enfermedades raras hematológicas y metabólicas del Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS Aragón).

CERTIFICAN

Que el trabajo de investigación recogido en la presente tesis titulada: ***“Estudio farmacogenético de Los citocromos CYP2D6 y CYP3A4*1B y *22 y el transportador ABCB 1 en pacientes españoles afectados de La Enfermedad de Gaucher”***, presentada en la Universidad San Jorge, ha sido realizado bajo su dirección, por D. Alberto Almeida Calpe y autorizan su presentación para optar al grado de Doctor.

Y para que conste, firmamos el presente certificado en Villanueva de Gállego (Zaragoza), a 11 de noviembre de 2020.

Fdo. Pilar Giraldo Castellano

Fdo. María Pilar Ribate Molina

Fdo. Blanca Medrano Engay

La ciencia es respecto del alma lo que es la luz respecto de los ojos, y si las raíces son amargas, los frutos son muy dulces.
Aristóteles (384-322 a.C.)

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral, si bien ha requerido mucho esfuerzo y dedicación por parte del autor y sus directoras de tesis, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaré y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación.

Primero y, antes que nada, dar gracias a **Dios**, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el período de estudio.

Agradecer hoy y siempre este trabajo a mi familia, con especial mención a mis padres, Alberto y Lola, ya que sin su apoyo y colaboración este trabajo no habría salido adelante. La paciencia que han tenido me ha servido como baluarte para poder realizar este trabajo.

De igual manera mi más sincero agradecimiento a mis queridas directora Pilar Giraldo Castellano y co-directoras María Pilar Ribate Molina y Blanca Medrano Engay, que sin su apoyo, colaboración y paciencia no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Gracias también a mis compañeros y personal docente de la USJ, por su apoyo y colaboración que han supuesto en todo momento un fuerte estímulo para completar este trabajo. A las personas responsables del laboratorio por sus valiosos consejos y velar por mi seguridad. A Cristina, por su inestimable ayuda con algunas técnicas y sus sabias recomendaciones. Y, por último, pero no menos importante a Julia y Estela, por darme todo su apoyo, compañerismo y buen hacer ya que sin ellas me hubiera costado más la realización de este trabajo, han sido como un catalizador en una reacción química, me han acelerado el proceso.

Dar mi gratitud a mis compañeros de la UIT del Hospital Universitario Miguel Servet, en especial a: Blanca, Carlos, Javier, Vanesa, Héctor y Lorena por su apoyo y comprensión. La de noches que habremos filosofado en el taperío rico de Zaragoza y las orientaciones que me habéis dado para cómo seguir con la tesis y no morir en el intento. Gracias Laura también por proporcionarme el material necesario e imprescindible para mis ensayos en el laboratorio, sin tí no podría haber empezado esta tesis. También mencionar a las personas que trabajan y colaboran con la Fundación FEETEG, Conchita y Teresa por brindarme la oportunidad de poder asistir a charlas y congresos sobre la Enfermedad de

Gaucher, ya que me han sido muy útiles para poder realizar este trabajo y por dejarme las instalaciones de la fundación para poder escribir esta tesis cada vez que iba a Zaragoza.

A mis profesores de la Universidad Europea de Madrid Jesús Fernández y Daniel Hormigos que inocularon la semillita en mí del doctorado y fueron los que me animaron a empezarlo y a mis compañeros de clase, Carlos, Juan, Noelia, Álvaro, David, Jaime y Ana R. que también me dieron ánimos para continuar con mis estudios.

También me gustaría dar gracias a mis amigos de toda la vida, que me han brindado su apoyo, paciencia y comprensión. Sobre todo, cuando nos reunimos y me preguntan sobre qué va mi tesis y yo les contaba de qué iba, que, aun poniendo cara de asombro, se quedaban con la idea y eso es para mí más que gratificante. La de risas que nos habremos llegado a echar. Gracias por todo: Alejandro y Laura, Raúl y Goretti, Sergio y Bea, Sergio y Sara, Javier y Maripaz, Nacho y Lidia. Ellos son las personas que han compartido el mayor tiempo a mi lado, porque en compañía de ellos las cosas malas se convierten en buenas, la tristeza se transforma en alegría y la soledad no existe.

En general me gustaría agradecer a todas las personas que han vivido conmigo la realización de esta tesis doctoral, con sus altos y bajos y que desde lo más profundo de mi corazón les agradezco el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo cariño y amistad.

ÍNDICE

ABREVIATURAS:	11
RELACIÓN DE TABLAS:	13
RELACIÓN DE IMÁGENES:	18
RELACIÓN DE FIGURAS:	21
RESUMEN	22
INTRODUCCIÓN:	23
HIPÓTESIS:	24
OBJETIVOS:	24
PACIENTES Y METODOLOGÍA:	25
ANÁLISIS ESTADÍSTICO:	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN:	26
CONCLUSIÓN:	27
1. INTRODUCCIÓN	28
1.1. ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL:	29
1.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DE DEPÓSITO LISOSOMAL:	36
1.2.1. Enfermedad de Niemann – Pick:	36
1.2.2. Enfermedad de Fabry:	39
1.2.3. Enfermedad de Gaucher:	42
1.2.3.1. Concepto:	42
1.2.3.2. Historia:	42
1.2.3.3. Gen afectado, GBA (glucosilceramidasa-β-ácida):	46
1.2.3.4. Tipos de la enfermedad de Gaucher:	49
1.2.3.5. Diagnóstico:	55
1.3. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER:	63
1.3.1. Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE):	64
1.3.1.1. Imiglucerasa (Cerezyme®):	66
1.3.1.2. Velaglucerasa alfa (VPRIP®):	67
1.3.2. Terapia de Reducción de Sustrato (TRS):	70
1.3.2.1. Miglustat (Zavesca®):	71
1.3.2.2. Eliglustat (Cerdelga®):	74
1.3.3. Chaperonas farmacológicas:	80
1.3.3.1. Ambroxol hidrocloreuro (Hustless®):	81
1.3.4. Trasplante de células hematopoyéticas (TCH):	84
1.4. FARMACOGENÉTICA:	86
1.4.1. Concepto:	86
1.4.2. Historia:	87

1.4.3. Farmacocinética de los fármacos:	88
1.4.4. Enzimas metabolizadoras de fármacos:.....	89
1.4.5. Proteínas transportadoras de fármacos:.....	92
1.4.6. Beneficios de la farmacogenética:.....	93
1.4.7. Implicaciones éticas, jurídicas y sociales:.....	95
1.5. GENES RELEVANTES PARA EL TRATAMIENTO CON ELIGLUSTAT:.....	96
1.5.1. <i>CYP2D6</i> :	96
1.5.2. <i>CYP3A4</i> :	101
1.5.2.1. <i>CYP3A4*1B</i> (rs2740574):.....	104
1.5.2.2. <i>CYP3A4*22</i> (rs35599367):.....	105
1.5.3. <i>ABCB1</i> :.....	108
1.5.3.1. C1236T (rs1128503):.....	113
1.5.3.2. A/G2677T (rs2032582):.....	114
1.5.3.3. C3435T (rs1045642):.....	115
1.5.3.4. Haplotipos <i>ABCB1</i> :	116
1.5.3.5. Frecuencias alélicas de los SNPs del gen <i>ABCB1</i> :	116
1.5.4. Influencia de la alimentación sobre los genes de estudio:.....	116
1.5.4.1. Pomelo:.....	117
1.5.4.2. Suplementos dietéticos:	118
1.5.4.3. Pimienta negra:	123
1.5.4.4. Schisandra spp.:	123
1.5.4.5. Vino tinto:.....	123
1.5.4.6. Flavonoides:	124
2. <i>HIPÓTESIS</i>	125
3. <i>OBJETIVOS</i>	127
4. <i>MATERIALES Y MÉTODOS</i>	129
4.1. METODOLOGÍA:.....	131
4.1.1. Diseño:.....	131
4.1.2. Pacientes de estudio:.....	131
4.1.2.1. Consideraciones éticas:.....	131
4.1.2.2. Grupo de pacientes de estudio:.....	132
4.1.2.3. Variables:.....	133
a) Variables independientes (clínicas, sociodemográficas y genéticas):	133
b) Variables dependientes (seguridad):	133
4.1.2.4. Características clínicas de los pacientes:.....	134
4.1.3. Metodología para la determinación de los perfiles farmacogenéticos:	134
4.1.3.1. Extracción de ADN:.....	134
4.1.3.2. PCR-RFLP:.....	134
4.1.3.3. Digestión enzimática:.....	136
4.1.3.4. Q-PCR:.....	137
4.1.3.5. Genotipado del gen <i>GBA</i> :.....	138
4.1.3.6. Genotipado del gen <i>CHIT1</i> :	139
4.1.4. Análisis estadístico:	139
4.1.5. Evaluación clínica del paciente en el momento del estudio:.....	140
4.1.5.1. Información clínica:.....	140
4.1.5.2. Objetivos terapéuticos:.....	140
4.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS:.....	144

5.	RESULTADOS.....	145
5.1.	POBLACIÓN DE ESTUDIO:.....	146
5.2.	ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS:.....	147
5.2.1.	PCR-RFLP:.....	147
5.2.2.	Q-PCR:	150
5.2.2.1.	<i>CYP3A4*1B</i> :	150
5.2.2.2.	<i>CYP3A4*22</i> :	151
5.2.3.	Genotipo <i>CYP2D6</i> , <i>CYP3A4</i> y <i>ABCB1</i> :	152
5.2.3.1.	Análisis general:	152
5.2.3.2.	Clasificación de los pacientes según el genotipo:	154
5.2.3.3.	Distribución por género:	156
5.3.	ANÁLISIS DE DATOS ALÉLICOS Y GENOTÍPICOS:.....	158
5.3.1.	Frecuencias alélicas y genotípicas de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP3A4</i> y <i>ABCB1</i> :	158
5.3.1.1.	<i>CYP2D6</i> :	159
5.3.1.2.	<i>CYP3A4</i> :	160
5.3.1.2.1.	Alelo *1B:	160
5.3.1.2.2.	Alelo *22:	160
5.3.1.3.	<i>ABCB1</i> :	161
5.3.1.3.1.	C3435T (rs1045642):	161
5.3.1.3.2.	G2677T/A (rs2032582):	162
5.3.1.3.3.	C1236T (rs1128503):	163
5.3.2.	Distribución de los genotipos de <i>GBA</i> y <i>CHIT1</i> :	164
5.3.2.1.	Perfil metabolizador y genotipo de la <i>GBA</i> :	167
5.3.3.	Gen de la lactasa:	167
5.4.	BIOMARCADORES DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER:.....	168
5.4.1.	Perfil metabolizador y biomarcadores:.....	169
5.5.	TIPOS DE TRATAMIENTO:.....	169
5.5.1.	Respuesta al tratamiento:.....	170
5.5.2.	Perfil metabolizador y respuesta al tratamiento:.....	171
5.5.3.	Perfil metabolizador y medicación concomitante:	176
5.5.4.	Perfil metabolizador y efectos adversos:	180
5.6.	ANÁLISIS DE OTROS FACTORES AMBIENTALES:.....	181
5.6.1.	Dieta:.....	181
5.6.1.1.	Perfil metabolizador y dieta:	182
5.6.2.	Comorbilidades asociadas:.....	183
5.7.	CORRELACIÓN MÚLTIPLE:.....	185
5.8.	HAPLOTIPO TTT DEL GEN <i>ABCB1</i> :.....	189
6.	DISCUSIÓN	191
6.1.	Objetivo I: analizar el genotipo de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP3A4</i> y <i>ABCB1</i> en una cohorte de pacientes diagnosticados de enfermedad de Gaucher para establecer el perfil metabolizador.....	194
6.2.	Objetivo II: Determinar el grado de respuesta al tratamiento en función del perfil metabolizador y la variación en los biomarcadores de seguimiento.....	196

6.3.	Objetivo III: Evaluar relación entre el genotipo <i>CYP2D6</i> , <i>CYP3A4</i> y <i>ABCB1</i> y la aparición de efectos adversos al tratamiento.....	200
6.4.	Objetivo IV: Analizar si la relación genotipo-fenotipo de los pacientes con EG en tratamiento con eliglustat podría ayudar a aplicar una medicina personalizada de precisión.....	202
7.	<i>FORTALEZAS Y DEBILIDADES</i>	207
8.	<i>CONCLUSIONES</i>	209
9.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	212
10.	<i>ANEXOS</i>	258
10.1.	Anexo I. TABLA GENERAL CON LAS VARIABLES DE ESTUDIO:.....	259
10.1.1.	Tabla general con las variables empleadas en este estudio:.....	260
10.1.2.	Tabla con otros datos de interés:	262
10.2.	Anexo II. CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LOS PACIENTES, CEICA Y SUBPROYECTO DEL ESTUDIO TRAZELGA:.....	264
10.2.1.	Consentimiento informado de los pacientes:.....	265
10.2.2.	CEICA:	268
10.2.3.	Subproyecto TRAZELGA:	269

ABREVIATURAS:

AUC	<i>area under curve</i>
BHE	barrera hematoencefálica
CEICA	Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón
CIBERER	Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras
CHO	células de ovario de hámster chino, del inglés <i>Chinese Hamster Ovarium</i>
EDL	enfermedades de depósito lisosomal
EF	enfermedad de Fabry
EG	enfermedad de Gaucher.
EMA	<i>European Medicine Agency</i> (Agencia Europea del Medicamento).
EP	enfermedad de Párkinson
FA	frecuencia alélica
FEETEG	Fundación Española para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y Otras Lisosomales
FIV	factor de inflación de la varianza.
GBA	gen que codifica para la enzima glucosilceramidasa- β -ácida
GC	enzima β - glucocerebrosidasa
GI	trastornos gastrointestinales
GLA o GALA	gen de la galactosidasa alfa.
GS	glucoesfingosina
GluCer	glucocerebrósido.
HC	hidratos de carbono.
HLA	antígeno leucocitario humano, del inglés <i>Human Leukocyte Antigen</i>
HSCT	trasplante de células madre hematopoyéticas, del inglés <i>Hematopoietic Stem Cell Transplantation</i> .
HTA	hipertensión arterial
LD	desequilibrio de asociación, del inglés <i>Linkage Disequilibrium</i>
LC-ESI-MS/MS	<i>Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric</i> , del inglés Cromatografía Líquida de masas de ionización por electro spray.
ME o MR	metabolizador rápido o extensivo
MGG	May Grunwald Giemsa
MI	MI: metabolizador intermedio
MP	metabolizador pobre

MPS	mucopolisacaridosis
MU	metabolizador ultrarrápido
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NPD	del inglés <i>Niemann Pick Disease</i> (enfermedad de Niemann Pick)
NPA, B, C y D	enfermedad de Niemann Pick tipo A, B, C o D
NP	neuropatía periférica
P-gp	glucoproteína P
PRX	receptor X de pregnano
REEG	Registro Español de Enfermedad de Gaucher
RFLP-PCR	del inglés <i>Restriction Frame Length Polymorphism-Polymerase Chain Reaction</i> , reacción en cadena de la polimerasa de los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción
Sap C	proteína saposina C
SNC	sistema nervioso central
QT	enzima quitotrioxidasa
TCH	trasplante de células hematopoyéticas
TEFR	transferencia energética de fluorescencia por resonancia
TRE	terapia de reemplazamiento enzimático
TRS	terapia de reducción de sustrato

RELACIÓN DE TABLAS:

<i>Tabla 1: EDL de esfingolipidosis, glucogenosis y defecto de hidrolasas ácidas, tomada de (3,4,6).</i>	31
<i>Tabla 2: EDL de Las mucopolisacaridosis, modificada de (7).</i>	32
<i>Tabla 3: EDL de La glucoproteinosi, modificada de (7).</i>	33
<i>Tabla 4: resumen de Los diferentes tipos de La EG, tomada de (121).</i>	54
<i>Tabla 5: características generales de Las enzimas recombinantes, obtenida de (190).</i>	66
<i>Tabla 6: características generales de La TRS, obtenida de (32,191).</i>	70
<i>Tabla 7: dosis en relación con área de superficie corporal, obtenida de (191).</i>	73
<i>Tabla 8: Inhibidores e inductores de CYP2D6 y CYP3A4, modificada de (209).</i>	79
<i>Tabla 9: efectos adversos de ambroxol hidrocioruro, obtenida de (239).</i>	83
<i>Tabla 10: fenotipo metabolizante de fármacos para Los diferentes genotipos del CYP2D6, obtenida de (309).</i>	97
<i>Tabla 11: sustratos, inhibidores e inductores de CYP2D6, obtenida de (314).</i>	99
<i>Tabla 13: relación genotipo/fenotipo metabolizante de fármacos para el CYP3A4*1B, La tabla es de autoría propia.</i>	103
<i>Tabla 14: relación genotipo/fenotipo metabolizante de fármacos para el CYP3A4*22, La tabla es de autoría propia.</i>	104
<i>Tabla 15: polimorfismos del gen CYP3A4, alelos *1A, *1B y *22.</i>	106
<i>Tabla 16: sustratos, inhibidores e inductores de CYP3A4, obtenida de (314).</i>	107
<i>Tabla 17: Localización de La P-gp en Los tejidos, tomada de (394).</i>	110
<i>Tabla 18: sustratos e inhibidores de ABCB1, tomada de (394,404).</i>	112
<i>Tabla 19: polimorfismos del gen ABCB1 para Los SNPs rs1128503, rs2032582 y rs1045642.</i>	116
<i>Tabla 20 a: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos con interacción clínica: Cimífuga-Té verde, tomada de (461).</i>	120

<i>Tabla 20 b: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos con interacción clínica: Isoflavonas-Valeriana, tomada de (461).</i>	120
<i>Tabla 20 c: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos sin interacción clínica, tomada de (461).</i>	121
<i>Tabla 21: condiciones de amplificación por PCR, para Los SNPs de ABCB1, (536,537,538).</i>	135
<i>Tabla 22: primers para Los SNPs de ABCB1.</i>	136
<i>Tabla 23: nomenclatura y zonas de corte de las enzimas empleadas en el estudio.</i>	136
<i>Tabla 24: condiciones de la qPCR para Los SNPs de CYP3A4.</i>	138
<i>Tabla 25: sondas empleadas en la qPCR para Los SNPs de CYP3A4.</i>	138
<i>Tabla 26: criterios de respuesta de los OT en niños y adultos en sangre, (543).</i>	141
<i>Tabla 27: criterios de respuesta de los OT en niños y adultos en vísceras, (543).</i>	142
<i>Tabla 28: criterios de respuesta de los OT en niños y adultos en peso y talla, enfermedad ósea y biomarcadores, (543).</i>	143
<i>Tabla 29: frecuencia de la edad.</i>	146
<i>Tabla 30: frecuencia y porcentaje del género.</i>	146
<i>Tabla 31: pacientes y tipo de metabolizador para CYP2D6.</i>	152
<i>Tabla 32: pacientes y tipo de metabolizador para CYP3A4*22.</i>	153
<i>Tabla 33: pacientes y tipo de metabolizador para CYP3A4*1B.</i>	153
<i>Tabla 34: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs1045642).</i>	153
<i>Tabla 35: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs2032582).</i>	153
<i>Tabla 36: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs1128503).</i>	154
<i>Tabla 37: códigos del genotipo de los citocromos y ABCB1.</i>	154
<i>Tabla 38: distribución de los fenotipos.</i>	155
<i>Tabla 39: distribución de CYP2D6 en función del género.</i>	156
<i>Tabla 40: distribución de CYP3A4*1B en función del género.</i>	157
<i>Tabla 41: distribución de CYP3A4*22 en función del género.</i>	157
<i>Tabla 42: distribución de ABCB1 (rs1045642) en función del género.</i>	157

<i>Tabla 43: distribución de ABCB1 (rs2032582) en función del género.</i>	<i>157</i>
<i>Tabla 44: distribución de ABCB1 (rs1128503) en función del género.</i>	<i>158</i>
<i>Tabla 45: tabla resumen de la distribución de los genes de estudio.</i>	<i>158</i>
<i>Tabla 46: tabla comparativa de la frecuencia alélica de CYP2D6 en la población europea y los pacientes de estudio.</i>	<i>159</i>
<i>Tabla 47: tabla resumen del estudio comparativo de los alelos CYP2D6 en las poblaciones europea, población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).</i>	<i>159</i>
<i>Tabla 48: comparación de la frecuencia alélica de CYP3A4*1B frente a la de la base de datos en población.</i>	<i>160</i>
<i>Tabla 49: comparación de la frecuencia alélica de CYP3A4*22 frente a la de la base de datos en población ibérica.</i>	<i>161</i>
<i>Tabla 50: tabla resumen del estudio comparativo de CYP3A4 en la población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).</i>	<i>161</i>
<i>Tabla 51: comparación de la frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs1045642) frente a la de la base de datos en población ibérica.</i>	<i>162</i>
<i>Tabla 52: comparación de la frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs2032582) frente a la de la base de datos en población ibérica.</i>	<i>162</i>
<i>Tabla 53: comparación de la frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs1128503) frente a la de la base de datos en población ibérica.</i>	<i>163</i>
<i>Tabla 54: tabla resumen del estudio comparativo de ABCB1 en la población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).</i>	<i>164</i>
<i>Tabla 55: distribución del genotipo del GBA.</i>	<i>165</i>
<i>Tabla 56: agrupación del genotipo del GBA.</i>	<i>166</i>
<i>Tabla 57: frecuencias genotipo CHIT1.</i>	<i>166</i>
<i>Tabla 58: relación entre el perfil del metabolizador y el genotipo de la GBA.</i>	<i>167</i>
<i>Tabla 59: distribución del polimorfismo C/T-13910.</i>	<i>168</i>
<i>Tabla 60: distribución de los biomarcadores plasmáticos en los pacientes estudiados.</i>	<i>168</i>
<i>Tabla 61: distribución de la concentración de biomarcadores en relación con el perfil metabolizador.</i>	<i>169</i>
<i>Tabla 62: prueba de Levene para los biomarcadores respecto al perfil metabolizador.</i>	<i>169</i>
<i>Tabla 63: tipos de tratamiento.</i>	<i>170</i>

<i>Tabla 64: distribución de la respuesta al tratamiento.</i>	<i>170</i>
<i>Tabla 65: distribución del perfil del metabolizador y respuesta al tratamiento.</i>	<i>171</i>
<i>Tabla 66: relación entre fenotipo de metabolizador y los pacientes en tratamiento con eliglustat [17 pacientes].</i>	<i>172</i>
<i>Tabla 67 a: descripción de las características de los pacientes que están en tratamiento con eliglustat, y/o su perfil metabolizador.</i>	<i>173</i>
<i>Tabla 67 b: descripción de las características de los pacientes que están en tratamiento con eliglustat, y/o su perfil metabolizador.</i>	<i>174</i>
<i>Tabla 68: medicación concomitante de los pacientes de estudio y vía metabólica.</i>	<i>175</i>
<i>Tabla 69: incidencia de efectos adversos en pacientes en tratamiento con eliglustat en relación con el perfil metabolizador y el grado de respuesta al tratamiento.</i>	<i>176</i>
<i>Tabla 70: distribución del perfil metabolizador y medicación concomitante.</i>	<i>177</i>
<i>Tabla 71: distribución de los pacientes en relación al número de fármacos concomitantes.</i>	<i>178</i>
<i>Tabla 72: distribución de los grupos de pacientes en relación al alcance de la respuesta al tratamiento en función de la medicación concomitante.</i>	<i>179</i>
<i>Tabla 73: distribución de los pacientes en relación con la medicación concomitante y la presencia de efectos adversos.</i>	<i>179</i>
<i>Tabla 74: distribución del perfil del metabolizador y efectos adversos. ..</i>	<i>180</i>
<i>Tabla 75: tipos de dieta.</i>	<i>181</i>
<i>Tabla 76: distribución del perfil del metabolizador y la dieta.</i>	<i>182</i>
<i>Tabla 77 a: distribución de las comorbilidades en la serie de pacientes. .</i>	<i>183</i>
<i>Tabla 77 b: distribución de las comorbilidades en la serie de pacientes. .</i>	<i>184</i>
<i>Tabla 79: distribución de las comorbilidades según el perfil metabolizador.</i>	<i>185</i>
<i>Tabla 80: coeficientes de correlación de Pearson entre las variables del estudio (test de Pearson).</i>	<i>186</i>
<i>Tabla 81: tabla de correlación parcial en relación con la respuesta al tratamiento.</i>	<i>188</i>
<i>Tabla 82: características generales de los pacientes con haplotipo TTT del gen ABCB1.</i>	<i>190</i>

*Tabla 83 a: tabla general con las variables empleadas en este estudio.
Pacientes: 1-30 260*

*Tabla 83 b: tabla general con las variables empleadas en este estudio.
Pacientes: 31-62 261*

Tabla 84 a: tabla con otros datos de interés. Pacientes: 1-30 262

Tabla 84 b: tabla con otros datos de interés. Pacientes: 31-62 263

RELACIÓN DE IMÁGENES:

<i>Imagen 1: esquema del abordaje de laboratorio para La caracterización de Las EDL (autoría propia).</i>	35
<i>Imagen 2: representación gráfica de La Enfermedad de Niemann-Pick C, tomada de (11).</i>	36
<i>Imagen 3: posición en el cromosoma donde se localiza el gen SMPD - 1, tomada de (15).</i>	37
<i>Imagen 4: posición en el cromosoma donde se localiza el gen NPC1, tomada de (15).</i>	37
<i>Imagen 5: estructura de La proteína NPC1, tomada de (19).</i>	38
<i>Imagen 6: posición en el cromosoma donde se localiza el gen NPC2, tomada de (15).</i>	38
<i>Imagen 7: estructura de La proteína NPC2, tomada de (19).</i>	38
<i>Imagen 8: EF ligada al cromosoma X, tomada de (29).</i>	40
<i>Imagen 9: funcionamiento normal vs. mutación en el gen GLA, tomada de (30).</i>	41
<i>Imagen 10: posición en el cromosoma donde se localiza el gen GLA, tomada de (15).</i>	41
<i>Imagen 11: proteína α - galactosidasa, tomada de (19).</i>	41
<i>Imagen 12: estructura de La proteína recombinante imiglucerasa, tomada de (19).</i>	44
<i>Imagen 13: Localización en el cromosoma del gen GBA, tomada de (15).</i>	46
<i>Imagen 14: estructura proteica de La GBA, tomada de (19).</i>	46
<i>Imagen 15: Localización y distribución en exones e intrones del gen GBA y de su pseudogen, tomada de (3).</i>	47
<i>Imagen 16: hueso en forma de matraz Erlenmeyer característico de La EG.</i>	54
<i>Imagen 17: examen de médula ósea May Grunwald Giemsa (MGG) 100X, tomada de (127).</i>	55
<i>Imagen 18: células de Gaucher responsables de La mayoría de Los síntomas de La enfermedad. Imágenes cedidas por FEETEG.</i>	56
<i>Imagen 19: Localización en el cromosoma del gen CHIT1 tomada de (15).</i>	58
<i>Imagen 20: estructura de La proteína de La QT, tomada de (19).</i>	58
<i>Imagen 21: Localización en el cromosoma del gen CCL18, tomada de (15).</i>	61
<i>Imagen 22: estructura de La proteína CCL18, tomada de (19).</i>	61

<i>Imagen 23: representación esquemática de la producción de proteínas como la GC humana, tomada de (187).</i>	65
<i>Imagen 24: estructura química del miglustat, de autoría propia.</i>	71
<i>Imagen 25: estructura química del eliglustat, de autoría propia.</i>	74
<i>Imagen 26: esquema del mecanismo de actuación de eliglustat, modificada de (219).</i>	74
<i>Imagen 27: ruta metabólica sugerida in vitro para la biotransformación de eliglustat en las microsomas hepáticas humanas por CYP2D6, CYP3A4 y CYP2C19, modificada de (227).</i>	76
<i>Imagen 28: ruta metabólica sugerida in vivo para la biotransformación de eliglustat, modificada de (227).</i>	76
<i>Imagen 29: algoritmo para la elección de eliglustat en pacientes adultos con la EG tipo 1, tomada de (209).</i>	78
<i>Imagen 30: efecto de las chaperonas farmacológicas sobre las enzimas lisosomales mal plegadas, imagen tomada de (235).</i>	81
<i>Imagen 31: estructura química de ambroxol hidrocloreuro, de autoría propia.</i>	81
<i>Imagen 32: Localización en el cromosoma del gen CYP2D6, tomada de (15).</i>	96
<i>Imagen 33: estructura proteica de la CYP2D6, tomada de (19).</i>	96
<i>Imagen 34: Localización en el cromosoma del gen CYP3A4, tomada de (15).</i>	102
<i>Imagen 35: estructura proteica 3D de la proteína CYP3A4, tomada de (19).</i>	102
<i>Imagen 36: Localización de CYP3A4*1B y CYP3A4*22 en el gen CYP3A4.</i>	103
<i>Imagen 37: Localización en el cromosoma del gen ABCB1, tomada de (15).</i>	108
<i>Imagen 38: estructura de la proteína ABCB1, tomada de (11).</i>	109
<i>Imagen 39: mecanismo de interacción entre P-gp y CYP3A4, modificada de (396).</i>	110
<i>Imagen 40: Localización de las variantes C3435T, A/G2677T y C1236T en el gen ABCB1. En la imagen se han redondeado de negro las variantes que se han empleado en este estudio. MSD: Membrane Spanning Domain (dominio que abarca la membrana); NBD: Nucleotide Binding Domain (dominio de unión al nucleótido), tomada de (405).</i>	113
<i>Imagen 41: interacción de los alimentos con los genes, tomada de (454).</i>	117
<i>Imagen 42: A) PCR del SNP rs1045642 muestras 23-33, 35-41, con un amplicón de 244 pb. B) Marcador de peso molecular XIV.</i>	147
<i>Imagen 43: A) PCR del SNP rs2032582 muestras 44-53, con un amplicón de 224 pb. B) Marcador de pesos moleculares XIV.</i>	147

Imagen 44: A) PCR del SNP rs1128503 muestras 1, 2, 41 y 44, con un amplicón de 237 pb. B) Marcador de pesos moleculares XIII.	148
Imagen 45: A) Digestión del SNP rs 1045642 muestras 32, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52 y 53 con MboI. B) Marcador de pesos moleculares XIII. ...	148
Imagen 46: A) Digestión del SNP rs2032582 muestras 39-42, 44-53 con BanI. B) Marcador de pesos moleculares XIV.	149
Imagen 47: Digestión del SNP rs1128503 muestras 23-25, 27, 28, 31, 35, 37 y 39-44 con HaeIII. B) Marcador de pesos moleculares XIII.	149
Imagen 48: muestra 25 homocigota para CYP3A4*1B, alelo wild type.	150
Imagen 49: muestra 40 heterocigota para CYP3A4*1B.	151
Imagen 50: muestra 3 homocigota para CYP3A4*22, alelo wild type.	151
Imagen 51: muestra 20 heterocigota para CYP3A4*22.	152

RELACIÓN DE FIGURAS:

<i>Figura 1: distribución de los pacientes por rango de edad.</i>	<i>146</i>
<i>Figura 2: tipo de metabolizador para CYP2D6.</i>	<i>152</i>
<i>Figura 3: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs1044652).</i>	<i>153</i>
<i>Figura 4: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs2032582).</i>	<i>153</i>
<i>Figura 5: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs1128503).</i>	<i>154</i>
<i>Figura 6: distribución del fenotipo de 61 pacientes afectados de EG en función de su genotipo.</i>	<i>156</i>
<i>Figura 7: figura de las frecuencias del genotipo de la GBA.</i>	<i>165</i>
<i>Figura 8: porcentajes genotipo GBA.</i>	<i>166</i>
<i>Figura 9: porcentaje de la frecuencia del genotipo del CHIT1.</i>	<i>166</i>
<i>Figura 10: distribución de las frecuencias del genotipo de GBA en relación con el perfil metabolizador.</i>	<i>167</i>
<i>Figura 11: representación gráfica de la media y extremos de los biomarcadores plasmáticos del grupo de pacientes.</i>	<i>168</i>
<i>Figura 12: distribución de los pacientes según el tipo de tratamiento. ...</i>	<i>170</i>
<i>Figura 13: distribución de los tipos de dieta.</i>	<i>181</i>
<i>Figura 14: distribución de las frecuencias de las comorbilidades de los pacientes de estudio.</i>	<i>184</i>

RESUMEN

INTRODUCCIÓN:

La enfermedad de Gaucher (EG) es la enfermedad de depósito lisosomal más frecuente del grupo de las esfingolipidosis. Clásicamente se ha subdividido en tres fenotipos clínicos, siendo el de tipo 1 el más común (EG1; MIM#230800). Es una entidad de herencia autosómica recesiva provocada por variantes en el gen *GBA1* (MIM*606463) que codifica para una enzima lisosomal, la β -glucosidasa ácida (GluCer), responsable de la hidrólisis de la glucosilceramida. La disfunción enzimática induce el acúmulo de glucosilceramida en las células del sistema mononuclear macrofágico, que es responsable de las manifestaciones clínicas más frecuentes de la enfermedad: esplenomegalia, hepatomegalia, retraso del crecimiento óseo, infiltración de la médula ósea y citopenias.

El tratamiento de reemplazo enzimático (TRE) se comercializó en 1991. Consiste en una enzima sustitutiva que, administrada por vía intravenosa periódicamente (cada 2 semanas), consigue reducir los síntomas y signos de la enfermedad, así como evitar complicaciones en un porcentaje elevado de casos. Inicialmente, la enzima fue extraída de placenta humana y posteriormente se obtuvo por recombinación genética en diferentes líneas celulares. En España, se dispone de dos fármacos aprobados para el tratamiento de la EG, uno es imiglucerasa (Cerezyme®), obtenido por ingeniería genética en células de ovario de hámster chino (CHO), y el otro es velaglucerasa alfa (VPRIP®), obtenido en cultivo de fibroblastos humanos. A pesar de no ser un tratamiento curativo, se ha demostrado que es seguro y eficaz, mejorando la calidad de vida de los pacientes.

Posteriormente, en la década de los 2000, se ha desarrollado otra estrategia de tratamiento denominada terapia de reducción de sustrato (TRS). Dicho tratamiento consiste en una molécula de pequeño tamaño de administración oral, cuyo mecanismo de acción es el de inhibir a la enzima glucosilceramida sintasa con el propósito de reducir la síntesis de glucosilceramida. Se dispone de dos fármacos aprobados para el tratamiento de la EG. Uno es miglustat (Zavesca®) el cual es un iminoazúcar que posee una analogía con el grupo glucosilo de la enzima, produciendo la inhibición de la glucosilceramida sintasa por competencia mimética. Además, inhibe otras enzimas intestinales dando lugar a efectos adversos, como trastornos gastrointestinales, en más del 60% de los pacientes. Su indicación es para pacientes con EG de grado leve o moderado, que no quieren o no pueden recibir TRE. El otro es eliglustat (Cerdelga®), un análogo de la ceramida, el cual es un inhibidor más potente y selectivo de la

glucosilceramida sintasa. Dicho fármaco fue aprobado en 2015 como tratamiento oral de la EG1.

Los diferentes polimorfismos genéticos de algunas de las isoenzimas de la vía del citocromo CYP450, especialmente en la isoenzima CYP2D6, son relevantes para la eficacia y/o los efectos adversos de muchos medicamentos. Esta información es esencial para la prescripción de algunos fármacos, y es pertinente para seleccionar y optimizar la dosis del medicamento y considerar las posibles interacciones cuando se requiere la administración conjunta de diferentes fármacos. Otra isoenzima de especial interés de la superfamilia CYP450, es la CYP3A4; ya que, por ella, se metabolizan más del 50% de los fármacos. Por último, otras proteínas de transporte como la P-gp, intervienen en la regulación del acceso de los medicamentos al compartimento celular.

Eliglustat utiliza la vía de la CYP2D6 y en menor medida la de la CYP3A4, por lo que identificar el tipo de metabolizador para el CYP2D6 es esencial para la aprobación e indicación del tratamiento y necesario para considerar las interferencias en la administración concomitante de otros fármacos. El fármaco también es sustrato de la P-gp, y su prescripción requiere individualización y vigilancia si se administra conjuntamente con otro sustrato de la P-gp.

Un estudio farmacogenético del perfil metabolizador en los pacientes de estudio, nos permitirá aplicar una terapia de forma más individualizada, minimizando los riesgos de efectos adversos que pueden aparecer tras la ingesta de un fármaco.

HIPÓTESIS:

El análisis genético de las isoformas de los citocromos CYP2D6 y CYP3A4, así como del transportador ABCB1 aporta información sobre la respuesta al tratamiento con eliglustat en pacientes con EG. Dicha información nos podría resultar útil para llevar a cabo una terapia más personalizada sin posibles efectos secundarios para el paciente.

OBJETIVOS:

- I. Analizar el genotipo de CYP2D6, CYP3A4 y del transportador ABCB1 en una cohorte de pacientes diagnosticados de enfermedad de Gaucher, para establecer su perfil metabolizador.

- II. Determinar el grado de respuesta al tratamiento en función del genotipo y la variación en los biomarcadores de seguimiento.
- III. Evaluar relación entre el genotipo de *CYP2D6*, *CYP3A4* y *ABCB1* y la aparición de efectos adversos al tratamiento.
- IV. Analizar si la relación genotipo-fenotipo de los pacientes con enfermedad de Gaucher en tratamiento con eliglustat podría ayudar a aplicar una medicina personalizada de precisión.

PACIENTES Y METODOLOGÍA:

El estudio fue aceptado por el patronato de la Fundación para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales, según acta que se adjunta del 12 de junio de 2017 como subproyecto del estudio TRAZELGA aprobado favorablemente por el CEICA el 7 de junio de 2017. Todos los participantes aceptaron y firmaron el consentimiento informado y están incluidos en el Registro Español de Enfermedad de Gaucher (REEG) respaldado por la Fundación Española para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras enfermedades lisosomales (FEETEG). Los análisis enzimáticos y genéticos del diagnóstico de los pacientes se han realizado en la Unidad de Investigación Translacional (UIT) del IIS Aragón, para *CYP2D6*, y en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad San Jorge, Zaragoza, para *CYP3A4* y *ABCB1*.

En este estudio, hemos analizado los polimorfismos de *CYP2D6*, *CYP3A4* (*CYP3A4*1B* (rs2740574) y *CYP3A4*22* (rs35599367)) y *ABCB1* ((rs1045642), (rs2032582) y (rs1128503)), en una cohorte de 61 pacientes con EG1 (33 mujeres y 28 hombres, con una media de edad de 47,9 años y con un rango de 15-83 años). El objetivo ha sido evaluar el fenotipo del perfil metabolizador más frecuente en los pacientes de estudio y relacionarlo con el perfil metabolizador de los pacientes que toman eliglustat, con la respuesta al tratamiento y con la aparición de efectos adversos. Los pacientes fueron seleccionados del Registro Español de la Enfermedad de Gaucher (REEG), activo desde 1993, el cual recoge datos clínicos, analíticos, genéticos, de imagen y evolutivos de más de 416 pacientes españoles diagnosticados de EG. En el grupo seleccionado, hemos analizado los datos clínicos y genéticos, el grado de afectación según la puntuación GD-DS3, las comorbilidades, el tipo de tratamiento, la respuesta al tratamiento y los efectos adversos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

El análisis estadístico se ha llevado a cabo con el programa SPSS Inc. 22.0, con el cual se ha realizado un análisis de estadística descriptiva y realizado la prueba de Chi-cuadrado para la comparación de variables cualitativas. Se realizó la prueba de ANOVA o de Kruskal-Wallis, para dichas variables, junto con la correlación de Pearson. También se aplicó un análisis multivariante aplicando un modelo de regresión lineal de Shapiro-Wilk. El nivel de confianza para todas las variables fue del 95% con una significancia inferior o igual a 0,05 ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

El perfil metabolizador más frecuente en este grupo ha sido rápido o intermedio para *CYP2D6*, rápido para *CYP3A4*1B* y *CYP3A4*22* y de actividad normal para los 3 SNPs del transportador *ABCB1*. En relación con *CYP2D6*, encontramos mayor prevalencia de los alelos *1 y *4 en la cohorte de estudio frente a la población europea y de los alelos *1, *2, y *4 frente a la población ibérica, lo cual es de interés porque el alelo *4 confiere actividad nula al gen. Para *CYP3A4*, más del 90% de los sujetos analizados tienen un fenotipo de metabolizador rápido, siendo similar la prevalencia en poblaciones europea e ibérica. Por último, la frecuencia encontrada en la cohorte para los 3 SNPs del transportador *ABCB1*, es también similar a la de las poblaciones ibérica y europea.

El análisis muestra que el perfil metabolizador no tiene relación con la edad, género ni con los genotipos de la *GBA* y *CHIT1*, ni la persistencia de tolerancia a la lactosa. Tampoco muestra relación con los biomarcadores, ni con el tipo de tratamiento.

En cuanto al tratamiento de los 61 pacientes de la cohorte, 17 pacientes recibían eliglustat; 28 recibían tratamiento intravenoso, 16 con imiglucerasa y 12 con velaglucerasa alfa; 7 estaban tratados con miglustat y 9 no recibían tratamiento. Considerando el subgrupo de los pacientes tratados con eliglustat, 9 de ellos reciben medicación concomitante de forma continua, la mayoría analgésicos y AINES; 5 no alcanzaron los objetivos terapéuticos y 3 presentaban efectos adversos leves o moderados, con mayor frecuencia dolor de cabeza y epigastralgia.

En esta serie se constata que más del 54,5% de los pacientes toman otros tratamientos además del específico de su enfermedad; este porcentaje es algo superior al registrado en la población española en general (el 42% de los mayores de 18 años toman medicamentos con mucha o moderada frecuencia). Por otra parte, los pacientes que precisan medicación concomitante, presentan una incidencia mayor de efectos adversos, 42,6%, vs 14,8% sobre los pacientes que no precisan medicación concomitante, ($p=0,003$). Así mismo, el estudio de correlación múltiple muestra una correlación fuerte entre la edad y los efectos adversos, lo que puede justificarse porque los de mayor edad tienen más comorbilidades y, por tanto, mayor número de tratamientos concomitantes.

Globalmente, en el grupo de pacientes con perfil metabolizador frecuente (rápido para *CYP2D6* y *CYP3A4* y con actividad normal para los tres SNPs de *ABCB1*), e independientemente del tipo de tratamiento, se observa un porcentaje superior de respuestas objetivas al tratamiento ($p=0,001$) y un porcentaje menor de efectos adversos 17,6% vs 23,1% ($p=0,002$).

En relación con la dieta y el consumo de suplementos nutricionales, no hemos encontrado influencia en la respuesta o en la aparición de efectos adversos.

En cuatro pacientes, se detectó ausencia de actividad del transportador *ABCB1* al presentar un haplotipo TTT que confiere actividad nula. El análisis de las características de estos pacientes, muestra que uno de ellos en tratamiento con eliglustat no ha obtenido respuesta terapéutica y no ha presentado efectos adversos.

Considerando el subgrupo de pacientes en tratamiento con eliglustat destaca la importancia del análisis del perfil de las vías del citocromo para aplicar una terapia personalizada, ya que la variabilidad clínica y genotípica es muy amplia.

CONCLUSIÓN:

El perfil metabolizador de las vías del citocromo debe ser considerado como un indicador para la elección del tratamiento individual y de la medicación concomitante, así como para los ajustes de las dosis requeridas para cada paciente con indicación de terapia en la enfermedad de Gaucher, con el objetivo de aplicar una medicina personalizada y de precisión para evitar interferencias y efectos adversos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL:

Las enfermedades de almacenamiento lisosómico o de depósito lisosomal (EDL), son trastornos hereditarios del metabolismo glucolipídico en los que están involucrados los lisosomas. Están determinados genéticamente por aberraciones en la secuencia de aminoácidos (aa) de diferentes genes que corresponden mayoritariamente a la codificación de enzimas o transportadores, y la consecuencia es la incapacidad para degradar las moléculas complejas por defecto funcional en distintas enzimas. Estas enfermedades producen sus primeros síntomas generalmente en la niñez o adolescencia, acortando la expectativa de vida y provocando grados variables de discapacidad en las personas afectadas (1).

Los lisosomas son orgánulos rodeados de una membrana que están situados en el interior de la célula y contienen diferentes enzimas que tienen la función de degradar numerosos tipos de polímeros, tanto proteínas como ácidos nucleicos, lípidos o polisacáridos. Estos orgánulos poseen más de 50 enzimas hidrolíticas diferentes. Las mutaciones de los genes que codifican estas enzimas son las causantes de las EDL. La no degradación de los polímeros biológicos, hace que estos se acumulen afectando así al funcionamiento y muerte celular. Dependiendo del efecto bioquímico y de la sustancia que se acumule en los lisosomas, se pueden distinguir las siguientes enfermedades (2,3,4,5,6,7):

- 1) Esfingolipidosis: en este grupo se incluyen la enfermedad de Gaucher (EG), enfermedad de Niemann - Pick (NPD), enfermedad de Fabry, enfermedad de Farber, enfermedad de Tay Sachs, gangliosidosis, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Sandhoff y enfermedad de Krabbe.
- 2) Mucopolisacaridosis (MPS): síndromes de Hurler, Scheie, Hunter, Sanfilippo, Morquio, Sly y Danon.
- 3) Enfermedades por depósito de glucógeno: glucogenosis tipo II o enfermedad de Pompe.
- 4) Glucoproteinosis: sialidosis o mucopolipidosis I, fucosidosis, manosidosis, galactosialidosis, aspartilglucosaminuria, y enfermedad de Schindler.
- 5) Defectos en el procesamiento y transporte de las hidrolasas ácidas: déficit de lipasa ácida, mucopolipidosis II y III.

La herencia es autosómica recesiva en todas, excepto en la enfermedad de Fabry, la mucopolisacaridosis tipo II o enfermedad de Hunter, y la más reciente descrita enfermedad de Danon, ligadas al cromosoma X.

Este grupo de enfermedades afectan a un individuo de cada 5.000 ó 7.000 (1:5.000 ó 1:7.000), lo que supone de 200 a 300 casos para una población de 1.000.000 de habitantes (5,7). Se consideran dentro del grupo de enfermedades raras ya que afectan a menos de 1 de cada 5.000 personas. En las siguientes tablas: *Tabla 1*, *Tabla 2* y *Tabla 3*, se nombran las diferentes EDL ya descritas anteriormente, así como la enzima que está afectada y el fenotipo que presentan.

Tabla 1: EDL de esfingolipidosis, glucogenosis y defecto de hidrolasas ácidas, tomada de (3,4,6).

EDL	Tipos	Enzima deficiente	Fenotipo
Esfingolipidosis	E. Gaucher	β -glucocerebrosidasa	Histiocitosis de almacenamiento.
	NPD	Déficit de Esfingomielinasa	Almacenamiento de lípidos en las neuronas.
	E. Fabry	α -galactosidasa	Lipidosis/Opacidad corneal (mujeres).
	E. Farber	Ceramidasa ácida	Nódulos subcutáneos/Artritis/Afectación laríngea.
	E. Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Lipidosis neuronal.
	Gangliosidosis	β -galactosidasa	Lipidosis neuronal por mucopolisacaridosis.
	Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Leucodistrofia.
	E. Sandhoff	β -hexosaminidasa A y B	Lipidosis neuronal.
	E. Krabbe	Galactocerebrosidasa	Leucodistrofia.
Glucogenosis	E. Pompe	Glucosil Transferasa $\alpha(1\rightarrow4)$	Hipotonía grave, dificultades para tragar y amamantar, cardiomiopatía hipertrófica y hepatomegalia progresiva.
	E. Danon	LAMP-2	Debilitamiento de los músculos cardíaco y esquelético y discapacidad intelectual.
Defecto hidrolasas ácidas	Déficit lipasa ácida y E. de Wolman	Lipasa ácida	Hepatopatía crónica y enfermedad cardiovascular prematura.
	Mucopolipidosis II	Subunidades α y β del complejo de fosfotransferasas de la N-acetilglucosamina	Retraso en el crecimiento, anomalías esqueléticas, dismorfismo facial, piel endurecida, retraso en el desarrollo y cardiomegalia.
	Mucopolipidosis III	Polidistrofia pseudo-Hurler	Similar al síndrome de Hurler.

Tabla 2: EDL de las mucopolisacaridosis, modificada de (7).

EDL	Tipos	Enzima deficiente	Fenotipo
MPS	S. Hurler	α -1-Iduronidasa	Anomalías esqueléticas, deterioro cognitivo, enfermedad cardíaca, problemas respiratorios, hígado y bazo agrandados, rasgos faciales característicos y esperanza de vida reducida
	S. Scheie	α -1-Iduronidasa	Anomalías esqueléticas y retraso en el desarrollo motor
	S. Hunter	Iduronato sulfatasa	Rasgos faciales cortos distintivos, talla baja, afectación cardiorrespiratoria y anomalías esqueléticas
	S. San Filippo A/B/C/D	Heparán sulfato sulfatasa/N.Ac. α .D. Glucosaminidasa/ α -glucosaminidasa/N-acetiltransferasa/N.Ac.Glucosamina-6-sulfatasa	Deterioro mental y alteraciones del comportamiento (hiperquinesia, agresividad) y un dismorfismo muy leve
	S. Morquio A/B	Galactosa-6-sulfatasa/ β -galactosidasa	Epífisis displásica, estatura baja de aparición en la infancia, cuello corto, manos y pies cortos y regordetes, escoliosis, pelvis anormal, osteoporosis y osteoartritis
	S. Sly	β -glucuronidasa	Hepatomegalia, alteraciones neurológicas, retraso mental y baja estatura
	S. Maroteaux-Lamy	Arilsulfatasa B	Trastornos óseos múltiples, talla baja y defectos de visión por opacidad de la córnea

Tabla 3: EDL de La glucoproteinosi, modificada de (7).

EDL	Tipos	Enzima deficiente	Fenotipo
Glucoproteinosi	Sialidosis	N-acetil neuraminidasa	Anomalías de la marcha, pérdida visual progresiva, manchas maculares bilaterales, mioclonías, cara tosca, visceromegalia, disostosis múltiple y retraso del desarrollo.
	Fucosidosis	α -fucosidasa	Dismorfia facial, disostosis múltiple, hepatomegalia moderada, retraso mental severo, sordera, y de acuerdo a la edad, angioqueratomas.
	Manosidosis	α -manosidasa	Inmunodeficiencia, anomalías esqueléticas, discapacidad auditiva, trastorno progresivo de las funciones mentales y del habla y, con frecuencia, periodos de psicosis.
	Galactosialidosis	Neuraminidasa y β -galactosidasa	Edema, ascitis, hepatoesplenomegalia, trastornos neurológicos, fallo renal, dismorfismo facial y trastornos esqueléticos y oftalmológicos.
	Aspartilglucosaminuria	Aspartilglucosaminidasa	Afecta al intelecto a las habilidades cognitivas, al crecimiento y a la personalidad.
	E. Schindler	N-acetil- α -D-galactosaminidasa	Distrofia neuroaxonal de aparición infantil, angioqueratoma corporal difuso y afectación mínima del sistema nervioso, déficit intelectual y disfunción neurológica.

En la *Tabla 1*, en la enfermedad de Niemann-Pick (NPD), la de tipo C (NPC) es un tipo diferente de NPD, ya que NPC no se debe al déficit de una enzima

lisosomal, sino que se debe a un defecto en el transporte intracelular del colesterol. Estas clasificaciones de la NPD, así como las características de cada una, se describen con más detalle en el siguiente apartado.

El diagnóstico se lleva a cabo mediante pruebas diagnósticas específicas para cada una de ellas según las sospechas clínicas. Los diferentes procedimientos diagnósticos, quedan recogidos a modo de resumen en la *Imagen 1*.

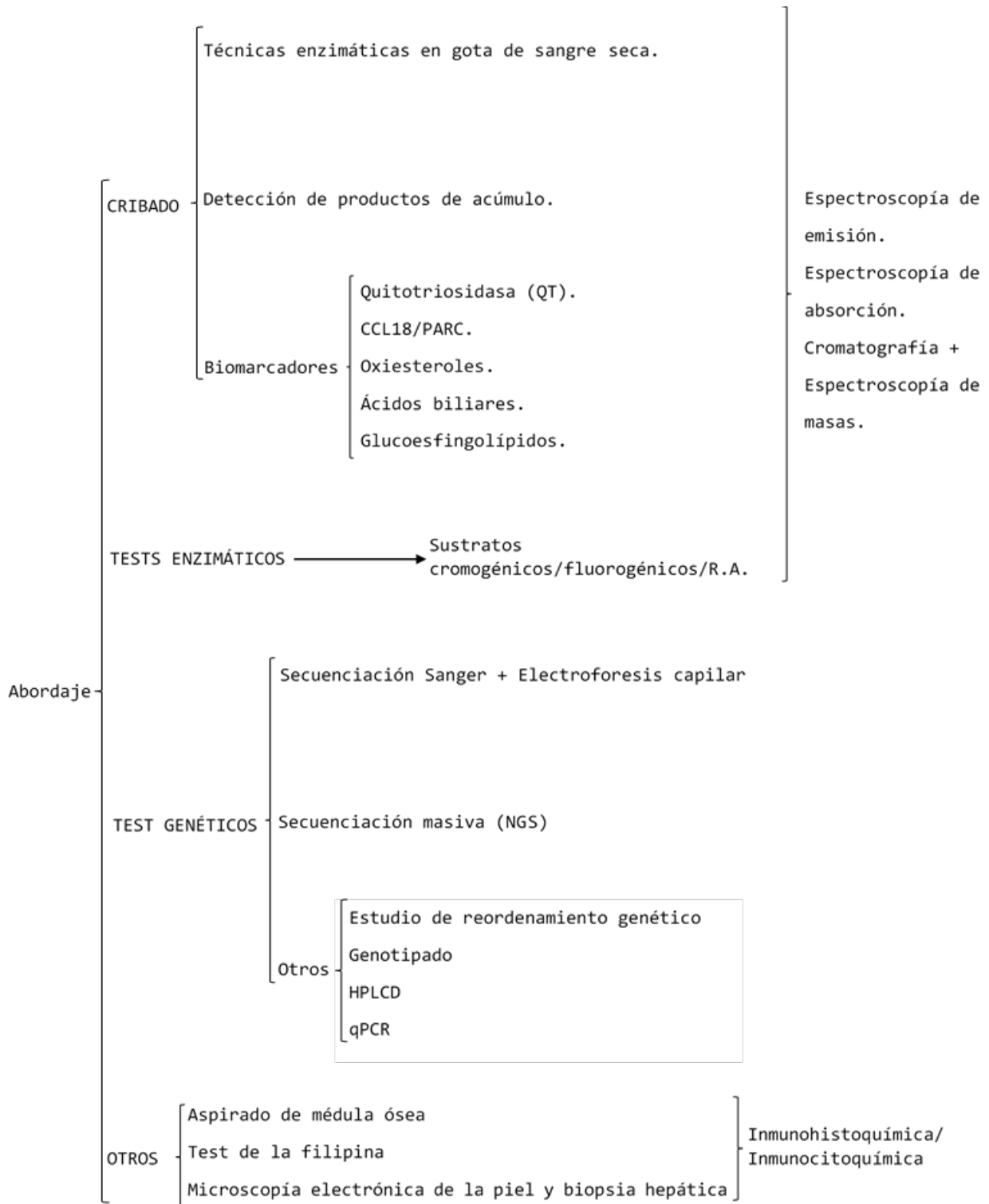


Imagen 1: esquema del abordaje de Laboratorio para la caracterización de Las EDL (autoría propia).

1.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DE DEPÓSITO LISOSOMAL:

1.2.1. Enfermedad de Niemann – Pick:

La enfermedad de Niemann-Pick se describió por primera vez en 1914 por el pediatra alemán Albert Niemann (1880 – 1921) en unos niños de origen judío (Ashkenazis), grupo étnico del centro y este de Europa (8); y en 1927 por Ludwig Pick (1868 – 1944) ya como una entidad propia diferenciada de otras enfermedades, en un estudio tisular diferenciándola de la EG (9). A Crocker le debemos la distinción, en 1961, de los cuatro tipos que hoy se estudian (A, B, C y D) (10). Posteriormente Brady en 1966 aisló la enzima lisosomal esfingomielinasa, cuyo déficit produce los tipos A y B de la enfermedad, denominada actualmente como déficit de esfingomielinasa. Los tipos C y D tienen como causa un defecto en el transporte intracelular del colesterol que se acumula en su forma libre sin esterificar, *Imagen 2*.

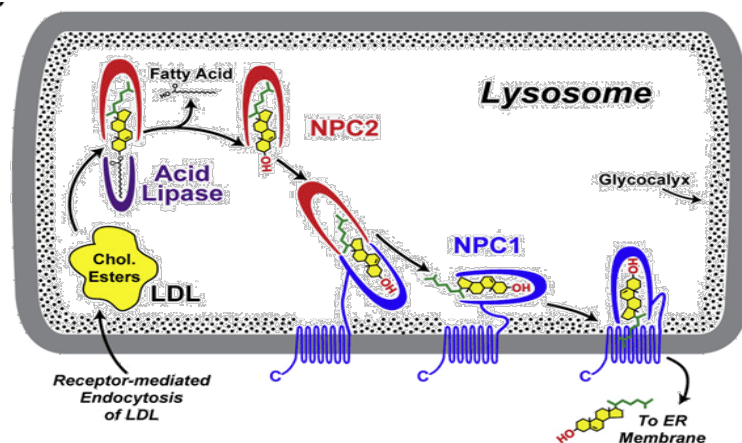


Imagen 2: representación gráfica de La Enfermedad de Niemann-Pick C, tomada de (11).

Las enfermedades del tipo NP, afectan a 1:150.000 nacidos vivos. Esta enfermedad, de carácter autosómico recesivo, se puede clasificar en dos tipos de enfermedades diferentes: el primer tipo serían aquellas en las que se producen mutaciones en el gen *SMPD1*, las cuales provocan una deficiencia en esfingomielinasa ácida (dichas mutaciones están presentes en NPA y NPB) y el segundo tipo serían aquellas en las que se producen alteraciones en el tráfico intracelular y en consecuencia alteraciones en el almacenamiento de lípidos con manifestaciones viscerales (NPB) y/o neurológicas. En este segundo grupo encontramos NPC y NPD, que son resultado de mutaciones en los genes *NPC1* o *NPC2* (12).

Genes afectados de la NPD: **SMPD** y **NPC**.

Déficit de esfingomielinasa: el gen mutado es el de la esfingomielinasa fosfodiesterasa - 1 (**SMPD1**), *Imagen 3*, el cual se encuentra en el cromosoma 11, brazo corto (p), banda 15, sub - banda 4 (11p15.4) con una longitud de 4,01 Kb. Las mutaciones de este gen suelen ser de cambio de sentido (65,4%) o del cambio del marco de lectura (19%). La mutación referida más frecuente en todo el mundo es p.R610del (cambio de una arginina por una delección (del) en la posición 610) claramente asociada con el fenotipo visceral (13). Otra variante que se relaciona a un fenotipo neurológico es Q292K, (14).



Imagen 3: posición en el cromosoma donde se localiza el gen **SMPD - 1**, tomada de (15).

NPC: consecuencia de la presencia de variantes en los genes **NPC1** y/o **NPC2**. A diferencia de otros tipos de EDL, no se debe a un déficit enzimático sino a alteraciones del transporte intracelular del colesterol, el cual es secuestrado en los lisosomas, provocando la formación de acúmulo de lípidos. En función del gen responsable del desarrollo de la enfermedad se puede clasificar en dos subtipos: **NPC1** y **NPC2**.

- **NPC1:** este gen se encuentra localizado en el cromosoma 18q11 - q2, *Imagen 4*, tiene un tamaño de 54,96 kb y se compone de 25 exones que codifican para una proteína de 1278 aa, (16), *Imagen 5*. La mutación más frecuente es p.I1061T, (17). También se han identificado unas variantes nuevas de este gen S666N y N961S, (18).

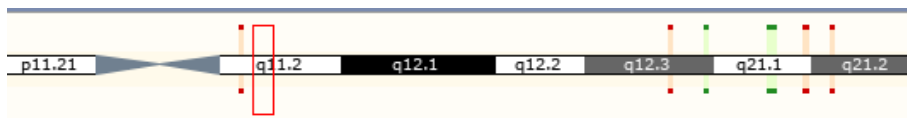


Imagen 4: posición en el cromosoma donde se localiza el gen **NPC1**, tomada de (15).

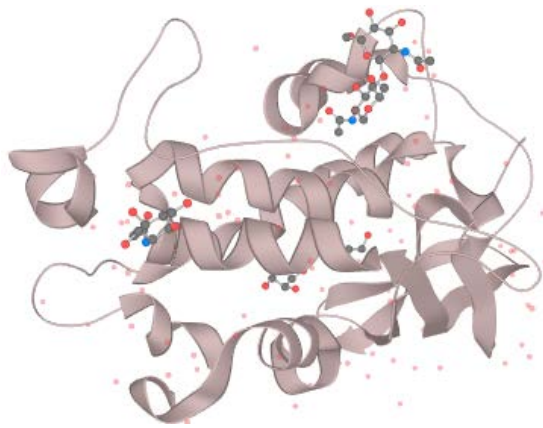


Imagen 5: estructura de La proteína NPC1, tomada de (19).

- **NPC2**: este gen se encuentra localizado en el cromosoma 14q24.3, *Imagen 6*, tiene un tamaño de 13,44 kb y se compone de 5 exones, que codifican para una proteína de 151 aa, (16), *Imagen 7*. Las mutaciones más frecuentes son 5: 3 mutaciones de cambio de sentido, 2 con codón de parada E20X y E118X y otro con un cambio de aa S67P; también es característico una delección de un par de bases, 27delG y una mutación de splicing, IVS2+5G→A, (20).

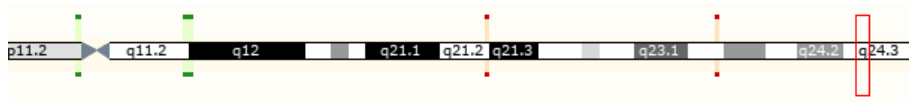


Imagen 6: posición en el cromosoma donde se localiza el gen NPC2, tomada de (15).

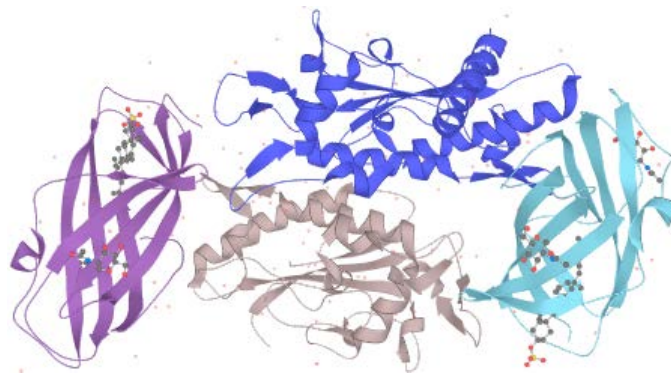


Imagen 7: estructura de La proteína NPC2, tomada de (19).

NPD: es una enfermedad grave del sistema nervioso central (SNC) caracterizada por la acumulación del colesterol y esfingomielina. Es más frecuente en el suroeste de Nueva Escocia, Canadá. Es similar a NPC en sus manifestaciones, considerándose una variante alélica de esta (21).

1.2.2. Enfermedad de Fabry:

La enfermedad de Fabry (EF) es una enfermedad de almacenamiento lisosómico ligada al cromosoma X, derivada de mutaciones en el gen que codifica la enzima α - galactosidasa, GLA, (22). Este tipo de mutaciones provocan una deficiencia en la enzima α - galactosidasa A, EC 3.2.1.22 (OMIM:300644) y una acumulación sistémica de glucoesfingolípidos y globotriosilceramida (Gb3) en el plasma y lisosomas de las células del endotelio de los vasos sanguíneos, nervios, tejidos y órganos a lo largo del cuerpo, (23). Fue descrita por Johannes Fabry (1860 - 1930) y William Anderson (1842 - 1900) en 1898, (24).

Esta enfermedad afecta a 1:80.000 nacidos vivos varones, pero este dato puede subestimar la prevalencia de la enfermedad. Cuando se han considerado variantes de aparición tardía, se ha sugerido una prevalencia de 1:3.000. Esta enfermedad es panétnica, es decir, que se da en todas las etnias (ORPHA:324, OMIM:301500), (7).

La mutación del gen *GLA*, da como resultado una enfermedad sistémica, por depósito preferente en los lisosomas de las células endoteliales, manifestándose como un fallo renal progresivo, enfermedades cardíacas y cerebrovasculares, neuropatías de las fibras finas nerviosas periféricas y angioqueratomas en la piel, así como otras anomalías, (25).

Se ha referido una variante atípica de la EF en la que una enfermedad cardíaca, específicamente una hipertrofia del ventrículo izquierdo, con o sin fallo renal, se desarrolla en los primeros seis años de vida, (26).

Aunque la EF estaba considerada previamente a una mutación recesiva en el cromosoma X las mujeres heterocigotas no deberían ser llamadas portadoras de la enfermedad, ya que pueden desarrollar los síntomas de la misma si el cromosoma X en el que se localiza el gen *GLA* no está inactivado, y este término subestima la gravedad de la enfermedad en estos pacientes, (27).

Todas las hijas de un hombre afectado heredarán un cromosoma X anómalo del padre y un cromosoma X normal de la madre. La presencia de un cromosoma X normal y otro alterado hace que los síntomas de la EF no siempre aparezcan o que, si lo hacen, suelen tardar más que en los varones. Los síntomas de la EF también pueden ser menos graves que en los varones, por lo que, a veces, es

más difícil reconocer la enfermedad en las mujeres. Todos los hijos de un hombre afectado, heredarán un cromosoma Y del padre y el cromosoma X de su madre y, en consecuencia, no sufrirán la enfermedad. En una situación, en la que la madre padezca la EF, la probabilidad de que la descendencia también la padezca es del 50%. Si los hijos varones heredan el cromosoma X alterado de la madre, manifestarán los síntomas, pero si heredan el cromosoma X normal de la madre, no lo harán. Si las hijas heredan el cromosoma X anómalo, podrán, o no, desarrollar los síntomas de la EF, (28). Se puede vislumbrar mejor resumido en la *Imagen 8*.

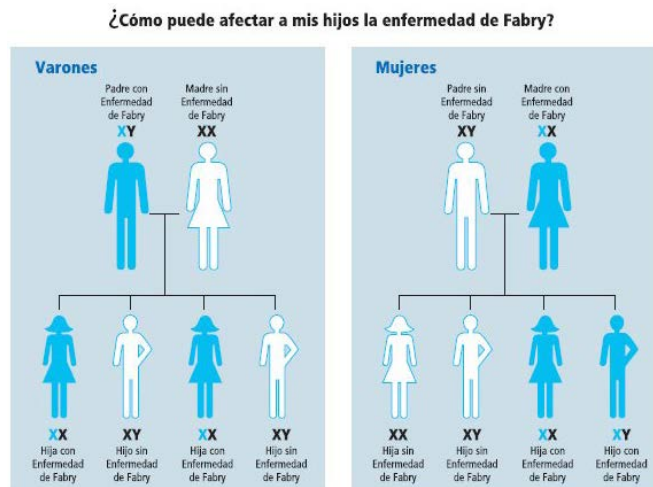


Imagen 8: EF ligada al cromosoma X, tomada de (29).

Gen afectado: **GLA** o **GALA** (galactosidasa alfa).

GLA: codifica para una glucoproteína homodimérica que hidroliza la parte terminal α - galactosilo de glucolípidos y glucoproteínas. Esta enzima hidroliza principalmente ceramida trióxido, y puede catalizar la hidrólisis de melibiosa en galactosa y glucosa (OMIM:301500), *Imagen 9*.

Enfermedad de Fabry

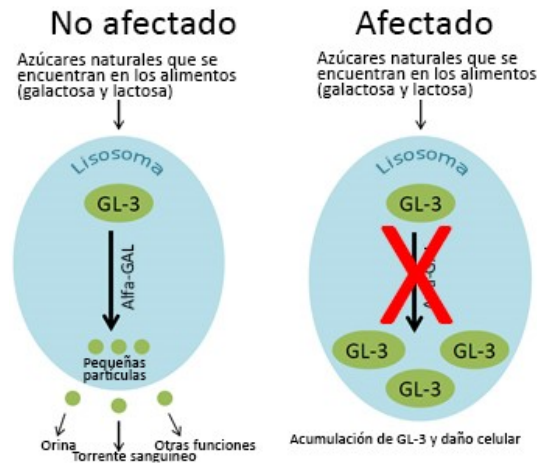


Imagen 9: funcionamiento normal vs. mutación en el gen GLA, tomada de (30).

El gen *GLA* se encuentra localizado en el cromosoma Xq22.11, se compone de 7 exones con una longitud de 10,15 Kb, *Imagen 10*, que codifican para una proteína de 429aa, *Imagen 11*.

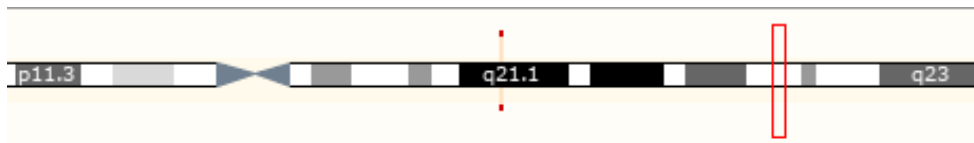


Imagen 10: posición en el cromosoma donde se localiza el gen GLA, tomada de (15).

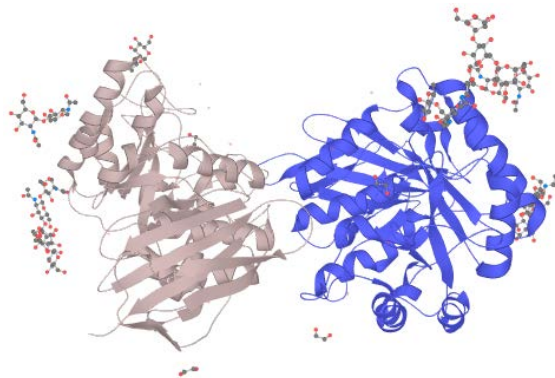


Imagen 11: proteína α - galactosidasa, tomada de (19).

Hasta la fecha, se han descrito más de 900 mutaciones en este gen. La acumulación de globotriaosilesfingosina (Gb3 y su forma acetilada LysoGb3) fue encontrada en todos los pacientes varones con una mutación responsable de la clásica o tardía EF. En años recientes, la confusión sobre la patogenicidad de algunas mutaciones permite establecer una asociación entre la EF y las mutaciones consideradas como no causales. El estudio realizado por Duro G. et al, (31), muestra que la identificación de los pacientes con EF es posible si

se realiza una historia clínica, un análisis del gen *GLA* y α - *GAL A*, y una acumulación en sangre de LysoGb3, el cual es un marcador importante y muy útil para confirmar el diagnóstico de la EF.

1.2.3. Enfermedad de Gaucher:

1.2.3.1. Concepto:

La EG es una enfermedad de acumulación lisosómica con un patrón de herencia autosómico recesivo, caracterizada por una interrupción en el metabolismo normal de los glucocerebrósidos (GluCer) causada por la disminución en la actividad de la enzima hidrolasa lisosomal β - glucocerebrosidasa (GC, EC 3.2.1.45), (32).

1.2.3.2. Historia:

La EG fue descrita por primera vez por el médico francés Philippe Charles Ernest Gaucher (1854 - 1918) en su tesis doctoral titulada “De l’epithélioma primitif de la râte; hypertrophie de la râte sans leucémie (1882)”, en donde relataba la autopsia de una mujer de 32 años de edad con esplenomegalia, (33), que él atribuyó a un tumor del bazo con infiltración del parénquima por células con un núcleo grande. Esta observación clínica, con el paso de los años, dio lugar a la comprensión de la enfermedad y los síntomas característicos, tales como hepatomegalia y citopenia, que fueron reconocidos como patognomónicos de la enfermedad, llamada posteriormente EG, (34).

En 1905, fue Brill quien le puso el nombre de EG, cuando hizo el primer diagnóstico *premortem* de un paciente con este trastorno. Posteriormente se descubrieron las características metabólicas y la naturaleza grasa del material, glucocerebrósido, almacenado en las células esplénicas grandes y espumosas, (35). En 1907 Marchand observó la presencia de un material de tipo hialino en la llamada esplenomegalia idiopática de EG tipo 1, (36), y sugirió que la deposición de ciertas sustancias no identificadas existentes en las células del retículo sería el origen de todo el proceso atendiendo a la naturaleza metabólica de la EG. En 1916 Mandelbaum y Downey sugirieron la naturaleza lipídica del material acumulado en las células, (37). Progresivamente se fue avanzando en el conocimiento identificando nuevos pacientes y subvariedades clínicas. En 1924, se concreta por primera vez que

las células de gran tamaño que se visualizan en la biopsia o el aspirado medular de los pacientes almacenan material glucolipídico, concretamente un esfingolípido, intuyendo entonces que el problema posiblemente fuera provocado por una anomalía en el metabolismo celular, (38). En 1927, Oberling y Woringer reconocieron una forma infantil de la enfermedad que afectaba al SNC, posteriormente reconocida como forma neuronopática aguda de la EG tipo 2, (39). En 1934, el compuesto aislado por Lieb en 1924 fue identificado por el médico francés Aghion como glucocerebrósido, (38). En 1956, estudiando tejido cerebral y del cordón espinal, se llegó a la conclusión de que el principal componente de dicho tejido era un galactocerebrósido, y que con elevada probabilidad las células de Gaucher eran consecuencia de un acúmulo por fallo en el metabolismo de los carbohidratos, hipótesis que fue descartada tras la demostración de normalidad en el test de tolerancia a galactosa, quedando relegado el defecto al componente lipídico. El estudio de cortes histológicos de tejido esplénico en pacientes afectados, comparado con los de sujetos normales marcados con glucosa-C14 o galactosa-C14, demostró que los pacientes podían incorporar glucocerebrósido y galactocerebrósido, deduciendo por tanto que el defecto no está en el proceso anabólico, sino en el catabólico, (40). En 1964, Groen sugería la herencia autosómica dominante, (41), pero los estudios poblacionales de Fried y Hsia et al. establecieron la herencia autosómica recesiva de los tipos 1 y 3 de la EG, (42,43). Estudios moleculares y genéticos posteriores identificaron las mutaciones más comunes que producen la EG. En 1965 las investigaciones del grupo de Brady en el NIH (National Institutes of Health) (USA) consiguieron identificar la enzima b-glucocerebrosidasa y determinar por primera vez su actividad en tejidos, demostrando ausencia o gran disminución de actividad de esta enzima en los pacientes con EG, (44). En 1968, Weinreb et al. establecieron la localización lisosomal de la enzima GC, incluyendo así a la EG en la familia de las EDL, (45). En 1971, Ho y O'Brien encontraron un activado de la enzima de bajo peso molecular, que se demostró que era de gran importancia en la actividad enzimática de la GC, la saposina C, (46). En 1974, Brady et al. publicaron los resultados de un estudio llevado a cabo con dos pacientes en el que demostraron datos sobre cómo la infusión intravenosa de GC derivada de la placenta humana podía reducir la cantidad de glucocerebrosidasa, (47). En 1977, De Duve propuso que las deficiencias enzimáticas lisosomales podían tratarse con efectividad mediante infusiones de las enzimas, (48). Sin embargo, tras los primeros intentos realizados al respecto el éxito no fue el esperado debido a que probablemente no se había desarrollado un método para vehiculizar la enzima al interior de los macrófagos, (49). En 1978, se descubrió un mecanismo de receptor glicoproteico de los macrófagos que se convirtió en la base del desarrollo del tratamiento específico mediante sustitución

enzimática dirigida a los macrófagos, (50). En 1981-1988, Shafit-Zagardo et al. localizaron el gen que codifica la GC en el cromosoma 1, locus 1q21, (51). Entre los años 1974 y 1988, fueron clonados y caracterizados el ADN codificante del gen GBA, el gen estructural y un pseudogen no procesado, (52,53,54,55). La primera mutación sin sentido se identificó en 1987, y demostró ser frecuente en las variantes neuronopáticas, (56). En 1991, fue obtenida la Alglucosara (Ceredase®. Lab. Genzyme) y fue aprobada por la FDA como medicamento huérfano en ese año. Los trabajos llevados a cabo por Barton y Brady entre otros investigadores, avalaron la eficacia del tratamiento con enzima exógena en pacientes con EG, constituyendo la primera terapia de reemplazo enzimático (TRE). La enzima obtenida fue modificada de tal manera que se alteraron los azúcares terminales de las cadenas de oligosacáridos para convertirlos en manosas, que son específicamente reconocidas por los receptores de carbohidratos de la membrana plasmática de los macrófagos, (57). En 1994, mediante ingeniería genética, se obtuvo la enzima Imiglucerasa, a partir del cultivo de células de ovario de hámster chino CHO, Chinese Hamster Ovarium, (Cerezyme®. Lab. Genzyme), *Imagen 12*, que fue aprobada por la FDA en ese año y estudiada su eficacia por distintos investigadores quienes observaron cómo revertían las citopenias, se reducían las organomegalias y disminuía la infiltración en la médula ósea, (57,58,59). Por otra parte, los efectos beneficiosos experimentados por los pacientes tratados, se ponen de manifiesto en diversos estudios que evalúan la calidad de vida, (60,61,62,63).

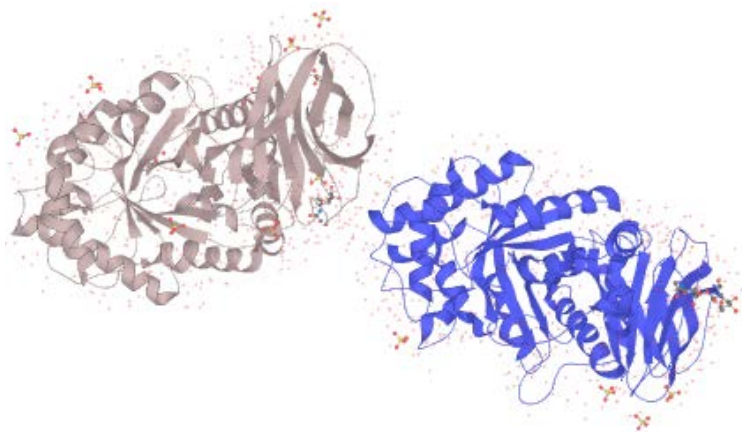


Imagen 12: estructura de la proteína recombinante imiglucerasa, tomada de (19).

En el año 2000, se desarrolla un tratamiento alternativo denominado terapia por reducción de sustrato (TRS), que consiste en disminuir la síntesis de glucosilceramida inhibiendo a la enzima glucosilceramida sintasa con lo que se evita la formación de sustrato; miglustat fue el primer tratamiento de administración oral derivado de un azúcar que ha demostrado en más de 15 años

de experiencia su eficacia para controlar los síntomas de los pacientes con formas leves o moderadas de la enfermedad, (64). Miglustat es aprobado en Europa en 2002 y en EE.UU. en 2003 para el tratamiento de pacientes adultos con el tipo 1 de la EG leve o moderada que no sea susceptible de TRE (Zavesca®, Actelion Pharmaceuticals). En 2010, se obtiene la enzima velaglucerasa (VPRIV®, Shire®) mediante cultivo de fibroblastos humanos, cuya secuencia de aa es idéntica a la natural y comercializada durante ese año después de los resultados positivos obtenidos en los estudios pivotaes, (65). En 2011-2012, se obtiene una tercera enzima a partir de células transgénicas de la zanahoria, la taliglucerasa alfa (Uplyso®, Elelyso®, Protalix/Pfizer) autorizada para su administración en EE.UU., Brasil, Israel, México, Australia y otros países de Latino-América en 2012, (66). En 2013, se encuentran en desarrollo otras aproximaciones terapéuticas como la GC oral PRX-112, a partir de la enzima obtenida por ingeniería genética en células vegetales, (67). En 2014, en los últimos años se ha desarrollado un nuevo fármaco como TRS análogo de la ceramida: eliglustat tartrato (Cerdelga® Sanofi Genzyme corp.) autorizado recientemente por las agencias reguladoras de EE.UU. y UE., para el tratamiento de los pacientes adultos con EG de tipo 1. Los ensayos clínicos realizados avalan la eficacia y seguridad del fármaco, (68). En la actualidad se encuentra en fase de ensayos clínicos la terapia génica tanto *ex-vivo* como *in-vivo*, con el objetivo de evitar las complicaciones más graves de la enfermedad (neurológicas y óseas), (69).

Hay que tener en cuenta que los pacientes afectados de EG pueden padecer otras enfermedades que son comunes entre la población, como hipertensión arterial (HTA), diabetes y depresión. Sin embargo, hay entidades que están relacionadas con la propia enfermedad, y cuya incidencia en este grupo es superior a la de la población general, como la colelitiasis, la enfermedad de Párkinson y las neoplasias, sobre todo de origen hematológico, (3,70,71).

La EG es considerada una enfermedad rara en la población general y pertenece al grupo de las EDL, siendo la más frecuente de las mismas con una prevalencia aproximada de 1:70.000-1:100.000 habitantes (72). Otros autores sugieren que la incidencia en la población es de 1:40.000-1:86.000 habitantes (73). Según *Orphanet* la prevalencia estimada en global, es de 1:100.000 mientras que la incidencia de la EG en la población en general es de alrededor de 1:60.000 habitantes, pero puede llegar a ser de 1:1.000 entre los judíos Ashkenazis, (7).

1.2.3.3. Gen afectado, GBA (glucosilceramidasa- β -ácida):

El gen *GBA* se encuentra localizado en el cromosoma 1q21-31, con una longitud de 6,78 kilobases (kb), *Imagen 13*. Se compone de 11 exones, que codifican para una proteína de 563 aa y 10 intrones, *Imagen 14*. En el año 1989, Horowitz y colaboradores describieron la secuencia completa del gen y de un pseudogen, una copia casi exacta del gen estructural, (55). A 16 kb del extremo 3' del gen *GBA* se encuentra su pseudogen, de 5,8 kb el cual posee una homología del 96% con el gen estructural.



Imagen 13: Localización en el cromosoma del gen GBA, tomada de (15).

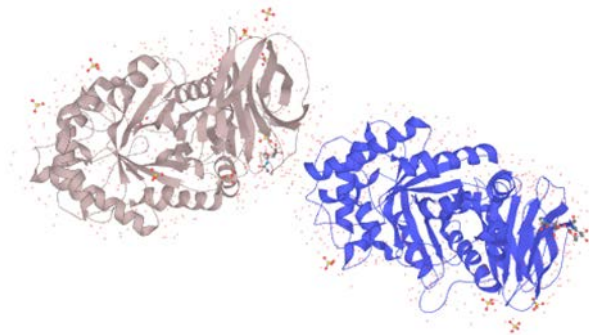


Imagen 14: estructura proteica de La GBA, tomada de (19).

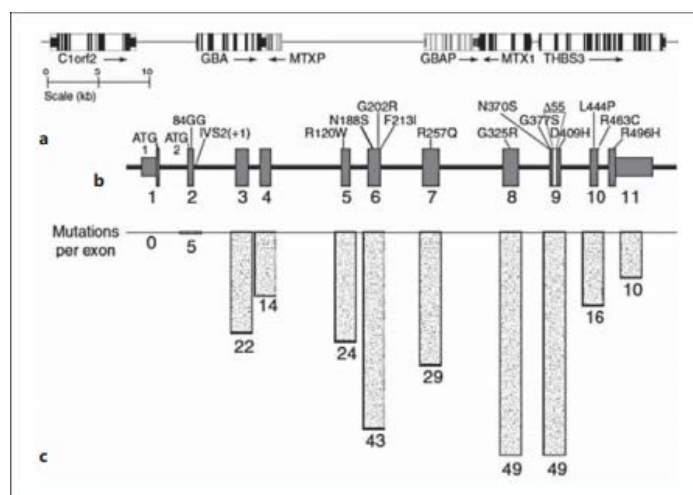


Imagen 15: Localización y distribución en exones e intrones del gen GBA y de su pseudogen, tomada de (3). a) se observa la región de 62 kb, la cual conforma el gen a lo largo del cromosoma 1q mostrando los genes y pseudogenes, así como su dirección de transcripción. C1orf2: cromosoma 1 open Reading frame 2 (cote1); MTXP: pseudogen de la metaxina 1; GBAP: pseudogen de la GC; MTX1: metaxina 1; TBSH3: tromboespondina 3; b) se observa la estructura exónica del gen GBA, con las dos ATGs y las posiciones de las 15 mutaciones más comunes; c) observamos el número de sustituciones, deleciones, inserciones y mutaciones splice-site por exón mencionadas.

Se conocen más de 400 mutaciones de la enzima que reducen total o parcialmente la actividad catalítica de la GC, o bien que disminuyen su estabilidad, (74). La EG, en algunos casos menos frecuentes, es ocasionada por mutaciones en el gen de la prosaposina, que codifica la proteína saposina C (Sap C, *sphingolipid activator protein*), la cual es un cofactor requerido para el óptimo funcionamiento de la GC, y cuya ausencia elimina completamente la actividad de la GC por lo que estos casos se manifiestan como formas graves de la EG (75,76,77,78).

La saposina C es una de las cuatro proteínas homólogas derivadas de la escisión secuencial del precursor de la proteína, la prosaposina. Es un activador esencial de la GC, enzima deficiente en la EG. La variabilidad fenotípica observada ha llevado a una búsqueda de modificadores de la enfermedad que pueden alterar el fenotipo de la EG. El gen de la PSAP que codifica para la prosaposina C es el principal candidato modificador para la EG. En humanos, la deficiencia de saposina C, debido a las mutaciones en el gen PSAP, dan como resultado un fenotipo similar al de la enfermedad de Gaucher a pesar de la actividad normal *in vitro* de la GC. La deficiencia de saposina C, también ha demostrado que modifica el fenotipo en un modelo de ratón con la EG. El papel de la saposina C como activador, asegura una función normal de la GC y las consecuencias en la deficiencia de saposina C se describen y se están explorando como posibles factores de modificación en pacientes con la EG, (79).

La saposina C es una pequeña molécula de 80 aa que interacciona directamente con la enzima GC aumentando su actividad y protegiéndola de la proteólisis celular. Simulaciones estructurales indicaron que las GC mutadas N370S, V394L, D409V y D409H tenían la función alterada. Para investigar la función *in vivo* de los mutantes de *GBA*, los modelos de ratón fueron generados mediante retrocruzamiento de ratones mutantes homocigotos para GC con ratones deficientes en saposina (C*). Sin saposina C, la actividad de los mutantes para la GC en los tejidos del ratón estaba disminuida en un 50%, aproximadamente, comparados con aquellos que tenían la presencia de la saposina C. En contraste con los ratones que tenían las mutaciones D409H y V394L, los cuales tenían una histología y períodos de vida normales, los ratones D409H/C* y V394L/C* tenían períodos de vida más cortos. Los ratones D409H/C*, desarrollaron un acumulo visceral significativo de GC y glucoesfingosina (GS) en almacenamiento de los macrófagos, pero una menor cantidad de GC en el cerebro, en comparación con los ratones V394L/C* que presentaban un fenotipo severo neuropático y acúmulo de GC y GS en el cerebro. A diferencia de los ratones que presentaban la mutación D409V y que se desarrollaban normalmente por más de un año, las crías D409V/C* tenían un defecto letal en la piel al igual que aquellas que tenían la mutación N370S/C* pareciéndose a los ratones N370S. Estas variantes de los modelos de ratones con EG, subrayaron el papel *in vivo* de la saposina C en la modulación de la EG, (80).

Desde el punto de vista genético, las mutaciones de la EG se pueden clasificar en dos grupos: las producidas por un evento en la recombinación entre el gen y el pseudogen (suelen encontrarse en pacientes con la EG que tienen alelos no funcionales denominados alelos recombinantes (Rec)) y las que se producen por otros motivos, habitualmente cambios mínimos como transiciones, transversiones, deleciones o inserciones de un solo nucleótido. Si la mutación es una deleción o inserción, un cambio de codón de aa por uno de parada, o en algunos casos, una mutación de *splicing*, dará lugar a una menor cantidad de la enzima GC. Los alelos con este tipo de mutaciones son denominados nulos. En algún caso se produce una sustitución de un aa por otro, produciéndose una activación anormal por parte de la saposina C o por los fosfolípidos, como en el caso de la mutación N370S. Se ha encontrado que la frecuencia de los pacientes con EG y los portadores heterocigotos que desarrollaron la enfermedad de Párkinson (EP) es superior a la de la población control. Este hecho sugiere que la mutación en el gen *GBA* puede estar involucrada en el origen de la EP. Las proteínas mutantes del gen *GBA* dan lugar a niveles aumentados de α - sinucleína, mientras que, por otro lado, también se ha demostrado una inhibición del *GBA* por α -

sinucleína. Se ha demostrado que la saposina C, un coactivador de *GBA*, protege al gen de esta inhibición. Entre las variantes del gen asociadas con la EP, la E326K parece ser una de las más prevalentes. Curiosamente, esta variación, está involucrada en la EG sólo cuando forma parte de un alelo doble mutante, generalmente con la mutación L444P. Análisis estructurales han revelado que ambos residuos (E326K y L444P) interactúan con la saposina C y, probablemente, también con la α - sinucleína. Esto podría explicar el papel antagonista de estas dos proteínas con el gen *GBA*, (81).

Las cuatro mutaciones en el gen *GBA* asociadas con la EG, con una frecuencia elevada en todas las poblaciones estudiadas, son: N370S, L444P, 854GG y IVS2+1G>A en los pacientes de origen Ashkenazi, las mutaciones N370S y 84GG representan el 73 y el 11% respectivamente de los alelos mutados, (82,83).

Los análisis de mutaciones en el gen *GBA* asociadas con la EG llevados a cabo en pacientes españoles indican que la mutación N370S es la más frecuente, con un porcentaje aproximado del 45%, siendo éste, intermedio entre las poblaciones judía y no judía. La segunda mutación más frecuente en España es la L444P (23%). Otras mutaciones presentes en nuestro país, con considerable frecuencia son: G377S, D409H y ciertos alelos de recombinación, (84,85,86,87,88). Otro estudio indica que las mutaciones N370S y L444P constituyen el 0,9% de las frecuencias alélicas en la población española, (89).

La EG es un error hereditario del metabolismo debido a la deficiencia de la GC. Ello conlleva a un acumulo excesivo de glucocerebrósidos en el hígado, bazo, hueso y médula ósea. Los pacientes pueden desarrollar anemia, trombocitopenia, hepatoesplenomegalia, infartos óseos, necrosis aséptica del hueso y osteoporosis. Existen tres tipos de EG los cuales se desarrollarán a continuación.

1.2.3.4. Tipos de la enfermedad de Gaucher:

- Tipo 1: esta variante de la EG se caracteriza por manifestaciones viscerales, hematológicas y esqueléticas. Los signos y síntomas son hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, anemia, complicaciones óseas y fatiga, (90). Este tipo, es la forma más frecuente y supone más del 90% de los casos en Europa y EE.UU.

En ocasiones, la enfermedad ósea o hematológica de la EG puede provocar fracturas que desencadenan complicaciones neurológicas por compresión sobre la médula espinal o el sistema nervioso periférico. También pueden ser secundarias a mieloma múltiple u osteomielitis asociadas a la EG. Estas alteraciones se presentan con una frecuencia que oscila, según las series, entre el 7 y el 17% de los casos, (91,92).

Existen varias publicaciones que han descrito a pacientes con EG tipo 1 con alteraciones subclínicas de los movimientos oculares u otros síntomas neurológicos no descritos en las formas neuronopáticas. Estas descripciones alteran la clasificación tradicional de la enfermedad, no se correlacionan con el mal pronóstico ligado a la enfermedad neurológica en la EG y, en ocasiones, su evolución se puede modificar con el tratamiento, (32).

Los pacientes con EG tipo 1, suelen aquejar síntomas del sistema nervioso periférico con relativa frecuencia, (91,93). Hasta el 73% de los pacientes descritos por Pastores et al. (94), presentaban temblor, debilidad muscular, calambres o ciática y, especialmente, parestesias en las extremidades inferiores. El estudio clínico y electrofisiológico también demuestran la mayor incidencia de polineuropatía en este tipo de pacientes, (95). La incidencia de polineuropatía en la población general se ha estimado entre 0,09%-1,3%. En el mayor estudio realizado en una cohorte de EG no sometida a tratamiento (o únicamente con TRE), la prevalencia fue del 10,7%, (96), observándose que el curso clínico de la EG era en estos casos, más leve.

Existen ciertas comorbilidades que pueden llegar predisponer a desarrollar la neuropatía, incluyendo gammapatía monoclonal, diabetes y déficit de vitamina B12, (94,97,98,99). Sin embargo, estas enfermedades no se presentan en la mayoría de las polineuropatías ligadas a la EG.

El hueso es la segunda estructura orgánica más afectada de la EG tipo 1, desconociéndose por qué es una localización predilecta en algunos pacientes y sin embargo en otros no hay indicadores de acúmulo en el esqueleto. Las células de Gaucher infiltran la médula ósea en grupos irregularmente distribuidos con fibrosis pericelular en forma de fibras de reticulina, lo que en ocasiones condiciona la dificultad para la realización del aspirado y contribuye a la presencia de anemia, trombocitopenia y leucopenia. El acúmulo de células de Gaucher en médula

ósea provoca remodelación en la estructura del hueso con deformidad y complicaciones intraesponjosas vasculares graves, condiciona el desplazamiento del tejido hematopoyético, originando citopenias periféricas que pueden ser acusadas y cuadros hemorrágicos graves derivados principalmente de la trombocitopenia, aunque también pueden producirse deficiencias de alguno de los factores plasmáticos de la coagulación que contribuyen a la aparición de equimosis y sangrado ante mínimos traumatismos, (100).

- Tipo 2 o neuronopática aguda: es sin duda la enfermedad más grave en este tipo de patología. Los problemas neurológicos se presentan prácticamente desde el nacimiento entre los 2 ó 3 meses de edad, así como las visceromegalias. La tasa de mortalidad es muy alta y la mayoría de los pacientes fallecen antes de los 2 años de edad por complicaciones como la bronconeumonía recurrente, (101).

Todo esto se caracteriza por la dificultad para alimentarse por disfagia, espasmo laríngeo y estrabismo por lesión oculomotora (existe compromiso de los centros motores bulbares). La aparición de convulsiones es frecuente y, como el deterioro cerebral es rápidamente progresivo, el paciente presenta desnutrición y, en los estadios finales, opistótonos, retroreflexión cefálica, espasticidad y *trismus* (por involucración piramidal), llegando a la cuadriparesia espástica, (102,103).

Las visceromegalias son muy importantes y llegan a abarcar casi todo el abdomen; secundario a esto, los pacientes desarrollan hepatopatía crónica con insuficiencia hepática y sus consecuencias. Así también, el hiperesplenismo crónico ocasiona, por un lado, plaquetopenia severa, que es causa de sangrados e inmunodeficiencia secundaria. Hay retraso del crecimiento hasta el 78% de los casos, (104).

Se ha descrito para este tipo de presentación una forma fatal, con evolución fulminante después del parto con ictiosis cutánea e *hidrops fetalis*, (105,106).

Dentro de esta forma se describen dos subgrupos:

- Con nula o breve involucración del tracto piramidal, irritabilidad y alteraciones cognitivas.

- Con marcada evidencia de afección del tracto piramidal y graves alteraciones cognitivas; este signo es de mal pronóstico, ya que ocasiona la muerte temprana, (106).

Además de las alteraciones neurológicas, el aumento continuo del cociente GC/ceramida ocasiona hiperqueratosis, hiperplasia epidérmica y paraqueratosis con ausencia de la capa granular. Además, hay acúmulo masivo de células de Gaucher en los alveolos y capilares pulmonares, que originan fibrosis e hipertensión arterial pulmonar, (107).

Los pacientes con EG tipo 2, dado lo agudo de su evolución, fallecen en un alto porcentaje antes del año de edad y no reciben TRE, ya que la respuesta es nula, (108).

- Tipo 3 o neuronopática subaguda: inicialmente fue reportada en Suecia en la provincia de Norrbotten. Se refiere a una variante intermedia entre los tipos 1 y 2. Se presenta con una incidencia estimada de 1:200.000 habitantes. Puede iniciarse en la infancia, en la niñez o en el adulto joven, 30%, (108).

Aquí se incluyen todas las formas de presentación con afección neurológica que no están en la forma de tipo 2 o aguda. Presenta por esto una gran variabilidad clínica en el momento de su presentación y en la gravedad de su cuadro clínico, con progresión lenta. La mutación causante es L444P, (109,110). Cuando se presenta en homocigosis, las manifestaciones sistémicas son muy graves, pero sólo la mitad de estos pacientes tiene anormalidades neurológicas.

Algunos pacientes expresan patologías como hepatoesplenomegalia, anemia, trombocitopenia, y alteraciones esqueléticas. Otros, con parálisis supranuclear, apraxia oculomotora, crisis convulsivas mioclónicas, retraso en el crecimiento y pobre ganancia de peso. Otros más, con alteraciones pulmonares, hipertensión pulmonar, cirrosis hepática con varices esofágicas y retraso psicomotor, (111,112).

Existen tres subtipos:

- Tipo 3A: corresponde al fenotipo observado en la forma norrbottiana: tiene un debut tardío (infancia, adolescencia), con moderada

afectación visceral y alteraciones neurológicas lentamente progresivas, pero de evolución severa con demencia y ataxia, (108).

- Tipo 3B: de inicio precoz con escasas manifestaciones neurológicas como: oftalmoplejía, parálisis supranuclear horizontal, epilepsia, ataxia, espasticidad y deterioro intelectual; además de manifestaciones viscerales predominantemente progresivas y agudas, con hipertensión portal y pulmonar. Fallecen hacia la tercera década de la vida, (32).
- Tipo 3C: con presentación precoz. Hay parálisis oculomotora aislada, además de lesión visceral. Característicamente presentan valvulopatía mitral y/o aórtica, sobre todo en pacientes con mutación homocigota D409H, (106,113).

El tratamiento para la EG tipo 3 revierte las manifestaciones tisulares fuera del SNC, ya que la enzima administrada no atraviesa la barrera hematoencefálica, (102,103,104,114,115).

Esta variabilidad en el tratamiento se ha debido a la heterogenicidad genética, así como a la edad de inicio del tratamiento y a la respuesta a él, que puede ser positiva en algunos casos, aunque algunos autores coinciden en que más que nada es la evolución de este tipo, (108,116,117,118).

En este caso, la utilización del tratamiento con reductores de sustrato o chaperonas puede ser necesaria para coadyuvar en el manejo, (119,120); sobre todo en los casos con la mutación L444P en homocigosis y la D409H. Los pacientes con otro tipo de mutaciones tienen rápidamente degeneración neurológica, sobre todo con aparición de epilepsia mioclónica, (105,110).

Se debe considerar de alto riesgo para su futura evolución, a todo el grupo de pacientes con manifestaciones clínicas neurológicas. Hay reportes de mutaciones nuevas y agravamiento de epilepsia mioclónica, (109,110), así como de lesiones oculares importantes, (111).

Las manifestaciones osteo-articulares se encuentran a menudo entre los primeros síntomas y contribuyen de manera considerable a la morbilidad

y minusvalía asociada a la EG, (121). Los síntomas esqueléticos en la EG son variados. Pueden limitarse a un fallo asintomático del remodelado óseo (deformidad en forma de matraz Erlenmeyer) *Imagen 16*, pero también pueden producirse infartos medulares y corticocancellosos, fracturas vertebrales, osteonecrosis de las cabezas femoral y humeral y colapso vertebral, (122).

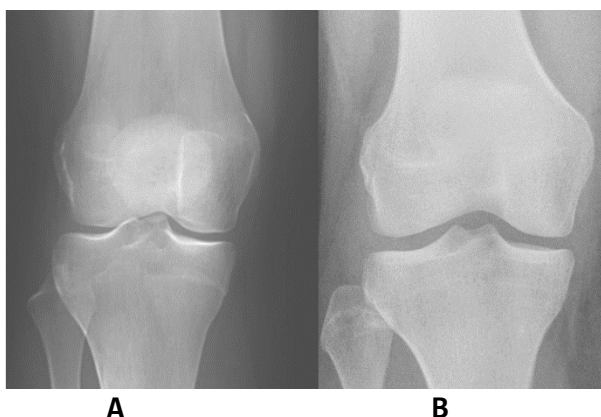


Imagen 16: hueso en forma de matraz Erlenmeyer característico de La EG. Explicación de la imagen: esta imagen es una comparativa entre un hueso normal sano, (A), y un hueso con la deformación característica en Erlenmeyer (B), tomada de (123).

En la *Tabla 4* se encuentran resumidas las distintas variantes de la EG:

Tabla 4: resumen de Los diferentes tipos de La EG, tomada de (121).

Manifestación	Tipos				
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3A	Tipo 3B	Tipo 3C
	Edad inicio años	> 1	< 1	> 10	< 5
Visceromegalias	++	±	±	+++	+
E. Óseas	++	-	-	+++	-
E. Valvular cardíaca	-	-	-	-	+++
Afectación SNC	-	+++	+	-	±
Apraxia oculomotora	-	+	+	+	+
Opacidad corneal	-	ND	ND	ND	+
Edad muerte años	60	< 3	< 20	30	< 20

1.2.3.5. Diagnóstico:

- ✓ Diagnóstico clínico: hay algunos indicadores clínicos orientativos para sospechar de una enfermedad de depósito como es la EG. Pacientes con esplenomegalia de origen no definido, dolor óseo en crisis o hallazgos analíticos como anemia o trombocitopenia de causa desconocida, aumento de ferritina como indicadores más frecuentes en dependencia de la etnia. Se han publicado algunos algoritmos para orientar el diagnóstico, (124).

Generalmente, en poblaciones en las que la EG es menos frecuente que padecer una enfermedad hematológica que también cursa con esplenomegalia, anemia o trombocitopenia, se suele realizar un aspirado de médula ósea y es llamativo el encontrar células de aspecto espumoso sugiriendo el diagnóstico de EG, (125). El diagnóstico, sin embargo, debe establecerse cuantificando la actividad enzimática de la GC, (126).

Los compuestos que se acumulan en los lisosomas, debido a sus propiedades fisicoquímicas, dan lugar a estructuras observables mediante técnicas de microscopía, *Imagen 17*. De hecho, las primeras descripciones de enfermedades lisosomales fueron realizadas por clínicos y anatomopatólogos, y precedieron en general varios años a la identificación bioquímica de los sustratos y a la demostración de los defectos enzimáticos que los causaban y contribuyeron a la comprensión de la patogenia.

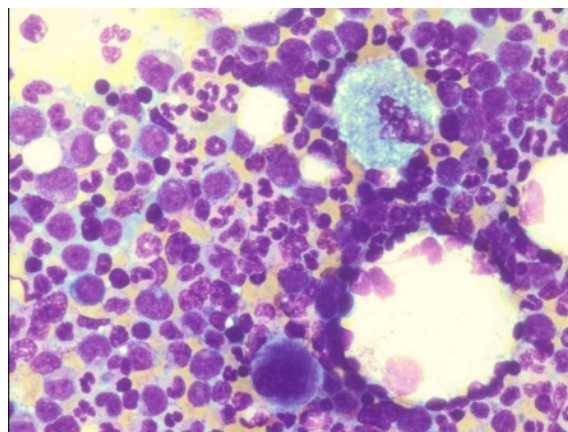


Imagen 17: examen de médula ósea May Grunwald Giemsa (MGG) 100X. Infiltración por células de Gaucher e hiperplasia hematopoyética, tomada de (127).

- ✓ Diagnóstico enzimático: el diagnóstico definitivo de la EG se basa en la demostración del déficit enzimático específico en leucocitos o en fibroblastos de piel cultivados; en vellosidades coriales o en células

del líquido amniótico. Un gran número de laboratorios sigue el protocolo de Raghavan et al. (126), basado en la incubación del sustrato artificial 4-metilumbeliferil- β -D-glucósido con extractos sonicados de leucocitos, donde la GC actúa sobre el sustrato artificial liberando el compuesto fluorogénico 4-metilumbeliferona y la fluorescencia generada es directamente proporcional a la actividad enzimática de la GC presente en los extractos celulares, *Imagen 18*.

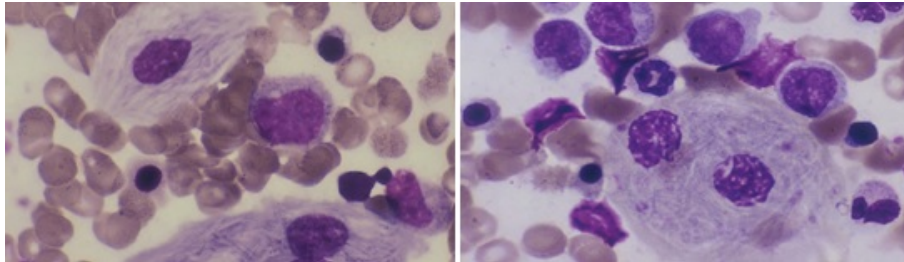


Imagen 18: células de Gaucher responsables de la mayoría de los síntomas de la enfermedad. Imágenes cedidas por FEETEG.

- ✓ Marcadores bioquímicos: tras el diagnóstico de la enfermedad, existen biomarcadores que permiten definir la evolución de la misma y el grado de respuesta al tratamiento. Entre ellos se encuentra la actividad de la quitotriosidasa (QT), *CCL18/PARC*, fosfatasa ácida y la glucoesfingosina (Lyso Gb1). Los biomarcadores son herramientas útiles para ayudar en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad. De acuerdo con la administración de fármacos y alimentos de EE.UU., los biomarcadores se definen como elementos medibles que se pueden usar como indicadores en procesos normales tanto biológicos como patológicos, o también en respuesta a una exposición o intervención terapéutica, (128). El término biomarcador se aplica actualmente a los marcadores que definen un estado biológico específico. Teniendo en cuenta estos factores, el biomarcador “ideal” debe cumplir la relación susceptibilidad/riesgo, ser confiable y poderse utilizar para el diagnóstico, monitoreo, pronóstico, predicción y respuesta farmacodinámica, (129).

En las EDL, como la EG, existen varios marcadores biológicos disponibles que son herramientas útiles para el diagnóstico, que ofrecen información objetiva sobre la situación de la enfermedad y en el seguimiento, para detectar complicaciones tempranas y la estabilidad en la respuesta al tratamiento. Sin embargo, la búsqueda de indicadores más fiables y precisos para las EDL es una batalla abierta para obtener el biomarcador más sensible, más fácil de determinar y más barato, (130). Los

procedimientos de diagnóstico estándar de la EG incluyen la medición de la actividad enzimática, las pruebas genéticas y el análisis de la QT y *CCL18/PARC* como biomarcadores. A pesar de que la QT es el biomarcador mejor establecido en la EG no es específico para la enfermedad, ya que puede ser falso negativo en un porcentaje significativo de pacientes con EG debido a la mutación que presenta la QT, y por otro lado la QT refleja los cambios en el curso de la enfermedad con retraso. Todo ello aumenta más la necesidad de un biomarcador más fiable, especialmente para el monitoreo de la enfermedad y el impacto de tratamientos potenciales, (131). A continuación, se describen los diferentes tipos de biomarcadores:

- Actividad de QT: desde 1994, la QT se conoce como un biomarcador empleado para las EDL. Es el primer biomarcador y más usado en paciente con EG, (132). Este biomarcador refleja en la EG la presencia y cantidad de células de Gaucher y, por lo tanto, se utiliza como prueba. Desde la descripción de la QT hasta el presente, se han realizado muchos estudios sobre su eficacia y limitaciones como biomarcador. Una de sus limitaciones es que su actividad se incrementa en el plasma para diferentes procesos inflamatorios como la aterosclerosis, la cardiopatía isquémica, el paludismo, el cáncer, la β -talasemia mayor o las neoplasias mieloproliferativas, trastornos crónicos que involucran macrófagos activados aunque no encuentra los niveles tan altos encontrados en la EG, (133,134,135,136). Sin embargo la EG, no es la única enfermedad para la que se describe dicho aumento, en otras enfermedades tales como sarcoidosis, leishmaniosis, tuberculosis, aterosclerosis, asma bronquial, etc., en las que también está implicado el sistema monocito-macrófago, se encuentra en niveles elevados de actividad, aunque no tanto como en la EG, (137,138,139,140,141,142). Recientes descubrimientos revelaron que la QT puede jugar un papel importante en la respuesta inmune y en las enfermedades en las que interviene el proceso inflamatorio, (138,143,144,145).

La QT es una enzima secretada por macrófagos activados y aparece en niveles elevados en plasma en pacientes afectados de NPC y EG. Los macrófagos pueden sintetizarla. Esta enzima puede jugar un papel en la degradación de patógenos que contengan quitina, (146). El gen de la QT, *CHIT1*, es un gen que se localiza en el cromosoma 1q32.1,

Imagen 19, y codifica para una proteína de 466 aa, *Imagen 20*. El 65% de la población tiene una duplicación de 24 pb, por lo que en homocigosidad impide la producción de QT y en heterocigosidad la concentración del biomarcador es más baja, (147).



Imagen 19: Localización en el cromosoma del gen CHIT1 tomada de (15).

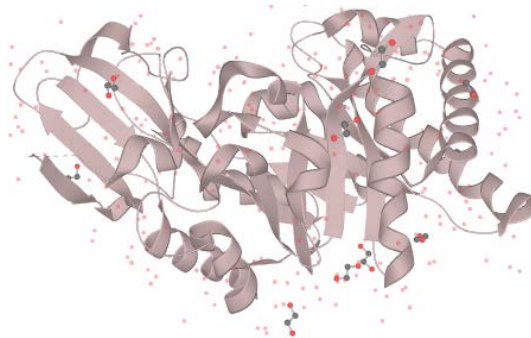


Imagen 20: estructura de La proteína de La QT, tomada de (19).

El interés clínico de la QT es más que considerable debido a que su actividad enzimática se describe aumentada entre 300 y 600 veces en el plasma de pacientes con EG, (132,148). No hay evidencia de que los niveles más altos de QT estén asociados con una sintomatología más severa en pacientes no tratados con EG, (149).

Uno de los problemas que muestra la QT, es que presenta una actividad de nula a reducida debido a los alelos nulos que codifica el gen. Varios estudios realizados en más de 600 sujetos, han sido llevados a cabo para el gen de la QT, que codifica para la enzima de la QT e identifica las variantes nulas o pseudodeficientes como los cambios NP_003456: p.Glu74Lys, p.Gly102Ser, p.Gly354Arg, p.Ala442Val, o varios alelos complejos (por ejemplo, la eliminación de 4 pb a través del límite exón/intrón-10, etc.), (150). Sin embargo, el alelo más destacado es el NM_003465: c.1049_1072 dup24, (151,152). Cuando esta duplicación está presente en homocigosidad, los sujetos muestran ausencia total de la actividad para la QT y por tanto no sirve como biomarcador. En la población caucásica, aproximadamente el 6% son homocigotos y de 30-40% heterocigotos para este alelo, (135). La interpretación de las fluctuaciones en los niveles de QT debe individualizarse de acuerdo con el genotipo de esos alelos

CHIT1. La tendencia del marcador, junto con la evaluación de otros parámetros clínicos es lo que debe estudiarse en la evaluación de la actividad de la enfermedad, no sus niveles absolutos, (128).

Hay dos biomarcadores para evaluar la gravedad de la EG: la QT, la cual se ha medido durante más de 20 años, y la glucoesfingosina, la cual refleja el sustrato de almacenamiento directo, (153).

- Glucoesfingosina (Lyso-Gb1): se trata de una forma desacetilada de la glucosilceramida, fue descrita por primera vez en 1982 por Nilsson y Svennerholm, (154), quienes demostraron que ésta se encontraba sobreexpresada en el cerebro y cerebelo de pacientes con EG de tipo neurológico. Su concentración en el plasma es 200 veces mayor para las muestras control de los sujetos afectados por EG tipo 1 en comparación con los controles, (155). Los niveles de Lyso-Gb1 parecen estar relacionados con el genotipo de *GBA*, siendo más altos en pacientes con mutaciones graves. Este marcador es altamente específico de la EG, muestra niveles elevados en personas afectadas y normales en portadoras, así como también sirve para el diagnóstico de otras EDL como la enfermedad de Krabbe, cuando se aplica un método cromatográfico adecuado, (155). Este marcador muestra un amplio rango de valores normales/patológicos debido a la variabilidad metodológica, (131,155,156). En algunos estudios relacionados con la respuesta a la terapia, se puede observar que la cantidad de este biomarcador en plasma disminuye rápidamente una vez que se inicia la TRE. Su interrupción provoca un aumento significativo que es detectado antes de las 3 semanas de la interrupción más que en las 10 semanas en la actividad de la QT, (155).

La EG implica la acumulación de glucosilceramida y su lisolípido desacilado, glucoesfingosina, la cual está implicada en la desregulación inmune y la enfermedad esquelética. En un estudio realizado por Murugesan et al., (157), evaluaron la concentración en plasma de glucoesfingosina como un biomarcador de la EG y su respuesta al tratamiento. La utilidad de glucoesfingosina en plasma como biomarcador de la EG, destaca por su papel biológico y su asociación con los indicadores de la gravedad de la enfermedad y el estado del tratamiento. Su participación en la patología de la

enfermedad se correlaciona directamente con la carga de la enfermedad y la gravedad clínica.

La glucoesfingosina puede ser detectada con sensibilidad mediante la técnica *Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric* (LC-ESI-MS/MS) con un estándar de isótopos internos. Las anomalías en los valores de glucoesfingosina en la orina son una identidad de la EG que permite la conformación bioquímica del diagnóstico, (158).

La glucoesfingosina es un biomarcador muy prometedor, confiable y específico para la EG. Este marcador no sólo es válido para el diagnóstico primario de pacientes con EG, sino que también puede reflejar el progreso y mejora de la enfermedad. Sin embargo, para caracterizar la correlación con el fenotipo clínico, la respuesta al tratamiento con TRE, o incluso para demostrar diferencias en la eficacia de las diferentes opciones de tratamiento disponibles para los pacientes, la glucoesfingosina debe analizarse con más detalle, (131,159).

- CCL18/PARC: es un marcador producido por los linfocitos T y monocitos descrito por primera vez por Boot et al. en 2004 como un péptido que se detectó por primera vez en plasma en sujetos con EG. Al comparar los perfiles de espectros de masas (SELDI-TOF), se encontraron diferencias significativas entre individuos sanos y entre los afectados por la EG, siendo estos niveles casi 30 veces más altos en estos últimos. Así mismo, verificaron que los niveles disminuyeron durante el tratamiento, correlacionando esta reducción con la observada en la actividad de la QT, (160). Esta citoquina se cuantificó mediante métodos de inmunocuantificación en plasma, lo que demuestra que sus variaciones no son tan precoces y sensibles como la QT. Durante el período de escasez de TRE sufrido en 2009, se pudo observar que después de 6 meses de interrupción de la terapia con imiglucerasa, la actividad de QT aumentó en un 35% mientras que la concentración de CCL18/PARC sólo se incrementó en un promedio de un 8,2%, (161). Por lo tanto, se puede establecer que existe una correlación entre la concentración de CCL18/PARC y la actividad de la QT, pero también que esta aparece aumentada en otras enfermedades como: la aterosclerosis, la hepatitis C activa, la neumonitis, la hipersensibilidad alérgica, la sepsis, el carcinoma de ovario, la

artritis reumatoide, en la NPD, la β -talasemia y otras, pudiendo existir superposición entre ellas, (160).

El gen CCL18/PARC se localiza en el cromosoma 17q12, *Imagen 21*, junto con muchas proteínas inflamatorias del macrófago; se compone de 3 exones y 2 intrones, pero, a diferencia de otras quimioquinas, incluye 2 pseudoexones (exones que no aparecen en el péptido final) en el primer intrón, (162). Este gen codifica una proteína, la CCL18, *Imagen 22*, que se compone de 89 aa, con 20 aa de señalización de secuencia en el N-terminal, los cuales están anclados en el retículo endoplasmático dentro de una proteína madura de 69 aa, (163). Se ha especulado que la CCL18 juega un papel en el reclutamiento de linfocitos B y T hacia las células presentadoras de antígenos, (164). La CCL18 no es exclusiva de la EG, sino que también se han descrito niveles anormalmente elevados en otras enfermedades como arterosclerosis, hepatitis B, artritis reumatoide, sarcoidosis o Niemann-Pick, (165). CCL18 se emplea en la monitorización de los tratamientos, especialmente en aquellos pacientes en los que la QT no pueda ser valorada, (166).

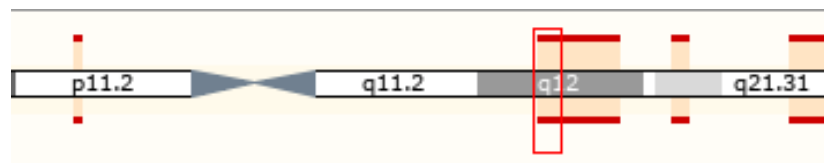


Imagen 21: Localización en el cromosoma del gen CCL18, tomada de (15).

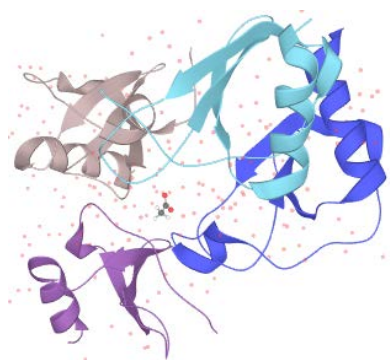


Imagen 22: estructura de la proteína CCL18, tomada de (19).

La proteína CCL18 no es exclusiva de la EG, también se han descrito niveles anormalmente elevados en otras enfermedades como: aterosclerosis, NPC, hepatitis B, artritis reumatoide o sarcoidosis,

(142,165,166,167,168). Es interesante destacar que el nexo común de todas estas enfermedades es el fenómeno inflamatorio.

La CCL18 ha aparecido en el panorama de la EG como un nuevo marcador de la enfermedad de utilidad en la monitorización de los tratamientos, especialmente en aquellos en los que la QT no pueda ser valorada, (166,169).

La actividad de la QT y CCL18 en el plasma se han utilizado alternativamente para monitorizar la actividad de la EG y la respuesta a la TRE junto con la evaluación clínica. Sin embargo, actualmente falta una comparación directa a gran escala de estos dos biomarcadores. Raskovalova et al., proponen una revisión sistemática colaborativa con un metaanálisis de datos de participantes individuales para comparar la precisión de la actividad de la QT y CCL18 en plasma al evaluar la gravedad de la EG tipo 1, (170).

Dada la prevalencia de la EG en la población general, la mayoría de estudios publicados que estimaron la precisión de la actividad de la QT y CCL18 en plasma para predecir la actividad de la enfermedad, tienen un tamaño de muestra relativamente limitado. Una comparación válida y confiable de estos dos biomarcadores requeriría un gran tamaño de muestra que sólo puede ser proporcionado por un estudio prospectivo internacional, (171).

Existen otros biomarcadores para la detección de la EG como: ferritina, ECA (enzima convertidora de angiotensina), TRAP (tartrato resistente a fosfatasa ácida), glucosilceramida (GluCer), lípidos proteínas y apolipoproteínas, factores de necrosis tumoral (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), otras hidrolasas lisosomales, marcadores proteicos en el líquido cerebro espinal y marcadores bioquímicos del metabolismo óseo, (32).

1.3. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER:

La heterogeneidad clínica de la EG dificulta la evaluación de los efectos del tratamiento. Los subgrupos clínicos descritos tratan de identificar fenotipos homogéneos que faciliten el análisis de la respuesta terapéutica, (32). Hasta 1991, el tratamiento empleado para la EG era sintomático. A partir de los trabajos de los investigadores del *National Institute of Health* (NIH), encabezados por el Dr. Brady, los pacientes han podido beneficiarse de una terapia realmente eficaz, que controla gran parte de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad y en consecuencia mejora la calidad de vida de los pacientes, (47,60,62,172). El tratamiento sintomático de la enfermedad ósea y de las alteraciones hematológicas constituye un punto importante de actuación puesto que ambas manifestaciones son la causa de la sintomatología aguda más acusada. Los aspectos neurológicos de la enfermedad suponen un problema aún más difícil de controlar, (32). Como consecuencia de lo citado anteriormente, a partir de 1991 los pacientes afectados de la EG disponen de tratamientos eficaces en la reducción de los depósitos glucolipídicos viscerales y medulares, disminuyendo enormemente la incidencia de lesiones óseas, pero apenas son útiles en la reducción de los depósitos en el SNC, (32).

Dentro del tratamiento de la enfermedad ósea hay que tener en cuenta que el paciente con EG puede presentar, aunque sea de forma esporádica, crisis de dolor óseo y dolor crónico o agudo, secundado por una fractura o infarto óseo. La administración de bifosfonatos ha demostrado una gran eficacia terapéutica en estos enfermos, mejorando la densidad ósea por inhibición de la reabsorción ósea (173,174). La calidad de vida de los pacientes con EG por deterioro articular por osteonecrosis o por artropatía inflamatoria, puede mejorar considerablemente si se someten a una intervención de cirugía ortopédica específica a cada caso, (175).

La TRE puede mejorar las anomalías hematológicas y las visceromegalias de los pacientes con EG de tipo 2 y 3. Pero la enzima recombinante no atraviesa la barrera hematoencefálica, y no hay evidencia de que la TRE haya revertido, estabilizado o enlentecido la progresión de la afectación neurológica, (118). En ocasiones se considera apropiado tratar con TRE a los pacientes con EG de tipo 2, hasta que es evidente que el niño no tiene un tipo 3; en ese momento se podría considerar retirar el tratamiento, (176).

Todos los pacientes requieren una valoración previa al inicio del tratamiento y un seguimiento regular para valorar la respuesta, conocer la situación de la enfermedad y detectar la aparición de complicaciones. Algunos pacientes es posible que no requieran nunca tratamiento, pero una vez que lo han iniciado, generalmente lo van a recibir para toda la vida, (32). Los fármacos que a continuación se describen son los que se emplean para el tratamiento de la EG tipo 1 y tenemos dos formas principales de suministrar el fármaco, ya sea por vía oral o por vía intravenosa. Si es por vía oral tenemos los fármacos eliglustat, (177) y miglustat, (178) ambos de TRS; mientras que si es por vía intravenosa tenemos los fármacos imiglucerasa, (179) y velaglucerasa, (180), ambos son de TRE. Hay que destacar que miglustat también se emplea en el tratamiento de NPC, (181).

1.3.1. Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE):

Desde hace más de 20 años, los afectados por esta enfermedad disponen de un tratamiento eficaz. La enzima sustitutiva inicialmente se obtuvo de la placenta humana y más tarde por ingeniería genética en células de mamífero. Administrada por vía intravenosa periódicamente, consigue reducir los síntomas y signos de la enfermedad, así como evitar complicaciones en un porcentaje elevado de casos, (182,183,184).

En la segunda mitad del siglo XX se identificó el déficit enzimático. En la década de los 80 se sintetiza la enzima deficiente y por último desde los años 90 se dispone de TRE, el primero dentro de las EDL, (57). Indudablemente la EG debe considerarse como la referencia a seguir en el abordaje de las EDL y, de hecho, tanto en la enfermedad de Fabry como en la de Pompe, el camino seguido ha sido similar. En un futuro próximo muchas EDL van a sufrir el impacto positivo derivado de la existencia de un tratamiento eficaz, ya sea por TRE u otro tipo, que va a determinar una calidad de vida que, al igual con la EG en la actualidad, no se diferencie sensiblemente de la población normal.

A principios de los años 90 la empresa americana *Genzyme* comercializó la primera enzima extraída inicialmente de placenta humana (Alglucerasa), que fue aplicada a unos pocos pacientes en el mundo, (185). Cuatro pacientes españoles recibieron su primera infusión en junio de 1993, (86). Posteriormente, en 1996 por ingeniería genética en cultivo de células de mamífero CHO, *Imagen 23*, se desarrolló la enzima recombinante Imiglucerasa, Cerezyme®, Sanofi-Genzyme, (186).

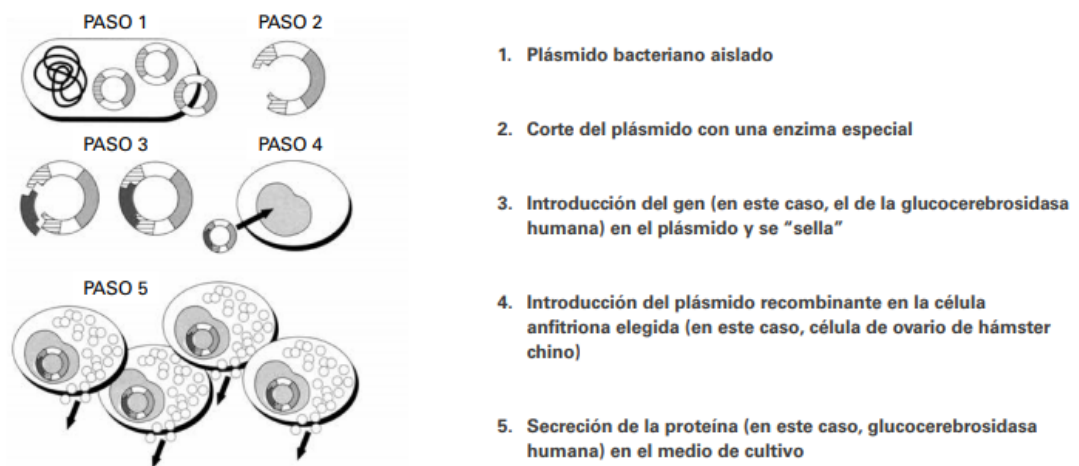


Imagen 23: representación esquemática de la producción de proteínas como la GC humana, tomada de (187).

Más tarde desarrollaron otras enzimas recombinantes: velaglucerasa-alfa, VPRIP®, Shire, comercializada desde 2011 y obtenida a partir de cultivos de células de fibroblastos humanos, (188), y taliglucerasa, Elelyso®/Uplyso®, Pfizer, (189), producida en células de zanahoria, (66). Esta última estuvo disponible en España en ensayo clínico (2009-2011), pero no obtuvo la autorización de comercialización en Europa. Sin embargo, está aceptada por la FDA y se comercializa en EE.UU., Brasil, Israel y otros países de Latinoamérica.

Para poder actuar, las enzimas obtenidas de células de mamífero se someten a un proceso posterior de glicosilación, lo que facilita la exposición de sus residuos de manosa y su captación por parte de los receptores de los macrófagos para ser transferidas a los lisosomas. La diferencia entre la secuencia de aa entre imiglucerasa y velaglucerasa es únicamente de un aa, siendo esta última una copia exacta de la secuencia humana. La taliglucerasa se produce por biotecnología en células vegetales, y la glicosilación específica ocurre en el interior de las células, siendo el proceso de fabricación menos complejo que en las células de mamífero y con menor riesgo de sufrir contaminaciones. A diferencia de las anteriores, su secuencia aminoacídica es más larga, ya que incluye una secuencia que permite la glicosilación y adherencia a la vacuola dentro de la célula vegetal, (32). En la *Tabla 5*, recogemos las características generales de las enzimas recombinantes.

Tabla 5: características generales de Las enzimas recombinantes, obtenida de (190).

Tipo de Enzima	Imiglucerasa	Velaglucerasa	Taliglucerasa
Bioingeniería celular	Células CHO	Fibroblastos humanos	Células de zanahoria
Glucosilación	Digestión con glucosidasa	Mediante kifunensina	De forma natural intracelularmente
Secuencia de aa	R495H	Idéntica a la natural	R495H
Terminaciones Manosa	40-60%	100%	100%
Longitud de la secuencia	497	497	506
Internalización en línea macrófago U937 (RFU/Prot/h) *	7000	18000	X

*estudios in vitro de Brumshtein et al., en los que encuentran diferencias en los resultados en función del medio de cultivo utilizado.

1.3.1.1. Imiglucerasa (Cerezyme®):

La imiglucerasa (β -glucosidasa ácida recombinante dirigida a macrófagos) está indicada para el uso como TRE a largo plazo en pacientes con un diagnóstico confirmado de EG tipos 1 y 3, (191). Esta enzima sustituye a la actividad deficiente hidrolizando la glucosilceramida y corrigiendo, de este modo, la fisiopatología inicial evitando la patología secundaria. Como consecuencia se reduce el tamaño del bazo y del hígado, mejora o normaliza la trombocitopenia y la anemia, disminuye la densidad mineral ósea y la carga de médula ósea y reduce o elimina el dolor óseo y las crisis óseas. Además, reduce la tasa de gasto de energía en reposo. Se ha demostrado que este fármaco mejora tanto aspectos mentales como físicos de la calidad de vida de los pacientes con EG, (62). El fármaco reduce los niveles de QT, el biomarcador de la acumulación de glucosilceramida en macrófagos y de la respuesta al tratamiento, así como de los otros biomarcadores. En niños se ha demostrado que imiglucerasa permite un desarrollo puberal normal e induce la aceleración del crecimiento, dando lugar a una estatura y densidad mineral ósea normales en la edad adulta (191).

Durante las perfusiones intravenosas de 4 dosis de imiglucerasa en 1 hora (7,5; 15; 30 y 60 U/Kg) se alcanza el estado estacionario de la actividad enzimática a los 30 minutos. Después de la infusión, la actividad enzimática en plasma disminuye rápidamente con una semivida entre 3,6 y 10,4 minutos. El aclaramiento

plasmático varía desde 9,8 hasta 20,3 ml/min/Kg (media \pm D.E. 14,5 \pm 4 ml/min/Kg). El volumen de distribución corregido en función del peso oscila entre 0,09 y 0,15 l/Kg (media \pm D.E. 0,12 \pm 0,02 l/Kg). Estas variables no parecen estar influenciadas por la dosis o la duración de la infusión. Sin embargo, en cada nivel de dosis y velocidad de infusión se estudiaron sólo 1 ó 2 pacientes, (191).

1.3.1.2. Velaglucerasa alfa (VPRIP®):

La FDA, en 2010, y la EMA, en 2016, aprobaron la velaglucerasa alfa (VPRIP®-Shire), la cual es una nueva formulación de glucocerebrosidasa preparada a partir de fibroblastos humanos para el tratamiento del tipo 1 de la EG. Los pacientes con EG tienen una deficiencia congénita de glucocerebrosidasa que conduce a la acumulación de glucosilceramida, el producto final del catabolismo de los esfingolípidos, en los lisosomas de las células reticuloendoteliales del hígado, bazo y médula ósea. Este fármaco es la segunda forma de la enzima disponible en la actualidad en EE.UU., (192).

La velaglucerasa alfa suplementa o reemplaza a la β -glucocerebrosidasa, la enzima que cataliza la hidrólisis del glucocerebrósido a glucosa y ceramida en el lisosoma, lo que reduce la cantidad de glucocerebrósido acumulada y corrige la fisiopatología de la EG. Este fármaco aumenta la concentración de hemoglobina y los recuentos plaquetarios, y reduce los volúmenes del hígado y el bazo en los pacientes con EG tipo 1. El principio activo de VPRIP® es la velaglucerasa alfa, que se produce mediante tecnología de activación genética en una línea de células humanas. Este fármaco es una glicoproteína. La velaglucerasa alfa se fabrica de modo que contenga predominantemente glicanos de alto contenido en manosa, para facilitar la internalización de la enzima por parte de las células fagocíticas diana a través del receptor de manosa. No se encontró ninguna diferencia farmacocinética evidente entre los pacientes con EG tipo 1 de sexo masculino y femenino, (191).

Tanto imiglucerasa como velaglucerasa alfa se administran por vía intravenosa a razón de una infusión cada 14 días. La dosis inicial recomendada es de 60 U/Kg/2 semanas. La administración se realiza en el ámbito hospitalario, aunque en algunas comunidades el tratamiento es posible administrarlo bajo la supervisión de un profesional de la salud, después de haber recibido varias infusiones en un hospital sin efectos adversos. La dosis y frecuencia de las infusiones puede ser ajustada de acuerdo a la evolución clínica y a los biomarcadores, una vez alcanzados los objetivos terapéuticos. Tras un periodo

habitual de dos años, la dosis puede ajustarse a 30 UI/Kg cada dos semanas. En los primeros años de disponer de TRE se planteó un esquema de bajas dosis-alta frecuencia, administrando dosis muy bajas tres veces por semana que resultaban eficaces, (186). La pauta acreditada es la administración de entre 30-60 U/Kg cada dos semanas, siendo la recomendación de no reducir por debajo de 15 U/Kg cada dos semanas, (193). La TRE generalmente produce un efecto rápido en los síntomas clínicos (astenia, dolor) y en los recuentos celulares, corrige la anemia y la trombocitopenia y, además, a largo plazo, se reduce la infiltración de la médula ósea y la osteopenia, disminuyendo las complicaciones óseas. El tratamiento enzimático precoz reduce el riesgo de necrosis avascular, (194), pero no previene completamente la aparición de los episodios agudos, (195,196), que pueden sobrevenir sobre todo en pacientes esplenectomizados y en aquellos que han tenido episodios de crisis óseas previas.

Actualmente no existen criterios para el uso preferente de una u otra enzima sustitutiva (imiglucerasa o velaglucerasa) para el tratamiento de los pacientes con EG de tipo 1; sin embargo, solamente la imiglucerasa tiene la indicación para la EG de tipo 3. Ninguno de los tratamientos enzimáticos está indicado para la EG de tipo 2, ya que este tratamiento no tiene impacto en la rápida progresión de los graves daños neurológicos, (176).

Siguiendo las guías de actuación, que indican los criterios para iniciar la TRE, el tratamiento debe ser considerado en la EG tipo 1 si está presente alguno de los siguientes criterios, (197):

- Trombocitopenia aislada (plaquetas $\leq 40 \times 10^9/l$); $\leq 80 \times 10^9/l$ en caso de síntomas o riesgo hemorrágico. Los niveles considerados como de riesgo son: $\leq 40 \times 10^9/l$ para cirugía general, $\leq 80 \times 10^9/l$ para aplicar anestesia epidural y $\leq 100 \times 10^9/l$ para los procedimientos neuroquirúrgicos. Los pacientes con el único criterio de trombocitopenia entre $\leq 80 \times 10^9/l$ y $\leq 100 \times 10^9/l$ no tienen indicación de tratamiento. Entre $\leq 40 \times 10^9/l$ y $\leq 80 \times 10^9/l$ se ha de considerar la indicación de manera individualizada.
- Anemia sintomática y/o hemoglobina ≤ 10 g/dl (con exclusión de otras causas).
- Esplenomegalia y/o hepatomegalia sintomática (dolor, distensión abdominal).

- Dolor óseo previo o actual: crisis óseas, osteonecrosis, infarto óseo, fracturas patológicas, dolor óseo crónico o presencia de alteraciones radiológicas óseas, así como osteoporosis documentada ($> -2,5$ SD). La presencia de fémur en matraz Erlenmeyer o de *genus valgus per se* no es indicación de tratamiento.
- Afectación de otros órganos (pulmones, fibrosis hepática, corazón, riñones) relacionados con la enfermedad (después de la exclusión de todas las otras etiologías).
- Cualquier niño con EG con uno de los síntomas mencionados anteriormente o retraso del crecimiento o de la pubertad, o una forma asintomática con un genotipo que predispone una forma de tipo 3.
- Pacientes con EG tipo 3.

En cuanto a la seguridad, en general es considerada como buena, aunque del 10% al 15% de los pacientes (en tratamiento con imiglucerasa) desarrollan anticuerpos contra la enzima. Con velaglucerasa alfa la incidencia es mínima, (198); sin embargo, hay que tener en cuenta que el método de determinación de anticuerpos antiimiglucerasa no es el mismo que se utiliza para determinar anticuerpos antivelaglucerasa, por tanto, no serían directamente comparables. Por lo general los anticuerpos no son neutralizantes. Las reacciones alérgicas son raras ($< 1,5\%$ de los pacientes) e incluyen: urticaria, diarrea, hipotensión, o molestias laríngeas, (32).

La TRE no está contraindicada en el embarazo, la experiencia postcomercialización recogida de más de 150 embarazos espontáneos en pacientes en tratamiento continuado con imiglucerasa muestra que no se han descrito manifestaciones fetales, (191). Con velaglucerasa alfa hay menos experiencia, pero también es tolerada y no se ha descrito ninguna alteración en el feto, (199). Por otra parte, la TRE puede ser necesaria para controlar la enfermedad, ya que esta puede empeorar durante el embarazo y para corregir la trombocitopenia como factor de riesgo hemorrágico durante el embarazo o el parto y que contraindica la anestesia epidural, (32).

1.3.2. Terapia de Reducción de Sustrato (TRS):

Tradicionalmente, los esfuerzos de terapia han estado dirigidos principalmente a la pérdida funcional de la enzima mediante la inyección de una enzima recombinante en un proceso llamado TRE sin impacto en la neuropatología. Esta ineficacia, junto con su alto costo y su dependencia de por vida, es una de las razones principales por la que se están investigando enfoques terapéuticos adicionales: terapia con chaperonas, mejora genética, terapia génica y, alternativamente, la TRS, cuyo objetivo es evitar el almacenamiento, no corrigiendo el déficit enzimático original, sino que lo que pretende es disminuir los niveles de biosíntesis del sustrato que se acumula, (200).

Con respecto a las manifestaciones clásicas del trastorno, las investigaciones terapéuticas en la EG exigen diseños y metodologías de ensayos innovadores para obtener datos decisivos sobre la eficacia y seguridad, (201).

La TRS consiste en disminuir la síntesis de glucosilceramida inhibiendo a la enzima glucosilceramida sintasa, con lo que se evita la formación de sustrato. Dentro de este grupo existen en el mercado dos fármacos, *Tabla 6*.

Tabla 6: características generales de la TRS, obtenida de (32,191).

Inhibidor de sustrato	Miglustat	Eliglustat
Tipo de análogo	Glucosa	Ceramida
Peso molecular (g/mol)	219,28	479,59
Inhibidor de glucosilceramidasintasa	Reversible inespecífico	Específico irreversible
Vida media (h)	6-7	Metabolizadores rápidos: 6,5 Metabolizadores lentos: 8,9
Interacción vía citocromo	No	Si
Efectos adversos	GI, NP, temblor, pérdida de peso	*

**dolor de cabeza, mareo, palpitaciones, trastornos GI, dolor de las articulaciones y cansancio (fatiga).*

1.3.2.1. Miglustat (Zavesca®):

Miglustat tiene una fórmula molecular $C_{10}H_{21}NO_4$, con un peso molecular de 219,3 g/mol *Imagen 24*, (202). Este fármaco es un inhibidor de la enzima glucosilceramida sintasa (EC 2.4.1.80), (203), empleado en el tratamiento de la EG, (204).

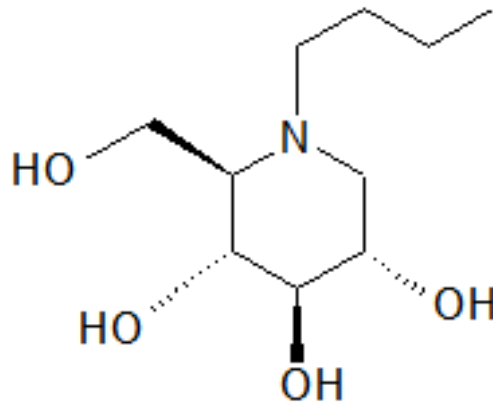


Imagen 24: estructura química del miglustat, de autoría propia.

Miglustat (Zavesca®, ACTELION) es un tratamiento de administración oral derivado de un iminoazúcar (N-butil-desoxinojirimicina). En noviembre de 2002, el fármaco obtuvo la autorización de comercialización en Europa para el tratamiento de la EG tipo 1 de grado leve o moderado, (205). En los 17 años de experiencia ha demostrado que es eficaz para controlar los síntomas de la enfermedad en los pacientes con formas leves o moderadas que no desean o no pueden recibir TRE, (64). Es un tratamiento eficaz, con la ventaja de la administración oral y la posibilidad de acceder a lugares como el hueso, a los que la enzima recombinante llega con mayor dificultad debido al tamaño de la molécula, (32).

Dicha molécula, inhibe a la enzima glucosilceramida sintasa (mismo mecanismo que eliglustat) reduciendo la sobrecarga de glucosilceramida y restaurando el equilibrio lisosomal de los glucolípidos en complicaciones características de las EDL tales como la EG y NPC. A su vez, el fármaco inhibe a otras enzimas tales como las disacaridasas intestinales. *In vitro*, miglustat ha demostrado ser un potente inhibidor de sacarasa y maltasa, y un inhibidor relativamente débil de lactasa, (206,207,208). Esta inhibición hace suponer que, *in vivo*, miglustat inhiba maltasa y sacarasa e interfiera la digestión intraluminal de almidón y la hidrólisis final y absorción de oligosacáridos y disacáridos. Como efecto adverso frecuente produce inhibición de la absorción intestinal, con flatulencia y diarrea osmótica. No es un acontecimiento grave, pero resulta molesto e interfiere con la calidad de vida de los pacientes, (32).

Este fármaco no utiliza la vía del citocromo P450 para su metabolismo, ya que se trata de una pequeña molécula de iminoazúcar de administración oral. La cinética de miglustat parece ser lineal con respecto a la dosis e independiente respecto al tiempo. En individuos sanos, el fármaco se absorbe rápidamente. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan aproximadamente a las 2 horas de la toma del medicamento. No se ha determinado la biodisponibilidad absoluta. La ingesta simultánea de alimentos disminuye la tasa de absorción (disminución de $C_{máx.}$ en un 36% y retraso de 2 horas en alcanzar $t_{máx.}$) sin efecto estadísticamente significativo en el grado de absorción de miglustat. La farmacocinética de miglustat es similar en pacientes con EG tipo 1 del adulto y en pacientes con enfermedad de NPC, comparada con sujetos sanos, (191).

Miglustat ha estado disponible en Europa desde su aprobación en 2002; sin embargo, debido a sus considerables efectos secundarios gastrointestinales, está aprobado en la UE sólo como una terapia de segunda línea para pacientes no aptos que estén con tratamiento de terapia de reducción de sustrato, (209). A diferencia del iminoazúcar miglustat, eliglustat es un análogo de ceramida que inhibe la UDP-glucosilceramida sintasa sin inhibir las disacaridasas intestinales, (210,211), evitando así los frecuentes efectos secundarios gastrointestinales encontrados con miglustat, (212,213,214). Miglustat alcanza una distribución significativa en el cerebro, pero no es eficaz en la EG neuronopática, (215), y puede causar efectos secundarios neurológicos en la EG tipo 1, (212,214). Este problema se evita con eliglustat, ya que la P-gp evita la acumulación de eliglustat en el cerebro, (210,211,216).

En adultos con EG tipo 1, se recomienda una dosis inicial de 100 mg administrada 3 veces al día. Temporalmente, puede resultar necesario reducir la dosis a 100 mg una o dos veces al día en caso de producirse diarrea; en niños y adolescentes de 0 a 17 años con EG tipo 1 no se ha descrito la eficacia del fármaco. No se disponen de datos, (191).

En adultos con enfermedad de NPC, la dosis recomendada del tratamiento es de 200 mg tres veces al día; en pacientes adolescentes ≥ 12 años, misma posología que los adultos. Para pacientes < 12 años debería ajustarse en base al área de superficie corporal, *Tabla 7*. La reducción temporal de la dosis puede ser necesaria en algunos pacientes debido a la diarrea. El beneficio para el paciente del tratamiento con miglustat debe ser evaluado regularmente; hay experiencia limitada con el uso del fármaco en pacientes < 4 años; no existe experiencia con el uso del fármaco en pacientes > 70 años, (191).

Tabla 7: dosis en relación con área de superficie corporal, obtenida de (191).

Área de superficie corporal (m ²)	Dosis recomendada
> 1,25	200 mg 3 veces al día
> 0,88-1,25	200 mg 2 veces al día
> 0,73-0,88	100 mg 3 veces al día
> 0,47-0,73	100 mg 2 veces al día
≤ 0,47	100 mg 1 vez al día

Miglustat no se utiliza durante el embarazo y la lactancia. En el momento del lanzamiento europeo del fármaco en 2003, se inició un programa de vigilancia de seguridad basado en la web, no intervencionista, y que todavía está en marcha. El perfil de seguridad de miglustat en pacientes con EG tipo 1 incluidos en el programa de vigilancia de seguridad es, en general, consistente con lo informado en el registro y otros ensayos clínicos además de que no se ha identificado ningún nuevo hallazgo de seguridad, (217). Aunque no se ha contrastado el tratamiento con miglustat directamente con la TRE en pacientes previamente no tratados con EG tipo 1, no existen indicios de que el fármaco tenga una eficacia y seguridad superior con respecto a la TRE. La TRE es el tratamiento estándar para pacientes que precisan terapia para la EG tipo 1. No se han evaluado específicamente ni la eficacia ni la seguridad del fármaco en pacientes con EG grave. Todos los pacientes deberán someterse a una evaluación neurológica basal y periódica. Se recomienda la evaluación del recuento de plaquetas en pacientes con EG tipo 1. Se han observado ligeros descensos del recuento de plaquetas no acompañados de sangrado en pacientes con EG tipo 1 a los que se les había cambiado la TRE por miglustat, (191).

El beneficio del tratamiento con miglustat para las manifestaciones neurológicas en pacientes con enfermedad de NPC debe evaluarse regularmente, esto es, cada 6 meses; la continuación del tratamiento debe volver a evaluarse después de al menos un año de tratamiento con miglustat. En algunos pacientes con este tipo de enfermedad tratados con el fármaco se observaron reducciones leves del recuento de plaquetas sin asociarse a hemorragias. En los pacientes incluidos en el ensayo clínico, un 40-50% de los pacientes tenían recuentos de plaquetas por debajo del límite inferior de normalidad basal. En estos pacientes se recomienda monitorizar el recuento de plaquetas, (191).

1.3.2.2. Eliglustat (Cerdelga®):

Este fármaco también se conoce como eliglustat tartrato, tiene una fórmula molecular $C_{23}H_{36}N_2O_4$, con un peso molecular de 404,5 g/mol, por tanto, no puede pasar la barrera hematoencefálica (BHE). Su estructura molecular se puede observar en la Imagen 25, (218). Es un inhibidor de la glucosilceramida sintasa (EC 2.4.1.80), (203), empleado en el tratamiento de la EG, (204).

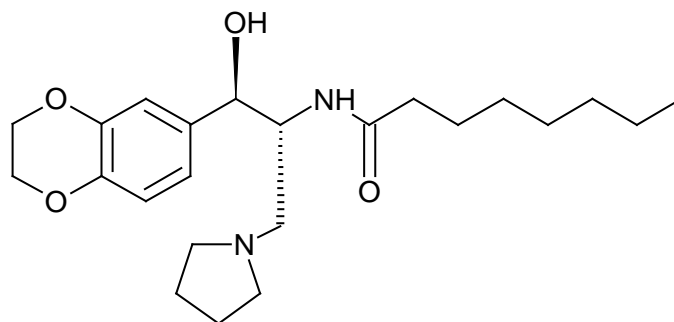


Imagen 25: estructura química del eliglustat, de autoría propia.

El fármaco es un sustrato oral de reducción de terapia aprobado en la UE en 2015 y en EE.UU. en 2014, como tratamiento de primera línea para adultos con EG tipo 1 los cuales son metabolizadores extensivos, medios o pobres para la CYP2D6. Se une a la terapia de reemplazo enzimático (TRE) como tratamiento de primera línea de la enfermedad. Como terapia oral, este fármaco también ofrece ventajas sobre la TRE con respecto a la duración de la terapia; ofrece una compatibilidad del tratamiento con el trabajo, familia, eventos sociales mejorando probablemente la calidad de vida, (209). También tiene la posibilidad de acceder a lugares como el hueso donde la enzima recombinante llega con mayor dificultad.

En la EG, la glucosilceramida se acumula debido a la pérdida o disminución de la actividad de la β - glucocerebrosidasa. Este fármaco, bloquea la actividad de la enzima glucosilceramida sintasa dando como resultado un funcionamiento normal de la enzima β - glucocerebrosidasa, (210), Imagen 26.

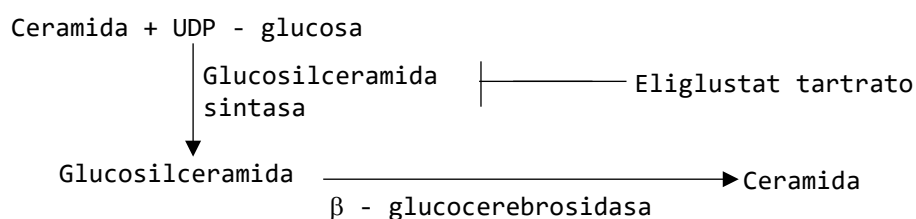


Imagen 26: esquema del mecanismo de actuación de eliglustat, modificada de (219).

La inhibición de la enzima glucosilceramida sintasa por eliglustat es más específica y potente que con miglustat. Su eficacia ha sido probada en estudios clínicos de fase 1, 2 y 3 en cerca de 400 pacientes y los resultados del seguimiento tras 4 y 8 años ya han sido publicados, (220,221,222). Los estudios demostraron eficacia significativa frente a un placebo, de no inferioridad frente a imiglucerasa (tratamiento estándar) durante un período de 1 año con seguridad satisfactoria. También se ha demostrado un efecto sobre la recuperación de densidad mineral ósea en la fase de extensión de 4 años del estudio de fase 2, (223,224).

Eliglustat se elimina principalmente por la vía del *CYP2D6*. La FDA y la EMA requieren el genotipado de *CYP2D6* antes de prescribir eliglustat: el fármaco está contraindicado para los metabolizadores ultrarrápidos; los metabolizadores lentos, reciben una dosis diaria reducida del 50%, (225). La dosis recomendada es de 84 mg/2 veces al día en metabolizadores rápidos (MR) e intermedios (MI) del *CYP2D6*, mientras que para los que son metabolizadores lentos (ML) es de 84 mg/día. Para los metabolizadores ultrarrápidos (MU) y metabolizadores indeterminados no puede utilizarse este fármaco, (191). El efecto adverso más frecuente con este fármaco es la dispepsia (ardor de estómago), que afecta aproximadamente a 6 de cada 100 pacientes. El efecto adverso grave más frecuente es el síncope, en 8 de cada 100 pacientes. La mayoría de los efectos adversos son leves y de corta duración. Este fármaco tampoco debe administrarse a algunos pacientes con problemas hepáticos ni a los que tomen determinados medicamentos que puedan interferir en la capacidad del organismo para degradarlo.

Eliglustat se metaboliza extensamente con una eliminación elevada, sobre todo a través del *CYP2D6*, como se ha indicado anteriormente, y, en menor medida, a través del *CYP3A4*, *Imagen 27*. Tras la administración oral, la mayoría de la dosis administrada se excreta en la orina (41,8%) y en las heces (51,4%), sobre todo en forma de metabolitos, *Imagen 28*. Tras la administración intravenosa, la eliminación corporal total de eliglustat fue de 86 l/h tras dosis repetidas de 84 mg del fármaco dos veces al día, la semivida de eliminación de eliglustat es de 4-7 horas aproximadamente en aquellos que no sean metabolizadores lentos y de 9 horas para los que sean metabolizadores lentos, (226).

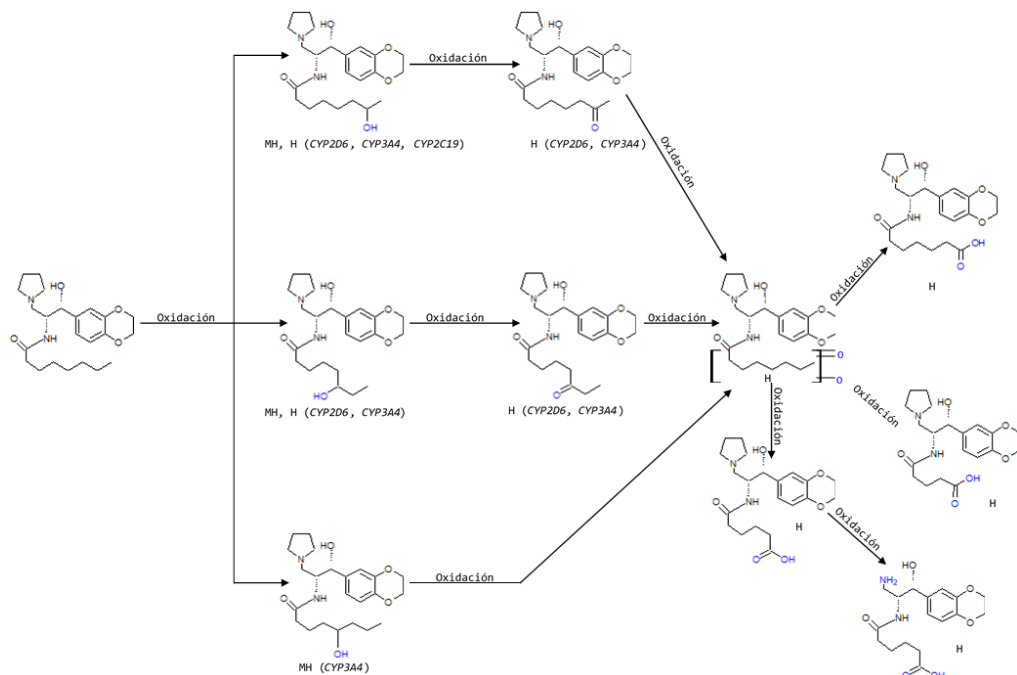


Imagen 27: ruta metabólica sugerida in vitro para La biotransformación de eliglustat en Las microsomas hepáticas humanos por CYP2D6, CYP3A4 y CYP2C19, modificada de (227).

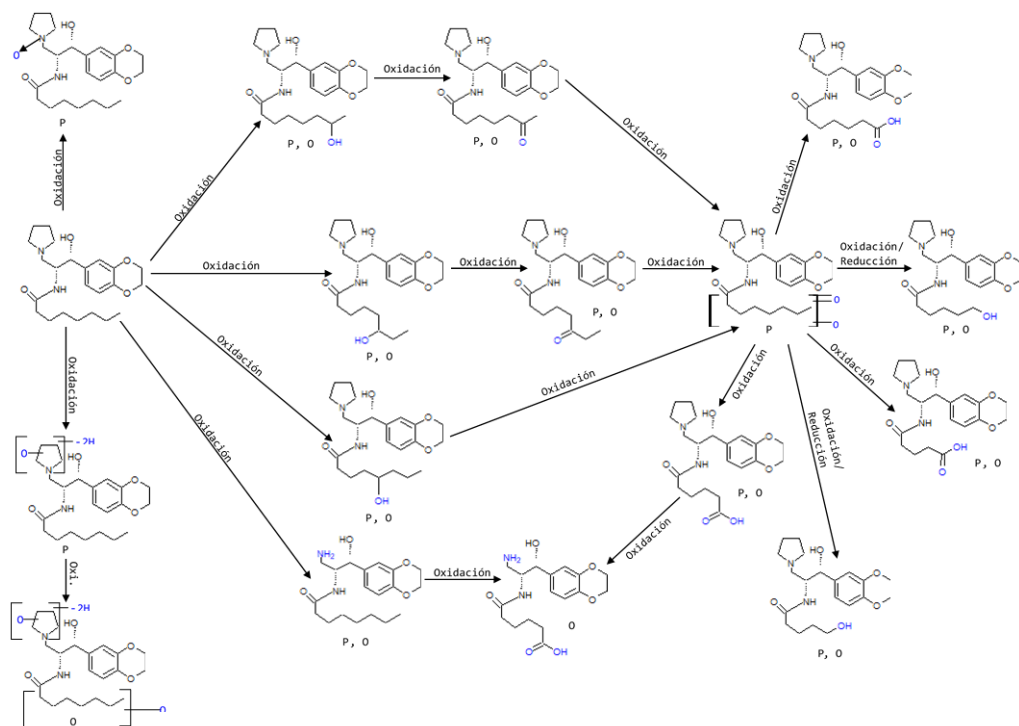


Imagen 28: ruta metabólica sugerida in vivo para La biotransformación de eliglustat, modificada de (227).

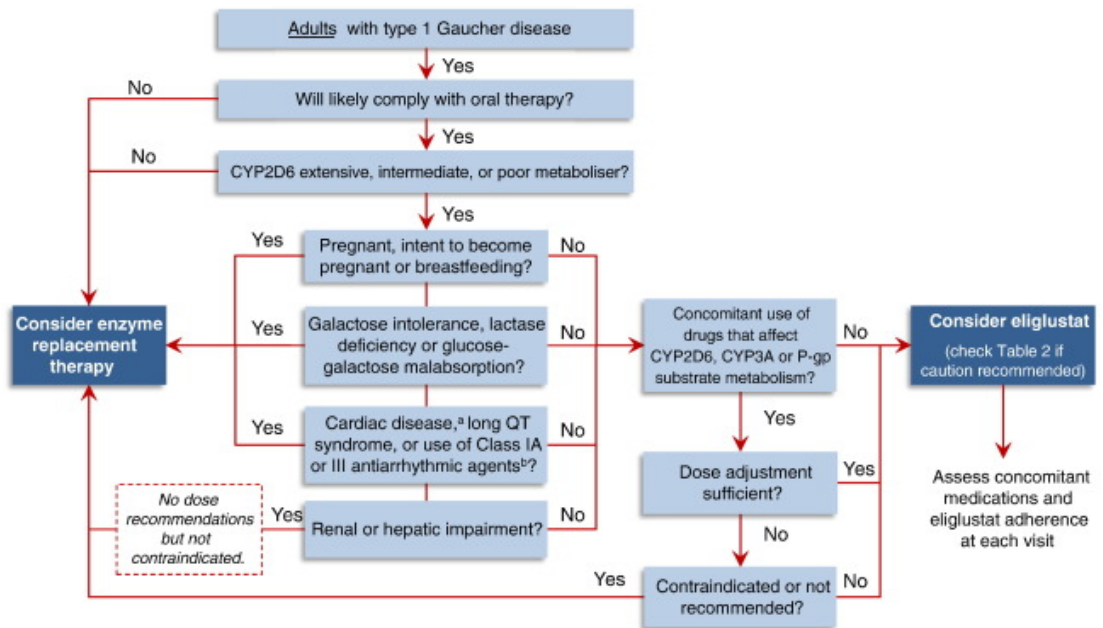
El análisis farmacocinético poblacional revela que el genotipo del *CYP2D6* constituye el factor más importante que afecta a la variabilidad

farmacocinética. Los individuos con un fenotipo de metabolizador lento para el citocromo (aproximadamente entre el 5 y el 10% de la población) muestran concentraciones más altas de eliglustat que aquellos que sean metabolizadores intermedios o rápidos para *CYP2D6*. Según el análisis farmacocinético poblacional, factores como el sexo, el peso corporal, la edad y la raza tienen un impacto limitado o nulo en la farmacocinética de eliglustat, (226).

Eliglustat inicialmente no se recomienda en pacientes con EG tipo 1 que tuviesen insuficiencia hepática o renal debido a que no se disponía de suficientes datos. Eliglustat está en concentraciones más altas en metabolizadores rápidos con insuficiencia hepática leve o moderada en comparación con la función hepática normal después de dosis repetidas de 84 mg del fármaco. Eliglustat también se encuentra en dosis más elevadas en metabolizadores rápidos con insuficiencia hepática leve después de la administración conjunta con un inhibidor de *CYP2D6* o *CYP3A4* en repetidas dosis. Basados en estos hechos, habría que revisar la dosis de eliglustat en pacientes con insuficiencia renal o hepática, (228).

Eliglustat también es sustrato de la P-gp. La P-gp es una proteína que se expresa de manera polarizada en la membrana plasmática de las células de los órganos barrera y de eliminación, donde tiene las funciones de proteger y excretar, (229). Desempeña un papel importante en la eliminación de primer paso de los medicamentos administrados por vía oral para evitar su biodisponibilidad mediante el flujo de los fármacos desde el lumen del intestino delgado, del colon y desde los canales de la bilis del hígado. Elimina los sustratos de la circulación sistémica a través de los túbulos proximales en el riñón, y nuevamente a través de la excreción biliar. Restringe la permeabilidad a los órganos con privilegio inmune desde el lado apical o seroso de las barreras del tejido sanguíneo (sangre-cerebro, sangre-líquido cefalorraquídeo, sangre-placenta, sangre-testículos), (230). Eliglustat no cruza la BHE debido al reconocimiento por el transportador Pgp-1, (231). Por lo tanto, no hay una distribución significativa del fármaco en el cerebro, (232).

Para que el paciente elija entre eliglustat y la terapia enzimática, es esencial que exista un consenso informado entre el paciente y el médico para considerar los factores sociales, familiares, profesionales y psicológicos en el contexto de la legibilidad del paciente basado en el genotipo del citocromo *CYP2D6*, las comorbilidades y potencial de interacción farmacológica. Para ello, se va a proporcionar un algoritmo para determinar la elección de la terapia con eliglustat, *Imagen 29*.



^a Congestive heart failure, recent acute myocardial infarction, bradycardia, heart block, ventricular arrhythmia.

^b Class IA (e.g. quinidine) and Class III (e.g. amiodarone, sotalol)

Imagen 29: algoritmo para la elección de eliglustat en pacientes adultos con la EG tipo 1, tomada de (209).

Este fármaco está contraindicado cuando se precisa asociar a inhibidores fuertes o moderados de *CYP2D6*, MR, MI y ML y de *CYP3A4* y para inductores fuertes del *CYP3A4*, ya que disminuye la eficacia del fármaco. También está contraindicado para aquellas personas que tomen pomelo o zumo de pomelo, ya que inhiben el *CYP3A4*, *Tabla 8*.

Tabla 8: Inhibidores e inductores de CYP2D6 y CYP3A4, modificada de (209).

		Posibles sustancias que interactúan	Metabolizadores rápidos o intermedios	Metabolizadores lentos		
Inhibidores de CYP450		Ejemplos (no es exhaustivo)	Efectos sobre la exposición a eliglustat	Recomendaciones	Efectos sobre la exposición a eliglustat	Recomendaciones
Inhibidores CYP2D6	Inhibidores fuertes de CYP2D6	Paroxetina, fluoxetina, bupropion, quinidina	C _{max} : 7,3-fold ↑ AUC ₀₋₁₂ : 8,9-fold ↑ (eliglustat 84 mg/2 veces día+paroxetina 30mg/día)	84 mg/día	NI	Dosis estándar* (84 mg/día)
	Inhibidores moderados de CYP2D6	Duloxetina, terbinafina, moclobemida, mirabegron, cinacalcet, dronedarona	Predicho hasta 4-fold ↑	Precaución	NI	Dosis estándar* (84 mg/día)
Inhibidores CYP3A4	Inhibidores fuertes de CYP3A4	Claritromicina, telitromicina, ketoconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol, indinavir, lopinavir, ritonavir, saquinavir, telaprevir, tripanavir, boceprevir, conivaptán, cobicistat	C _{max} : 3,8-fold ↑ AUC ₀₋₁₂ : 4,3-fold ↑ (eliglustat 84 mg/2 veces día+ketoconazol 400mg/día)	Precaución	Predicho:	Contraindicado
	Inhibidores moderados de CYP3A4	Eritromicina, ciprofloxacino, fluconazol, diltiazem, verapamilo, aprepitant, atazanavir, darunavir, fosamprenavir, imatinib, cimetidina	Predicho hasta 3-fold ↑	Precaución	Predicho:	No recomendado
	Inhibidores débiles de CYP3A4	Amlodipina, cilostazol, fluvoxamina, hidrastis, isoniazida, ranitidina, ranolazina	NI	Dosis estándar (84 mg/2 días)	NI	Precaución
		Productos del pomelo	Puede aumentar los niveles	Evitar	Puede aumentar los niveles	Evitar
Inhibidores CYP2D6+CYP3A4	Inhibidores fuertes y moderados de CYP2D6 y CYP3A4		Predicho: C _{max} : hasta 17-fold ↑ AUC ₀₋₁₂ : hasta 25-fold ↑	Contraindicado	NI	
Inductores CYP3A4	Inductores fuertes de CYP3A4	Rifampicina, rifabuitna, carbamezapina, fenobarbital, fenitoína, hierba de San Juan	Disminución del 85% (127 mg/2 veces día + 600 mg/día de rifampicina)	No recomendado	Disminución del 95% (84 mg/2 veces día + 600 mg/día de rifampicina)	No recomendado

Hay que tener en cuenta otras situaciones para la administración de eliglustat: embarazo, lactancia, fertilidad, enfermedades cardíacas, enfermedades renales y hepáticas, poblaciones especiales e intolerancia a la lactosa. No se recomienda utilizar eliglustat durante el embarazo ni en la lactancia, aunque se desconoce si eliglustat o sus metabolitos están presentes en la leche materna. Los datos farmacodinámicos/toxicológicos disponibles en animales

muestran que eliglustat aparece en la leche. No puede excluirse el riesgo de alteraciones cardíacas, renales y hepáticas en recién nacidos/niños. Se debe decidir si es necesario interrumpir la lactancia o interrumpir el tratamiento tras considerar el beneficio de la lactancia para el niño y el beneficio de tratamiento para la madre, (233). Se desconoce el efecto de eliglustat sobre la fertilidad en hombres, aunque este fármaco en elevadas dosis en ratas produce una degeneración epitelial de las células seminíferas, una hipoplasia segmental de los testículos y una inhibición reversible de la espermatogénesis, (209); se recomienda evitar el uso de eliglustat en pacientes que tengan arritmias y que estén tomando fármacos para aquellas de clase IA y clase III, (234); eliglustat no ha sido estudiado en pacientes con disfunción renal o hepática, pero generalmente debería ser usado con una extrema precaución, al igual que no hay datos con pacientes que hayan tenido hepatitis B o C o que tengan el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). En las personas mayores de 65 años se tienen que tener en cuenta la elevada probabilidad de comorbilidades comunes entre la población general como HTA, diabetes, depresión, que requieren terapias adicionales. Por último, hay que tener en cuenta que, dado que eliglustat contiene lactosa como excipiente, no se recomienda en pacientes con problemas hereditarios de intolerancia a la lactosa, deficiencia de lactasa o malabsorción de glucosa-galactosa, (209).

1.3.3. Chaperonas farmacológicas:

Las chaperonas farmacológicas son pequeñas moléculas que ayudan a las proteínas a recomponer la configuración molecular específica que determina su eficacia funcional, *Imagen 30*. También protegen a las proteínas mediante la prevención de la agregación facilitando su paso a través de las membranas y, por lo tanto, el transporte en los lisosomas en lo que respecta a las enzimas lisosomales; las chaperonas farmacológicas pueden facilitar la funcionalidad de las enzimas y restaurar la actividad intracelular de la glucocerebrosidasa mutante. El desarrollo de este tipo de tratamiento para la EG se encuentra todavía en las primeras etapas de ensayos clínicos y aún no se ha probado su eficacia, pero la estrategia todavía se está estudiando, (235). Se ha realizado un estudio piloto con ambroxol, por su potencial efecto de chaperona, (236,237).

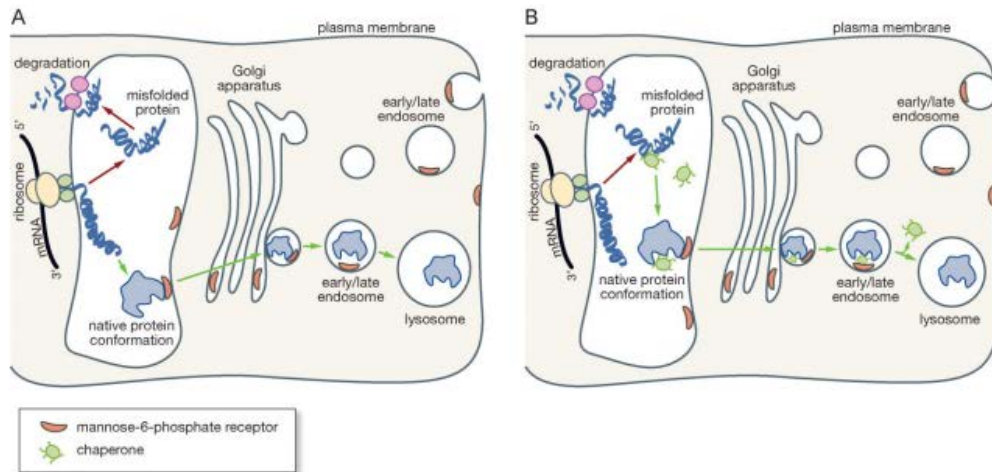


Imagen 30: efecto de Las chaperonas farmacológicas sobre Las enzimas lisosomales mal plegadas, imagen tomada de (235). **Figura A)** el plegamiento de Las enzimas lisosomales es modificado por chaperonas moleculares endógenas. Las enzimas de tipo salvaje son plegadas adecuadamente por Las chaperonas y correctamente transportadas a su destino (flechas verdes). Las enzimas defectuosas, no se pliegan de manera eficiente en su conformación nativa y son eliminadas por La maquinaria intracelular donde se retransportan al citosol y se degradan (flechas rojas). **Figura B)** Las chaperonas farmacológicas favorecen el plegamiento de Las enzimas mal plegadas y son correctamente transportadas a su destino.

1.3.3.1. Ambroxol hidrocloreuro (Hustless®):

Ambroxol hidrocloreuro tiene una fórmula molecular $C_{13}H_{19}Br_2ClN_2O$, con un peso molecular de 414,6 g/mol, *Imagen 31*, (238). Este fármaco es una chaperona farmacológica, (204).

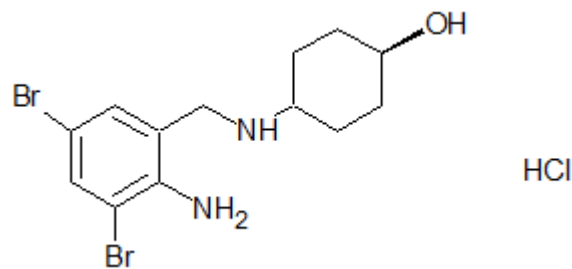


Imagen 31: estructura química de ambroxol hidrocloreuro, de autoría propia.

Ambroxol es un medicamento que se emplea para la reducción de la viscosidad de las secreciones mucosas, facilitando su expulsión en procesos catarrales y gripales para adultos. En los estudios preclínicos se ha demostrado que ambroxol aumenta la secreción de las vías respiratorias, potencia la producción de surfactante pulmonar y estimula la actividad ciliar. Estas acciones tienen como consecuencia una mejoría del flujo y del transporte de la mucosidad (aclaramiento mucociliar), según se ha demostrado en estudios farmacológicos. La potenciación de la secreción fluida y del aclaramiento mucociliar facilita

la expectoración y alivia la tos; así mismo, en pacientes con bronquitis crónica, y/o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), reduce el número de exacerbaciones, (239).

Ambroxol hidrocloreuro se metaboliza fundamentalmente en el hígado por glucoronidación e hidrólisis a ácido dibromantranílico (aproximadamente el 10% de la dosis) además de algunos metabolitos minoritarios. Los estudios en microsomas de hígado humano han mostrado que CYP3A4 es el responsable del metabolismo del fármaco a ácido dibromantranílico, (240). A los tres días de la administración oral, aproximadamente el 6% de la dosis se halla en forma libre, mientras que aproximadamente el 26% de la dosis se recupera en forma de conjugado en la orina. Alrededor del 30% de la dosis oral administrada se elimina por efecto de primer paso hepático. Alrededor del 30% de la dosis oral administrada se elimina por efecto de primer paso hepático, (239).

Las reacciones adversas más frecuentes son náuseas, pudiendo producirse otras reacciones que se recogen en la siguiente tabla, *Tabla 9*, (239):

Tabla 9: efectos adversos de ambroxol hidrocloreuro, obtenida de (239).

Clasificación de órganos del sistema	Reacción adversa	Frecuencia
Trastornos del sistema inmunológico	Reacciones de hipersensibilidad	Raros ($\geq 1/10.000$ a $< 1/1.000$)
	Reacciones anafilácticas tales como choque anafiláctico, angiodermia y prurito	Frecuencia no conocida
Trastornos gastrointestinales	Náuseas	Frecuentes ($\geq 1/100$ a $< 1/10$)
	Vómitos, diarrea, dispepsia, dolor abdominal	Poco frecuentes ($\geq 1/1.000$ a $< 1/100$)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	Exantema, urticaria	Raros ($\geq 1/10.000$ a $< 1/1.000$)
	Reacciones adversas cutáneas graves	Frecuencia no conocida

Tanto los pacientes con la EG no neuropática como los portadores heterocigotos para la mutación del gen GBA tienen un mayor riesgo de EP. El riesgo de EP en estos grupos no aumenta linealmente con la acumulación de glucosilceramida o con la actividad de la β -glucocerebrosidasa. Esta observación, junto con otras observaciones clínicas sistémicas, plantea la posibilidad de que la glucosilceramida extracelular tenga propiedades beneficiosas y antiinflamatorias. Sobre la base de esta hipótesis, Ishay et al. sugieren que la administración oral suplementaria de glucosilceramida a portadores de GBA con riesgo de EP, pueda retardar la muerte neuronal secundaria impulsada por la inflamación. Dicho tratamiento puede actuar de forma sinérgica en portadores de GBA una vez administrado en combinación con un agente que impida el proceso patológico primario que conduce a la muerte celular. El clorhidrato de ambroxol,

es una chaperona farmacológica que reduce el estrés del retículo endoplasmático inducido por la acumulación de glucocerebrosidasa mutante mal plegada. La eficacia de esta terapia combinada derivada de observaciones clínicas, debe evaluarse en ensayos clínicos tanto *in vitro* como *in vivo*, (241).

En un estudio con ratones, el tratamiento con ambroxol dio como resultado una mayor actividad de la glucocerebrosidasa cerebral en ratones *wild-type*, que en ratones transgénicos que expresan la mutación heterocigótica L444P en el gen de la glucocerebrosidasa murina 1 y que en ratones transgénicos que sobreexpresan la α -sinucleína humana. Además, en estos últimos, el tratamiento con ambroxol disminuyó los niveles de la proteína α -sinucleína y su forma fosforilada. El trabajo de estos autores apoya la propuesta de que ambroxol debe investigarse más a fondo como una posible terapia novedosa modificadora para la EP y para la EG neuronopática con el fin de aumentar la actividad de la glucocerebrosidasa y disminuir los niveles de la α -sinucleína y su forma fosforilada, (242).

Según McNeill et al., el tratamiento con clorhidrato de ambroxol incrementó la actividad de la glucosilceramidasa en fibroblastos de controles sanos, en fibroblastos de EG y en portadores heterocigotos para la mutación de glucocerebrosidasa con y sin EP. Las mutaciones de glucocerebrosidasa están asociadas con reducciones en la actividad de la glucosilceramidasa y con la evidencia del estrés oxidativo. El tratamiento con ambroxol aumenta significativamente la actividad de glucosilceramidasa y reduce los marcadores de estrés oxidativo en células que tienen las mutaciones para glucocerebrosidasa, (237).

1.3.4. Trasplante de células hematopoyéticas (TCH):

El TCH es un procedimiento menos costoso que ofrece la posibilidad de curación permanente comparado con otras medidas conservadoras actualmente en uso, TRE y TRS. Sin embargo, el procedimiento se asocia con una mortalidad que va de menos del 5% a más del 10%, según la disponibilidad de un hermano con antígeno leucocitario humano (HLA) compatible y el origen de las células madre, (243). Se prevé que la mortalidad sea mayor en los pacientes con EG con un alto grado de afección. La elección entre el TCH y las medidas conservadoras para tratar a las personas con EG depende de la evaluación de los beneficios a largo plazo del trasplante de médula ósea en la mortalidad y morbilidad significativa asociada con el procedimiento. No se han llevado a cabo ensayos controlados aleatorios ni ensayos controlados cuasi-aleatorios relevantes que evalúen la

función del TCH en el tratamiento de la EG, (244). Otra cuestión a resolver es si el TCH puede corregir los trastornos metabólicos del SNC en los individuos con EG tipos 2 y 3. Ito y Barret revisaron recientemente las experiencias internacionales con trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT) para el tratamiento de las formas neuronopáticas y no neuronopáticas de la EG, aspectos que siguen todavía en debate, (245).

En la actualidad, el TCH es el tipo de tratamiento que puede proporcionar una fuente permanente de enzimas a las personas con EG, además es un procedimiento considerablemente menos costoso comparado con la intervención más utilizada, TRE. Varios estudios clínicos indicaron que cuando el trasplante es exitoso, el TCH produce un resultado clínico favorable con un crecimiento acelerado, una reversión de la organomegalia y una posible regresión de las alteraciones óseas. Las personas con EG de tipo 3 no presentaron deterioros neurológicos adicionales. Un estudio no aleatorio indicó que el TCH puede ser más efectivo que la TRE con las dosis actualmente utilizadas, en la reducción de las reservas corporales de glucocerebrósidos, (246).

Sgambato JA et al. demostraron un potencial de desarrollo deficiente de las células hematopoyéticas progenitoras de la EG (GD-HPC) debido a la deficiencia de la enzima glucocerebrosidasa que refleja las manifestaciones clínicas. También demostraron que la deficiencia de la glucocerebrosidasa produce una diferenciación hematopoyética alterada, de modo que la diferenciación mieloide mejora y que la diferenciación y maduración de los eritrocitos son deficientes. Por último, también sugirieron que la mielopoyesis aberrante podría contribuir a la generación de macrófagos patológicos, los cuales son fundamentales para las manifestaciones de la EG. Las células madre pluripotenciales inducidas de la EG (GD-iPSCs), serán una herramienta invaluable para identificar los mecanismos que subyacen a la fisiopatología de la EG, (247).

1.4. FARMACOGENÉTICA:

Existen muchos factores, tanto endógenos como exógenos, que pueden influir en la eficacia y/o toxicidad de un tratamiento. Ambos convienen que sean tenidos en cuenta en la elección del fármaco más adecuado.

Las reacciones adversas a los medicamentos constituyen hoy en día una de las causas importantes de morbilidad y mortalidad en pacientes, así como en un aumento de los costos de salud. Esto es debido a que los actuales sistemas de I+D (Investigación y Desarrollo) presuponen que los pacientes son un conjunto homogéneo y que, por consiguiente, los medicamentos eficaces y bien tolerados en unos lo serán también en el resto, (248).

La experiencia clínica, sin embargo, nos muestra una realidad distinta: medicamentos que funcionan bien en algunos pacientes, son ineficaces o causan reacciones adversas en otros, incluso mortales, (249).

Estas variaciones individuales en la respuesta a fármacos pueden deberse a la influencia de factores endógenos y exógenos, (250):

- Factores endógenos: son factores de base genética, así como también de la edad o el sexo del paciente.
- Factores exógenos: son aquellos que se refieren al ambiente natural y los ambientes artificiales formados por el ser humano. Dentro de este tipo de factores podemos destacar la dieta, el uso de agentes xenobióticos como el café, el tabaco, el alcohol, otros fármacos, etc...

El estilo de vida, los alimentos, el funcionamiento del hígado, el estado nutricional y la severidad de una enfermedad puede afectar la manera en que el cuerpo responde a los medicamentos, pero los genes también contribuyen de manera muy influyente, (251).

1.4.1. Concepto:

La farmacogenética es el estudio de la variabilidad en las respuestas farmacológicas atribuidas a factores hereditarios en diferentes poblaciones, (252). La información que aporta esta ciencia es útil para conocer de antemano

cuál será el mejor medicamento o la mejor dosis para una persona de forma individual, (253). La habilidad de los individuos de metabolizar fármacos depende de numerosos factores, entre ellos el perfil genético. De esta manera, pacientes con alteraciones en la expresión de ciertas enzimas pueden presentar una eliminación disminuida o aumentada del fármaco, generando el fracaso terapéutico, riesgo de intoxicaciones y efectos adversos. Cada persona es genéticamente diferente y en consecuencia los medicamentos no sirven igual para todos. El conocer el genotipo de un paciente puede ser de gran utilidad para seleccionar el medicamento apropiado y ajustar la dosis del mismo, con la finalidad de proporcionar el tratamiento y las dosis óptimas. Esto puede ayudar al clínico a tratar las enfermedades y reducir los efectos adversos, (254).

1.4.2. Historia:

- La primera observación de la farmacogenética se remonta al año 510 a.C. cuando Pitágoras observó que la ingesta de habas producía en algunos individuos una reacción potencialmente fatal. Con el tiempo se reconoció que se trataba de una anemia hemolítica que aparecía en individuos con deficiencia en la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), (255).
- En 1909, Garrod, fundador de la bioquímica genética, fue el primero en proponer que las variaciones en el metabolismo eran características que se heredaban a los descendientes, (256).
- En 1940, se definió por Ford el polimorfismo genético: “el polimorfismo genético consiste en la presencia simultánea en el mismo área de dos o más formas, en tal proporción que la más rara no pueda mantenerse sólo por la recurrencia de una mutación o la migración”, (257), definición que sería en 1971 modificada por Cavalli-Sforza y Bomer: “el polimorfismo genético es la presencia en la misma población de dos o más alelos en un *Locus*, con una frecuencia apreciable”, (258).
- En 1957, Motulsky enfatizó que ciertas reacciones adversas pueden ser causadas por variaciones en la actividad de las enzimas que están genéticamente determinadas, (259).
- En 1959, Frederick 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. Esto solía denominarse

idiosincrasia a medicamentos como anestésicos, opiáceos, quimioterápicos, anticancerígenos, etc..., (260).

- A finales de la década de los 50, se probó que la farmacogenética era un fenómeno común en el caso de tratamiento por algunos fármacos, (261,262,263).
- En 1973, Vesell demostró que el metabolismo de varios fármacos en gemelos idénticos es menos cambiante que en gemelos no idénticos, (264).
- En 1986, Vogel y Motulsky, y Meyer en 1991 contribuyeron a distinguir entre los fenotipos raros y comunes.
- En 1990, se desarrolla el uso de la bioinformática (integración de la biología molecular y las técnicas informáticas). La bioinformática es una herramienta imprescindible para el desarrollo de la farmacogenética y farmacogenómica, (265,266,267,268,269).
- En 1997, el término farmacogenómica empezó a ser usado junto con el término farmacogenética, (270).
- En 2003, se consiguió secuenciar por completo el código genético humano. Esto supuso una gran revolución para el campo de la farmacogenética y farmacogenómica. Con esta nueva información, ahora sabemos que el genoma de dos personas distintas difiere en sólo un 0,1%, portando un 99,9% de las bases iguales en todo el ADN, (271).

1.4.3. Farmacocinética de los fármacos:

La farmacocinética clínica constituye una ciencia de carácter multidisciplinar y de un gran interés sanitario, cuyo principal objetivo en la práctica asistencial es la individualización posológica u optimización de los tratamientos farmacológicos, a fin de alcanzar la máxima eficacia terapéutica con la mínima incidencia de efectos adversos. Esta ciencia emergió como una disciplina a finales de la década de los 60, ofreciendo una importante proyección clínica para el farmacéutico de hospital con una sólida base científica. Según G. Levy, considerado su fundador, es: “una disciplina de las ciencias de la salud que se ocupa de la aplicación de la farmacocinética al control terapéutico individualizado”, (272). Con el objetivo general de mejorar la terapia en pacientes concretos mediante el uso de criterios farmacocinéticos, las funciones de esta disciplina son diversas. Las funciones

principales serían el diseño inicial de la posología en pacientes concretos y en función de diversos parámetros como: información sobre el perfil cinético del fármaco, objetivo terapéutico perseguido, proceso patológico tratado y variables demográficas, fisiopatológicas y clínicas del paciente; la otra función principal es el control o reajuste de la posología, cuando sea necesario, con el objetivo de individualizar la terapia. Otras funciones de esta disciplina serían: detección diagnóstica, consulta y asesoramiento en situaciones especiales, y análisis retrospectivo de errores terapéuticos o tratamientos inadecuados, (272).

Para producir sus efectos, un fármaco debe tener la concentración apropiada en los sitios de acción. Dicha concentración está relacionada con la dosis administrada del fármaco activo (libre). La fracción libre (no unida a proteínas), también depende del grado de absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y excreción, (273).

La variabilidad de respuesta de los pacientes ante un determinado fármaco puede deberse a la presencia de polimorfismos que alteren la actividad de las proteínas que gestionan el fármaco, con lo que puede conllevar a alteraciones en la diana de los fármacos en cada individuo. Éste también puede conllevar a alteraciones en la diana de los fármacos. Dependiendo de cada fármaco, estas dianas pueden ser: receptores específicos en la superficie celular, enzimas, canales iónicos o transportadores de mediadores fisiológicos. Hoy día existen una gran cantidad de datos sobre estudios de los polimorfismos que pueden modular la respuesta al fármaco, aunque los hallazgos de estos estudios no siempre coinciden por completo, (274).

Las características genéticas individuales condicionan la existencia de “metabolizadores rápidos” y “metabolizadores lentos”, cuya proporción varía para los distintos grupos étnicos, (275). Estas características implican en la práctica diferencias en la capacidad de biotransformación de los fármacos, (276,277). El fenotipo de metabolizador tiene importantes implicaciones posológicas, ya que la dosificación de los fármacos debe de ajustarse en función del tipo de metabolizador, (278,279).

1.4.4. Enzimas metabolizadoras de fármacos:

Tras la administración de un fármaco, el organismo humano procede a su eliminación bien por excreción sin modificación alguna del mismo, o bien por

un proceso previo de biotransformación, con la formación de metabolitos, que podrán ser activos o inactivos.

Las reacciones que sufren los fármacos durante su metabolismo se encuentran divididas en dos fases:

- **Fase I:** son aquellas en las cuales las enzimas que participan causan un cambio en la molécula del fármaco. Un ejemplo de ello serían las reacciones de tipo redox o de tipo hidrólisis. En estos tipos de reacciones se incluirían las enzimas reductasas, oxidasas e hidrolasas, familia citocromo P450, (280).
- **Fase II:** estas enzimas llevan a cabo reacciones de unión en las cuales hay formación de un metabolito producido en la reacción de la fase I. Son aquellas en las cuales se comprenden todas las enzimas que son transferasas, ya que transfieren grupos como sulfatos, metilos, glutatión y aa a los fármacos que han sido metabolizados por enzimas de la fase I, (280).

El citocromo P-450 es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. Todos los P-450s conocidos se nombran siguiendo un criterio común y se agrupan en familias y subfamilias en función de la similitud en la secuencia del ADN que los codifica. Las familias 1, 2 y 3 están constituidas por enzimas encargadas de la biotransformación de xenobióticos, mientras que el resto de familias incluyen P-450s que intervienen en la biosíntesis y el metabolismo de compuestos endógenos. Una de las características más significativas de los P-450 que metabolizan xenobióticos es su baja especificidad, lo que permite que sean capaces de metabolizar un número casi ilimitado de substratos principalmente a través de reacciones de oxidación, pero también de reducción e hidrólisis. En el ser humano, los P-450s están ampliamente distribuidos por todo el organismo, si bien el hígado es el órgano con mayor expresión de estas enzimas. Su expresión está regulada por factores genéticos (algunos presentan polimorfismos genéticos), fisiopatológicos (regulación hormonal, enfermedades) o ambientales (factores nutricionales, inducción, inhibición). Por esta causa, sus niveles hepáticos varían extraordinariamente entre diferentes individuos, lo que justifica las notables diferencias que, en ocasiones, se observan en el metabolismo de fármacos y xenobióticos, (281).

La inducción o inhibición de las P-450 son problemas importantes tanto en las interacciones farmacológicas como en las deficiencias enzimáticas. Hoy en día, es posible utilizar métodos *in vitro* para predecir no sólo la eliminación de fármacos para nuevos compuestos sino también las interacciones farmacológicas, los problemas farmacogenéticos y otros efectos farmacológicos antes de proceder con los ensayos clínicos, (282).

Las enzimas UDP-glicosiltransferasas (UGT) catalizan la adición covalente de azúcares a una amplia gama de moléculas lipofílicas. Esta biotransformación desempeña un papel fundamental en la eliminación de una amplia gama de productos químicos exógenos y subproductos del metabolismo endógeno, y también controla los niveles y distribución de muchas moléculas de señalización endógenas. En los mamíferos la superfamilia está compuesta de cuatro familias: UGT1, UGT2, UGT3 y UGT8. Las enzimas UGT1 y UGT2 tienen funciones importantes en farmacología y toxicología, incluida la contribución a las diferencias interindividuales en la disposición al fármaco. Estas dos UGT se expresan altamente en órganos de desintoxicación, como hígado, riñón o intestino, y pueden ser inducidas por vías que detectan la demanda de desintoxicación y modulación de las moléculas de señalización endobiótica. Las funciones de las enzimas UGT3 y UGT8 sólo se han caracterizado parcialmente; estas enzimas muestran preferencia de azúcar UDP diferentes a las de las enzimas UGT1 y UGT2, y hasta la fecha, sus contribuciones al metabolismo de los fármacos parecen ser relativamente menores, (283).

La variación en el metabolismo de los fármacos es una de las áreas mejor estudiadas de la farmacogenética. Los citocromos P450 son la familia de genes más importante que contribuye al metabolismo oxidativo de un amplio espectro de medicamentos. Las principales enzimas metabolizadoras de esta vía son: CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4 y CYP2C19, las cuales tienen papeles particularmente importantes en la fase I y cada uno de ellas están codificadas por diferentes genes, (274). Los polimorfismos genéticos de todos ellos están bien estudiados y, en el caso de CYP2D6 y CYP2C19, existen porcentajes significativos en la población que carecen completamente de una de estas enzimas debido a la presencia de polimorfismos de inactivación genética en ambas copias del gen, (284). La presencia de estas variantes alélicas que codifican para las formas inactivas da como resultado una ausencia de actividad. Por otro lado, las personas que tienen una mayor actividad enzimática que aquellas que sean normales para CYP2D6 o CYP2C19, son los denominados metabolizadores ultrarrápidos. En el caso de CYP2D6 es debido a una o más copias adicionales

presentes en el gen, (285), y para *CYP2C19*, la presencia de polimorfismos da como resultado un aumento de la expresión génica, (286).

Existen más de treinta familias de enzimas metabolizadoras, especialmente la familia del *CYP2D* y *CYP3A*, en las que el polimorfismo genético constituye casi por regla general los cambios funcionales en la proteína codificada, (287,288). A través del estudio del genotipo de los polimorfismos de las enzimas metabolizadoras de fármacos, se puede establecer una relación con la capacidad metabólica individual obteniendo la siguiente clasificación en función de dicha capacidad, (289):

- **Metabolizadores lentos:** la enzima codificadora carece de actividad.
- **Metabolizadores intermedios:** son portadores de al menos una copia del gen activo.
- **Metabolizadores rápidos:** tienen duplicado el gen activo.
- **Metabolizadores ultrarrápidos:** tienen un aumento de la expresión del gen, con lo que presentan una mayor actividad enzimática.

Los individuos pueden ser estudiados para encontrar los polimorfismos genéticos y de este modo analizar el genotipo y observar el fenotipo.

Finalmente, para modular su efecto, los fármacos se deben unir físicamente a sus dianas receptoras o a las proteínas involucradas en la respuesta farmacológica, (290). Los genes involucrados en este proceso, con los polimorfismos en sus receptores, también determinan las diferencias individuales en la respuesta farmacológica, (291).

1.4.5. Proteínas transportadoras de fármacos:

El papel que juegan los transportadores en los procesos de absorción, distribución y excreción es esencial. La mayoría de los fármacos son transportados por unas proteínas, los cuales actúan como la bomba de ATP consumiendo energía, y cuya misión es la de exportar el sustrato correspondiente desde el interior al exterior de las células. Una de las familias más importantes son los transportadores ABC. El más estudiado es la P-gp, codificada por el gen *ABCB1* (también conocido como *MDR1*), cuya expresión en varios tejidos normales sugiere su importante papel en la excreción de metabolitos a la orina,

bilis y luz intestinal, mientras que en la BHE limita la acumulación de varios fármacos en el cerebro. Los polimorfismos en el gen *ABCB1* se asocian a modificaciones en las concentraciones de los fármacos y causan desde efectos indeseables hasta una falta de acción terapéutica, (292).

1.4.6. Beneficios de la farmacogenética:

La farmacogenética es la ciencia genómica que estudia las acciones e interacciones entre los fármacos en cada persona en función de sus genes. Estudia las diferentes respuestas que cada persona tendrá ante un mismo fármaco según sus alteraciones genéticas. Su objetivo principal, es la predicción del riesgo de toxicidad y/o fracaso terapéutico al administrar un determinado medicamento a una determinada persona, ya que cada persona es genéticamente diferente y, por tanto, no todos los medicamentos sirven igual para todos. La farmacogenética constituye una ayuda eficaz para “prescribir la medicación adecuada para cada paciente, en función de sus polimorfismos genéticos”, con el fin de evitar al paciente posibles efectos adversos o fracasos terapéuticos, (293).

La integración de los datos genéticos y de otras ciencias ómicas con el conjunto de datos clínicos del paciente y su entorno, permite una práctica clínica adaptada a las características individuales de cada paciente, en lo que se denomina medicina personalizada de precisión. Este tipo de medicina supone un cambio de paradigma en la asistencia sanitaria y favorece intervenciones médicas preventivas, diagnósticas y terapéuticas más eficaces y seguras, ofreciendo la oportunidad de evitar gastos innecesarios y contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas sanitarios. Sin embargo, su aplicación de manera generalizada plantea importantes retos, (294).

Actualmente existen tablas de recomendaciones de ajuste de dosis de fármacos metabolizados por las diferentes enzimas, las cuales están basadas en estudios publicados utilizando el análisis del genotipo. Incluso se menciona ya el término “pasaporte genético”, una base de datos con la información genotípica del paciente, que será de gran importancia para el médico al momento de prescribir un medicamento, permitiendo el ajuste de la dosis de manera individual. Se espera que poco a poco se modifique el proceso de cómo se prescriben y administran los medicamentos a los pacientes y así, que el desenlace clínico de éstos sea más certero y favorable, (295).

En el Reino Unido, el proyecto de los 1000 genomas proporciona información farmacogenética sobre la gran cantidad de pacientes que han sido incluidos en el estudio, (296). Las bases para poner esta información a disposición de los prescriptores aún no están claras, pero parece probable que estén disponibles en un futuro cercano con el objetivo de impulsar la implementación de la prescripción guiada por el genotipo como ya está sucediendo en algunos centros a nivel internacional, (297). En varios países europeos se está llevando a cabo el proyecto U-PGx, el cual está en progreso, y que trata sobre el genotipado preventivo para una variedad de polimorfismos farmacogenéticos; la información genotípica generada se pone a disposición de los prescriptores y los resultados esperados, (298).

Además de utilizar el conocimiento farmacogenético establecido de manera más eficiente, los desarrollos en genómica, incluidos los estudios de asociación de todo el genoma, proporcionan datos bien contrastados sobre factores de riesgo genético para tratamientos complejos. Algunos de estos factores de riesgo novedosos pueden ser objetivos terapéuticos útiles para el desarrollo de nuevos fármacos o mejorar los existentes, (299,300). El conocimiento del genotipo del paciente para estos objetivos será importante para prescribir estos medicamentos en el futuro.

Todos estos desarrollos significan que la información farmacogenética esté disponible de forma rutinaria en el futuro, especialmente en entornos tecnológicamente avanzados, y esto puede influir en la prescripción de una gama de medicamentos más allá de aquellos en los que actualmente se requieren pruebas antes de la misma, (301).

El desarrollo de la farmacogenética hará que los medicamentos sean más eficaces, puesto que las compañías farmacéuticas podrán crear fármacos basados en el conocimiento de las proteínas y los genes asociados a determinadas enfermedades. También serán fármacos más seguros. El médico podrá solicitar un análisis genético y, en función del resultado, prescribir una terapia más adecuada, asegurando la eficacia e incrementando la seguridad. Basándose en el perfil genético del individuo, se desarrollarán métodos más precisos para poder determinar una dosis más ajustada del fármaco. Esto maximizará el valor de la terapia, pudiéndose resolver los problemas derivados de las sobredosis. Si conocemos con antelación la susceptibilidad a presentar una enfermedad, podemos llevar una adecuada monitorización de esta e introducir el tratamiento en el momento preciso para poder maximizar la terapia. Finalmente, el coste y riesgo

de los ensayos clínicos serán menores, ya que el grupo de pacientes respondedores a un fármaco en estudio será más concreto, (302).

1.4.7. Implicaciones éticas, jurídicas y sociales:

Cuando se realiza un estudio farmacogenético hay que tener en cuenta las implicaciones éticas, jurídicas y sociales. Algunos científicos insisten en que el desarrollo de fármacos, para determinados grupos poblacionales o incluso individuales, no debe llevar a la exclusión de otros, es decir, se corre el riesgo de adaptar los fármacos a los perfiles genéticos más comunes, creando grupos distintos de pacientes “comunes” y otros “no comunes”, o incluso discriminar a grupos poblacionales con menos recursos económicos que no podrán pagar los fármacos ni las pruebas. Todo esto sin mencionar los problemas éticos y sociales que pueden derivar del conocimiento del genoma de cada individuo, (302). Existen situaciones en las que esta información supone un riesgo por el impacto que pueda tener sobre la persona que se somete a la prueba farmacogenética, y también por las repercusiones que tenga el conocimiento por terceras personas. Por este motivo, es importante obtener el consentimiento informado, así como ofrecer un adecuado asesoramiento genético, (303).

La información derivada de los análisis farmacogenéticos, además de dar información para el tratamiento médico, también se puede utilizar para fines contrarios a los intereses de los pacientes. Los intereses de los profesionales sanitarios pueden ser muy diferentes de los de una compañía de seguros que, conociendo el perfil genético de un individuo, podría disminuir sus riesgos incurriendo en un comportamiento oportunista, aplicando diferentes cuotas en función de la predisposición a presentar determinadas enfermedades. Es un tema de confidencialidad de datos que debe regularse de forma estricta antes de que se den los primeros casos de discriminación genética en cualquier ámbito de la vida de una persona: el trabajo, la medicina o las compañías aseguradoras. Si conocemos con antelación la susceptibilidad a presentar una enfermedad, podemos llevar una adecuada monitorización de esta e introducir el tratamiento en el momento preciso para poder maximizar la terapia. El problema es más complejo cuando nos referimos al ámbito familiar. Un paciente puede hacerse unas pruebas genéticas para iniciar un determinado tratamiento y conocer, de forma accidental, la predisposición a presentar otra enfermedad, ya que, algunas veces, enfermedades que fenotípicamente parece que no tienen ninguna relación, están fuertemente relacionadas genéticamente. Los avances en la genómica conducirán al desarrollo de los análisis genéticos en la práctica médica

habitual, ampliando el abanico de herramientas disponibles para los médicos y completando así los métodos de diagnósticos, (302).

1.5. GENES RELEVANTES PARA EL TRATAMIENTO CON ELIGLUSTAT:

En este apartado se describe con más detalle los genes que participan en la ruta metabólica de eliglustat. Tanto *CYP2D6* como *CYP3A4* codifican proteínas de la superfamilia de las enzimas del citocromo P450.

El hecho de que describa estos genes y no otros de la familia P450, así como transportadores, es debido a que uno de los fármacos utilizado para el tratamiento de la EG, eliglustat, como muchos otros fármacos, se metaboliza en su gran mayoría por *CYP2D6*, y en menor parte por *CYP3A4*. En cuanto al transportador, eliglustat es sustrato de *ABCB1*, motivo por el cual se ha elegido a este en lugar de otros transportadores de la familia ABC.

1.5.1. *CYP2D6*:

CYP2D6 es el acrónimo de consenso internacional usado para referirse a la proteína *CYP2D6* (EC 1.14.14.1), (203), *Imagen 33*. La *CYP2D6* forma parte de la familia CYP2, compuesta por 13 subfamilias, 16 genes y 16 pseudogenes. Constituyen el 1,5% total de enzimas P450 del hígado, (304), estando su gen localizado en el cromosoma 22q13.2, *Imagen 32*. La actividad de la *CYP2D6* cambia con la edad, siendo ligeramente menor en la mujer (305).

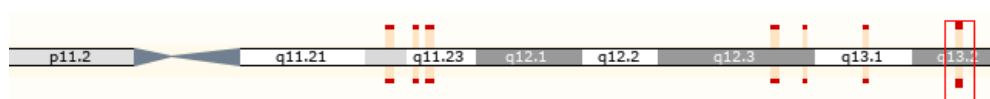


Imagen 32: Localización en el cromosoma del gen CYP2D6, tomada de (15).

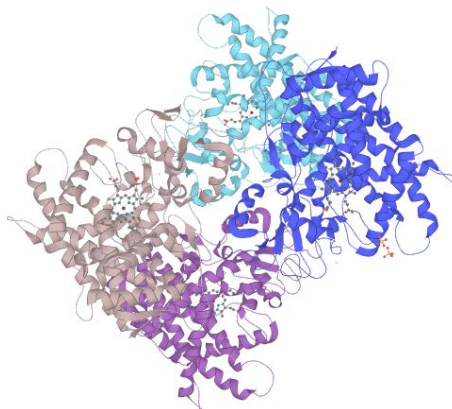


Imagen 33: estructura proteica de la CYP2D6, tomada de (19).

La proteína que codifica *CYP2D6*, se localiza en el retículo endoplasmático y es conocida por metabolizar hasta el 25% de los fármacos utilizados comúnmente. Sus sustratos incluyen: antidepresivos, antipsicóticos, analgésicos, antitusivos, agentes β -bloqueantes adrenérgicos, antiarrítmicos y antieméticos, (306,307). El gen es altamente polimórfico, han sido identificados más de 74 alelos diferentes, (308). Muchos de los alelos del *CYP2D6* codifican una enzima con una función reducida o nula en comparación con la enzima de tipo *wild type*. También se pueden encontrar reordenamientos de genes con más de dos copias del gen *CYP2D6* (duplicación del gen) o ausencia de ambas copias del gen (supresión). Dependiendo de la combinación de alelos en un individuo, los fenotipos metabolizadores de fármacos asociados con la enzima *CYP2D6* pueden variar. Los fenotipos metabolizadores de fármacos se han clasificado en cuatro grupos: metabolizadores pobres (MP), intermedios (MI), extensivos o rápidos (ME) y ultrarrápidos (MU), como ya se ha explicado anteriormente.

El fenotipo de un individuo depende de la combinación de alelos que tenga. Para *CYP2D6*, existen tres categorías de alelos: funcionamiento normal (*1 y *2), función reducida (*9, *10, *17, *29 y *41) y no funcional (*3, *4, *5, *6, *7, *8, *11 y *15), *Tabla 10*.

Tabla 10: fenotipo metabolizante de fármacos para los diferentes genotipos del CYP2D6, obtenida de (309). EM: extensive metabolizer, PM: poor metabolizer, IM: intermediate metabolizer.

	*1	*2	*3	*4	*5	*6	*7	*8	*9	*10	*11	*15	*17	*29	*35	*41
*1	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM
*2		EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM	EM
*3			PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*4				PM	PM	PM	PM	PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*5					PM	PM	PM	PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*6						PM	PM	PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*7							PM	PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*8								PM	IM	IM	PM	PM	IM	IM	EM	IM
*9									IM	IM	IM	IM	IM	IM	EM	IM
*10										IM	IM	IM	IM	IM	EM	IM
*11											PM	PM	IM	IM	EM	IM
*15												PM	IM	IM	EM	IM
*17													IM	IM	EM	IM
*29														IM	EM	IM
*35															EM	EM
*41																IM

El fenotipo *CYP2D6* depende de factores ambientales además del genotipo *CYP2D6*. La coadministración de fármacos metabolizados por la *CYP2D6*, u otros fármacos que pueden actuar como inductores o inhibidores de *CYP2D6*, también afecta al fenotipo metabolizador de fármacos. Otros factores incluyen la edad, el área de la superficie corporal, el sexo, las funciones renales y hepáticas, el estado de la enfermedad y factores de estilo de vida como el tabaquismo, algunos alimentos y el consumo de alcohol, (310) como veremos más adelante.

Las variaciones en la actividad de la enzima *CYP2D6* pueden conducir a una variedad de problemas en la práctica clínica. Los MP desarrollan una mayor concentración sérica del fármaco, lo que puede originar un mayor riesgo de efectos secundarios dependientes de la concentración. También pueden experimentar toxicidad de los fármacos u otras reacciones adversas a los fármacos, o un efecto terapéutico prolongado a causa de la alteración en la depuración del fármaco. Si se administra un fármaco como un profármaco que requiere biotransformación a una forma activa, los MP pueden experimentar un efecto terapéutico inadecuado en el caso de que no alcance la dosis terapéutica. Los MI pueden experimentar algunos de estos mismos problemas en menor medida. En cuanto a los MU, el rápido metabolismo del fármaco puede dar lugar a una falta de eficacia y a un fracaso terapéutico, ya que el medicamento puede no alcanzar la concentración necesaria.

El genotipo *CYP2D6* puede ser particularmente relevante para fármacos con un índice terapéutico estrecho, debido a que los diferentes genotipos del *CYP2D6* (MP, MI, MR y MU) están relacionados con la capacidad de metabolización del fármaco por parte del paciente. La administración de dos o más fármacos que sean sustratos de *CYP2D6* puede alterar el metabolismo de cada fármaco. La coadministración de un sustrato y un inhibidor pueden conducir a una toxicidad o efectos secundarios del fármaco. En el caso de coadministración de un sustrato y un inductor puede conducir a concentraciones subterapéuticas, *Tabla 11*, (304,311,312). Las interacciones medicamentosas pueden ser una causa especialmente relevante y variable para los fármacos en general, ya que a menudo se coadministran con otros tratamientos, (313).

Tabla 11: sustratos, inhibidores e inductores de CYP2D6, obtenida de (314).

CYP2D6	Grupo	Fármacos					
		TR5	Eliglustat				
Sustratos	β -bloqueantes	Metoprolol	Carvedilol	Timolol	Alprenolol	Atenolol	
	Antiarrítmicos de clase I	Flecaidina	Lidocaína	Propafenona	Encainida	Mexiletina	
	Antidepresivos tricíclicos	Imipramina	Amitriptilina				
	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)	Fluoxetina	Paroxetina				
	Opioides	Codeína	Tramadol	Oxicodona			
	Antipsicóticos	Haloperidol	Perfenazina	Zuclopentixol	Aripiprazol		
		Risperidona	Tioridazina	Remoxipride			
	Alcaloides de la vinca	Vincristina					
	Otros	Ondansetron	Fenformina	Anfetaminas	Metoclopramida	Debrisoquina	
		Mianserina	Tropisetron	Clorfenamina	Tamoxifeno	Dextrometorfano	
		Venlafaxina					
	Inhibidores	ISRS	Citalopam	Fluoxetina	Paroxetina		
		Antihistamínicos	Clorfenamina	Difenhidramina			
		Antipsicóticos	Pimozide	Tioridazina	Clorpromazina		
			Haloperidol				
Otros		Bupropion	Celecoxib	Metoclopramida			
		Cloranfenicol	Moclobemida	Ranitidina			
		Metadona	Ritonavir	Halofantrina			
		Ranolazín	Levomepromazina	Quinidina			
		Imipramina	Doxorubicina	Doxepina			
		Cimetidina	Quinidina	Amiodarona			
	Terbinafina	Clomipramina					
Inductores	Piperidina	Glutetimida	Carbamazepina	Dexametasona	Rifampicina		

Las frecuencias de cada uno de los alelos *CYP2D6* en personas caucásicas, asiáticas, africanas y afroamericanas se resumen en las tablas: *Tabla 12 a* y *Tabla 12 b*. El alelo *1 es el más común entre los caucásicos. El alelo *2, el cual también resulta en una actividad normal de la enzima, es el segundo alelo más común entre los mismos. Sin embargo, en los afroamericanos, el alelo *17, un alelo de función reducida, es tan frecuente como el alelo *2. En los asiáticos, el alelo *10 de función reducida, es tan común o más frecuente que el alelo *1. El alelo *4, un alelo no funcional, es bastante común en personas caucásicas. Las frecuencias de los demás alelos varían. Las frecuencias correspondientes a algunos alelos y grupos étnicos no han sido descritas en la literatura. La frecuencia de duplicación/multiduplicación del alelo *2 varía según el origen étnico: en caucásicos es del 1,1 al 2,3%; en los afroamericanos

y africanos de raza negra es del 1 al 2,4%; y en los asiáticos es del 0,9 al 1,3%, (315,316). Las frecuencias de otros alelos duplicados no se conocen.

*Tabla 12 a: polimorfismos del gen CYP2D6 alelos *1-*10, obtenida de (309).*

Alelo	SNP	MAF raza blanca UE (316)	MAF raza blanca EE.UU. (316)	MAF población afroamericana (316)	MAF población africana de raza negra (316)	MAF población japonesa (316)	MAF población china (316)	Actividad prevista de la enzima	Referencias
*1	Ninguna	33-37%	37-40%	29-35%	28-56%	42-43%	23%	Normal	(317), (318), (319).
*2	-1584C>G, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	22-33%	26-33%	18-27%	11-44%	9-13%	20%	Normal	(285), (318), (320), (321), (322).
*3	2549A>del	1-4%	1%	0,2-0,6%	< 1%	NA	2%	Ninguna	(318), (323).
*4	100C>T, 1661G>C, 1846G>A, 4180G>C, 2850C>T	12-23%	18-20%	6-9%	1-7%	< 1%	0-1%	Ninguna	(318), (319), (323), (324), (325).
*5	Supresión	2-7%	2-4%	6-7%	1,60%	5-6%	6%	Ninguna	(326), (327).
*6	1707T>del, 4180G>C	1%	1%	0,5%	0%	NA	NA	Ninguna	(318), (328), (329), (330).
*7	2935A>C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Ninguna	(328).
*8	1661G>C, 1758G>T, 2850C>T, 4180G>C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Ninguna	(331).
*9	2613delAGA	0-3%	2-3%	0,3%	0%	0%	0-1%	Reducida	(332), (333), (334), (335), (336), (337).
*10	100C>T, 1661G>C, 4180G>C	1-2%	2-8%	0,4%	3-9%	39-41%	50-70%	Reducida	(322), (334), (338), (339).

MAF: Minor Allele Frequency.

Tabla 12 b: polimorfismos del gen CYP2D6 alelos: *11, *15, *17, *29, *35 y *41, obtenida de (309).

Alelo	SNP	MAF raza blanca UE (316)	MAF raza blanca EE.UU. (316)	MAF población afroamericana (316)	MAF población africana de raza negra (316)	MAF población japonesa (316)	MAF población china (316)	Actividad prevista de la enzima	Referencias
*11	883G>C, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Ninguna	(340).
*15	138insT	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Ninguna	(319).
*17	1023C>T, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	< 1%	0,2-0,3%	15-26%	9-34%	NA	NA	Reducida	(341), (342).
*29	1659G>A, 1661G>C, 2850C>T, 3183G>A, 4180G>C	NA [#]	NA [#]	NA [#]	NA [#]	NA [#]	NA [#]	Reducida	(318), (343), (344).
*35	- 1584C>G, 31G>A, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	NA	7,4%	1% ⁵	NA	0% ⁵	NA	Normal	(318), (345), (346).
*41	1661G>C, 2850C>T, 2988G>A, 4180G>C	NA	9% ⁵	11% ⁵	NA	2,6%	NA	Reducida	(321), (345), (346), (347).

[#]No se conoce la frecuencia del alelo *29 en las poblaciones caucásica y asiática; no obstante, es muy común en los africanos de Tanzania, con una MAF del 20%, (343).

Se ha planteado que la posibilidad de que la deficiencia de estas enzimas podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de la EP de aparición precoz debido a que carecen de esta barrera enzimática en el hígado para la entrada de una toxina dopaminérgica ambiental como es la metilfeniltetrahidropiridina (MPTP), (348).

1.5.2. CYP3A4:

Este gen codifica para proteínas de la familia de las monooxigenasas (EC 1.14.13.32, 1.14.14.55, 1.14.14.56, 1.14.14.57 ó 1.14.14.73), (349,350) que se localiza en el retículo endoplasmático y su expresión está inducida por glucocorticoides y algunos agentes farmacológicos. La enzima está involucrada en el metabolismo de aproximadamente la mitad de los fármacos, y también metaboliza algunos esteroides y carcinógenos, (351). Este gen se localiza en el cromosoma 7q21.1, *Imagen 34*, y se compone de 13 exones que codifican para una proteína de 503 aa, *Imagen 35*. Alternativamente, han sido identificadas variantes de transcripción de *splicing* que codifican diferentes isoformas, (351).

Aunque si bien la CYP3A4 aparece predominantemente en el hígado, también se expresa en otros órganos y tejidos, como por ejemplo en el intestino, en donde juega un papel importante en el metabolismo de ciertos fármacos, también metaboliza determinadas sustancias que actúan como profármacos para posibilitar su absorción como principios activos. Recientemente, la CYP3A4 ha sido identificada en el cerebro, donde su papel respecto al SNC es aún desconocido, (352). Los hallazgos no apoyan un papel clave para las variantes alélicas analizadas en la mayoría de las personas caucásicas con baja actividad de la CYP3A4. Esto sugiere la aparición de mutaciones aún desconocidas que afectan al CYP3A4 u otros genes relacionados funcionalmente, (353).

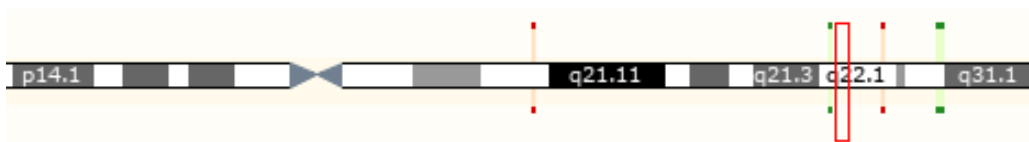


Imagen 34: Localización en el cromosoma del gen CYP3A4, tomada de (15).

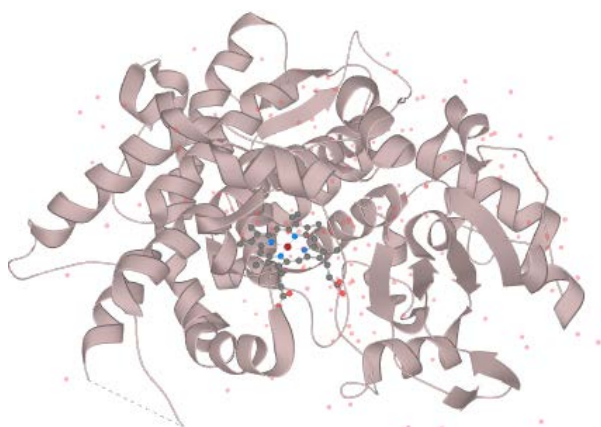


Imagen 35: estructura proteica 3D de La proteína CYP3A4, tomada de (19).

El gen CYP3A4 está altamente conservado, desde el punto de vista de la evolución, debido a la importancia en el metabolismo de compuestos endógenos y exógenos. Por otro lado, estos hallazgos muestran que las mutaciones pueden contribuir de manera notoria a la explicación de la farmacocinética observada en la clínica. La principal causa de la variabilidad de CYP3A4, son los factores reguladores como los receptores nucleares, las citoquinas o las interacciones farmacocinéticas del fármaco que conducen a la inducción o inhibición competitiva del metabolismo farmacológico mediado por CYP3A4, (354). Otra causa de la variabilidad interdividual es que la actividad de esta enzima es altamente

modulable, ya sea por otros fármacos (inductores o inhibidores), enfermedades, la dieta o factores ambientales, (314).

Variantes alélicas de CYP3A4, CYP3A4*1B y CYP3A4*22:

CYP3A4*1B, se encuentra en la región promotora del gen CYP3A4, mientras que CYP3A4*22 se encuentra en el intrón 6, Imagen 36, (354).

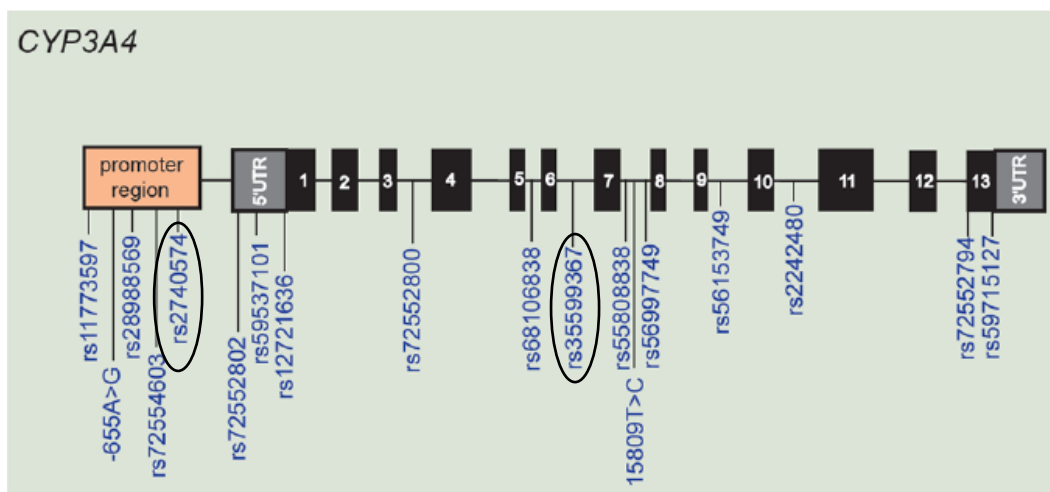


Imagen 36: Localización de CYP3A4*1B y CYP3A4*22 en el gen CYP3A4, tomada de, (354). En la imagen se han redondeado de negro Los 2 SNP's de estudio del gen CYP3A4.

El fenotipo metabolizador de los alelos *1B y *22 comparado con el *wild type*, *1A, del CYP3A4 puede ser MR, MI o MP, según se recoge en las tablas, *Tabla 13* y *Tabla 14*, (355,356,357). Algunos autores discuten que los individuos con el alelo CYP3A4*1B, presentan una disminución en la actividad de la proteína CYP3A4, (358). En CYP3A4*22 la proteína que codifica para el alelo T mutado se expresa del orden de 1,6-5 veces menos que aquella que codifica para el alelo C, *wild type*. La actividad enzimática en el hígado con genotipo CC es más alta que los portadores CT o TT, y eso quiere decir que los pacientes que presenten el genotipo CC serán MR, frente a aquellos que sean CT o TT que serán MI o MP respectivamente (359).

Tabla 13: relación genotipo/fenotipo metabolizante de fármacos para el CYP3A4*1B, La tabla es de autoría propia.

	*1A	*1B
*1A	EM	IM
*1B		PM

Tabla 14: relación genotipo/fenotipo metabolizante de fármacos para el CYP3A4*22, La tabla es de autoría propia.

	*1A	*22
*1A	EM	IM
*22		PM

1.5.2.1. CYP3A4*1B(rs2740574):

La mayoría de los SNP identificados en la región promotora proximal, la región UTR, o los intrones, no causan una alteración de la secuencia de aminoácidos, (358,360,361,362,363).

Las variantes genéticas conocidas actualmente del CYP3A4 que cambian la secuencia de aa son raras (<1%) y, por lo tanto, sólo se puede informar de una pequeña porción de la variabilidad observada. La variante más común, CYP3A4*1B, se ha asociado con la respuesta al fármaco y a las enfermedades, como cáncer de próstata y leucemia, (358,361). Aunque originalmente se habló de la asociación del alelo CYP3A4*1B con la alteración de la actividad hepática del CYP3A4, (364,365), los resultados son inconsistentes, (353,366,367) y dicha asociación tiene sus controversias, (358,368,369).

La variante CYP3A4*1B tiene un impacto mucho más débil, si lo hay, que CYP3A4*22. Sin embargo, se ha estudiado con más frecuencia antes del descubrimiento de CYP3A4*22. La variante *1B es más frecuente en africanos y afroamericanos que en caucásicos, (284). Hay controversia si CYP3A4*1B da como resultado una tasa alterada de transcripción y traducción. Según el estudio que realizaron García-Martín et al., observaron que sujetos que eran heterocigotos u homocigotos para *1B no mostraron alteración de la actividad enzimática, ya sea *in vitro* o *in vivo*, (353). La falta de evidencia de la confirmación de los datos *in vivo*, de la asociación genotípica del polimorfismo de CYP3A4*1B y riesgo de enfermedad, sugiere la posibilidad de desequilibrio entre CYP3A4*1B con otra mutación genética que es la verdadera causa del fenotipo clínico. CYP3A4*1B está en LD (*linkage disequilibrium*) con el alelo de referencia CYP3A5*1 completamente activo en afroamericanos, lo que plantea la posibilidad de que CYP3A5 haya tenido en cuenta cualquier fenotipo clínico asociado con el CYP3A4*1B, (359,370).

1.5.2.2. CYP3A4*22(rs35599367):

El primer polimorfismo frecuente de *CYP3A4* que se asoció con una fuerte reducción significativa sobre la expresión del ARNm, es *CYP3A4*22*. Las muestras de tejido que estaban en homocigosidad para *CYP3A4*22*, exhibieron una expresión reducida de ARNm o proteína de 1,7-2,5 veces en comparación con *CYP3A4*1*, (354).

La variante genética *CYP3A4*22*, parece ser actualmente más relevante ya que disminuye en un 50% la expresión de ARNm. Sin embargo, actualmente no hay suficiente evidencia clínica para recomendar el genotipo individual preventivo de *CYP3A4*22* antes de la prescripción del fármaco, (354).

*CYP3A4*22* está en LD muy bajo con *CYP3A5*3*. La pérdida de la función de *CYP3A4* causada por *CYP3A4*22* puede compensarse con la expresión de *CYP3A5* en individuos que portan el alelo *wild type CYP3A5*1*. Con el descubrimiento del polimorfismo *22 en *CYP3A4*, ahora es posible probar los efectos *in vivo* de la combinación de alelos *CYP3A4* y *CYP3A5* en la actividad de la *CYP3A4*, (359). Por otro lado, el alelo regulador *CYP3A4*22* recientemente descubierto, (355), tiene futuro como un biomarcador útil para predecir la actividad de la enzima *CYP3A4*, (359). En combinación con el genotipo del *CYP3A5* alelos *1, *3 y *7, es posible clasificar a los individuos en fenotipos MP, MI y ME para la actividad general de la *CYP3A4*, (371).

Si bien el alelo *22 contribuye en una porción relativamente pequeña a la variación de la población general en la actividad de la *CYP3A4*, dicho alelo tiene una influencia significativa en aquellos sujetos que portan el alelo T. Los portadores homocigotos para el alelo T pueden ser raros (<<1%), pero debido a la gran cantidad de sujetos que toman sustratos para *CYP3A4*, estos individuos pueden experimentar efectos inusuales. Ahora es posible predecir una mayor parte de los componentes genéticos que contribuyen a la actividad enzimática de la *CYP3A4* hacia los sustratos de la misma en diferentes grupos raciales debido a la combinación de *CYP3A4*22* con las variantes bien establecidas de *CYP3A5*, *CYP3A5*3* y *CYP3A5*7*. Las mutaciones raras con un efecto evidente y documentado sobre la actividad enzimática se pueden incorporar en un panel predictivo una vez que la secuenciación clínica se realice de forma rutinaria, (359).

Recientemente, cada vez hay más pruebas de que las variantes genéticas en *CYP3A4* contribuyen significativamente a la variabilidad interindividual de la

actividad metabólica. En particular la variante *CYP3A4*22*, identificada por Wang et. al en 2011, (372). En todos los alelos considerados actualmente en la base de datos de nomenclatura del CYP450, (373), el grupo de alelos *wild type*, *CYP3A4*1*, consta de 19 subtipos, incluidos 18 SNP's que no afectan a la expresión del ARNm o a la secuencia de ADNc. Se demostró que sólo una variante intrónica, *CYP3A4*22*, estaba asociada con una disminución de la actividad de *CYP3A4*, (354).

Las frecuencias alélicas de *CYP3A4* tanto para el tipo salvaje como para *CYP3A4*1B* y *CYP3A4*22* se recogen en la *Tabla 15*.

*Tabla 15: polimorfismos del gen CYP3A4, alelos *1A, *1B y *22.*

Alelo	SNP	MAF raza blanca UE	MAF raza blanca EE. UU	MAF población afroamericana	MAF población africana de raza negra	MAF población japonesa	MAF población china	Actividad prevista de la enzima	Referencias
*1A	<i>wild-type</i>	91,50%	96,90%	NA	96,60%	97%	99,10%	Normal	(374), (375).
*1B	c.-392 A>G	5,40%	9-10%	27,10%	66-86%	NA	0%	Reducida	(360), (376), (377), (378).
*22	c.15389 C>T	5-7%	2,60%	NA	<0,1%	<1%	0,60%	Reducida	(375), (379), (380).

MAF: Minor Allele Frequency

Al igual que ocurría con el 2D6 en el punto anterior, 3A4 también presenta sustratos, inhibidores o inductores que pueden alterar la función de este citocromo, *Tabla 16*.

Tabla 16: sustratos, inhibidores e inductores de CYP3A4, obtenida de (314).

CYP3A4	Sustratos	Grupo	Fármacos			
		TR5	Eliglustat			
Bloqueantes de los canales de Ca ²⁺	Diltiazem	Nifedipino	Felodipino	Verapamil		
Inmunosupresores	Ciclosporina	Tacrolimus	Sirolimus			
Quimioterápicos	Ciclofosfamida	Docetaxel	Doxorubicina	Etopósido		
Benzodiazepinas	Flunitrazepam	Midazolam	Alprazolam	Triazolam		
	Clonazepam					
Azoles antifúngicos	Ketoconazol	Itraconazol	Clotrimazol			
Antidepresivos tricíclicos	Amitriptilina	Imipramina	Clomipramina			
Antibióticos macrólidos	Eritromicina	Claritromicina				
ISRS	Citalopam	Fluoxetina	Norfluoxetina	Sertralina		
Estatinas	Atorvastatina	Iovastatina	Simvastatina			
Inhibidores de la PDE5	Sildenafil					
Inhibidores de la proteasa	Indinavir	Ritonavir	Saquinavir	Nelfinavir		
	Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos	Nevirapina				
Barbitúricos	Fenobarbital					
Antipsicóticos	Aripipazol	Risperidona	Ziprasidona			
Otros	Carbamazepina	Codeína	Dextrometorfano	Digoxina		
	Alcaloides del ergot	Estradiol	Fentanilo	Ivabradina		
	Levonorgestrel	Lidocaína	Metadona	Mifepristona		
	Montelukast	Ondansetron	Paracetamol	Quinidina		
	Testosterona	Teofyllina	Valproato	Warfarina		
	THC	Iofosfamida	Paclitaxel	Tamoxifeno		
	Tenipósido	Viblastina	Vindesina	Gefitinib		
	Buspídon	Haloperidol	Veenlafaxina	Amiodarona		
	Etilenestradiol	Quinina	Mirtazapina	Nefazodona		
	Pimozide	Reboxetina	Zopiclona	Terfenadina		
	Alfentanil	Budesonida	Donepezilo	Esomeprazol		
	Omeprazol	Finasterida	Glibenclamida	Cisaprida		
	Inhibidores	Antibióticos macrólidos	Eritromicina	Claritromicina	Telitromicina	
		Azoles antifúngicos	Ketoconazol	Itraconazol		
Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos		Efavirenz	Nevirapina			
Inhibidores de la proteasa		Saquinavir	Indinavir			
ISRS		Fluoxetina				
Otros		Piperina	Verapamil	Fluconazol	Ritonavir	
		Nefazodona	Bergamotina	Aprepitant	Quercetina	
	Amiodarona	Cimetidina	Ciprofloxacino	Ciclosporina		
	Diltiazem	Imatinib	Equinácea	Enoxacina		
	Ergotamina	Metronidazol	Mifepristona	Tofisopam		
	Gestodeno	Mibefradil				
Inductores	Barbitúricos	Fenobarbital				
	Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa	Efavirenz	Nevirapina	Etravirina		
	Otros	Fenitoína	Rifampicina	Modafinilo	Dexametasona	
Felbamato		Glucocorticoides	Griseofulvina	Pioglitazona		
Primidona		Topiramato	Troglitazona	Rifabutina		
Cafestol		Caramazepina	Hiperforina			

Debido a la gran cantidad de fármacos metabolizados por esta enzima, la importancia clínica de este citocromo es obvia. Por ejemplo, en la terapia farmacológica post-trasplante, muchos de los inmunosupresores utilizados, por ejemplo, tacrolimus o ciclosporina, son sustratos de *CYP3A* y a menudo de la P-gp en el tracto gastrointestinal, de manera que el uso de otros fármacos en dicha terapia, por ejemplo esteroides, que alteren la actividad de *CYP3A* y/o P-gp, pueden afectar a los niveles del inmunosupresor demandando un ajuste de su dosis para alcanzar el efecto terapéutico o evitar efectos adversos, (381). *CYP3A* también es importante en el metabolismo de muchas sustancias psicoactivas, como cocaína, metadona, ansiolíticos, hipnóticos, antipsicóticos antiepilépticos o los ISRS, ampliamente usados, son inhibidores de la actividad enzimática tanto *in vitro* como *in vivo*, (382,383,384) y, de hecho, muchas de las interacciones observadas tras administrar estos antidepresivos son atribuibles a interacciones con las isoenzimas de la subfamilia *CYP3A*, (385,386,387,388,389). La presencia probada de esta enzima y su actividad en cerebro, (390), sugiere que pueda existir un metabolismo y regulación local importante, al menos cualitativamente, de estas sustancias en el lugar de acción, aunque este hecho todavía debe confirmarse, (391). Como ya se ha indicado en el apartado 1.3.2.2 eliglustat tiene como vía secundaria para su metabolismo la ruta del *CYP3A4*, (209).

1.5.3. *ABCB1*:

El gen *ABCB1* se encuentra en el cromosoma 7q21.12 y está formado por 29 exones, *Imagen 37*, que codifican para una proteína de 1280 aa, la P-gp (E.C. 7.6.2.2), (392), *Imagen 38*. Este gen sigue las vías de: los transportadores de ABC, secreción biliar, resistencia endocrina y los miRNAs en cáncer, (393).

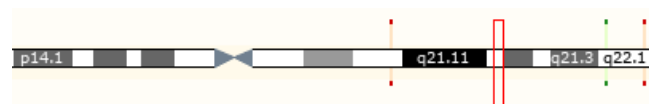


Imagen 37: Localización en el cromosoma del gen ABCB1, tomada de (15).

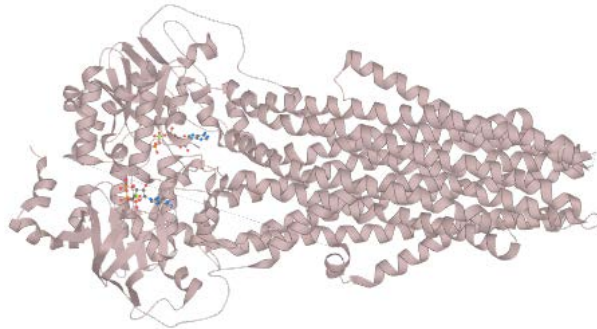


Imagen 38: estructura de La proteína ABCB1, tomada de (11).

La P-gp, también es conocida como *Multidrug Resistance protein 1* (MDR1), como *ATP-binding cassette sub-family B member 1* (ABCB1), o como cluster de diferenciación 243 (CD243). Es una proteína muy importante en la membrana celular ya que expulsa una gran cantidad de sustancias fuera de la célula. Crea un flujo de expulsión de la célula dependiente de ATP con una amplia especificidad de sustrato. Los genes *ABC* están divididos en siete subfamilias distintas (*ABC1*, *MDR/TRAP*, *MRP*, *ALD*, *OABP*, *GCN20*, *White*). Esta proteína es miembro de la subfamilia *MDR/TRAP*. Los miembros de esta subfamilia, están involucrados en la resistencia a varios fármacos. Es responsable de disminuir la acumulación del fármaco en células resistentes a fármacos. Es bien conocido que la P-gp desempeña un papel importante en la disponibilidad del fármaco, en particular debido a que actúa en conjunto con la enzima metabolizadora de fármacos CYP3A4 en el intestino delgado e hígado, (394,395,396,397), *Imagen 39*. La P-gp también funciona como transportador en la BHE. La mayor expresión de la proteína se da en las glándulas adrenales, riñón e intestino delgado, (351). Además, la P-gp proporciona una protección adicional para atravesar las barreras en el cerebro, los testículos o la placenta, (394). El nivel de actividad de la P-gp puede determinar la distribución de fármacos en los tejidos, puede afectar a la absorción del fármaco en el aparato gastrointestinal, y también a su eliminación por la orina o la bilis, (398). La localización de la P-gp en los diferentes tejidos se recoge en la *Tabla 17*.

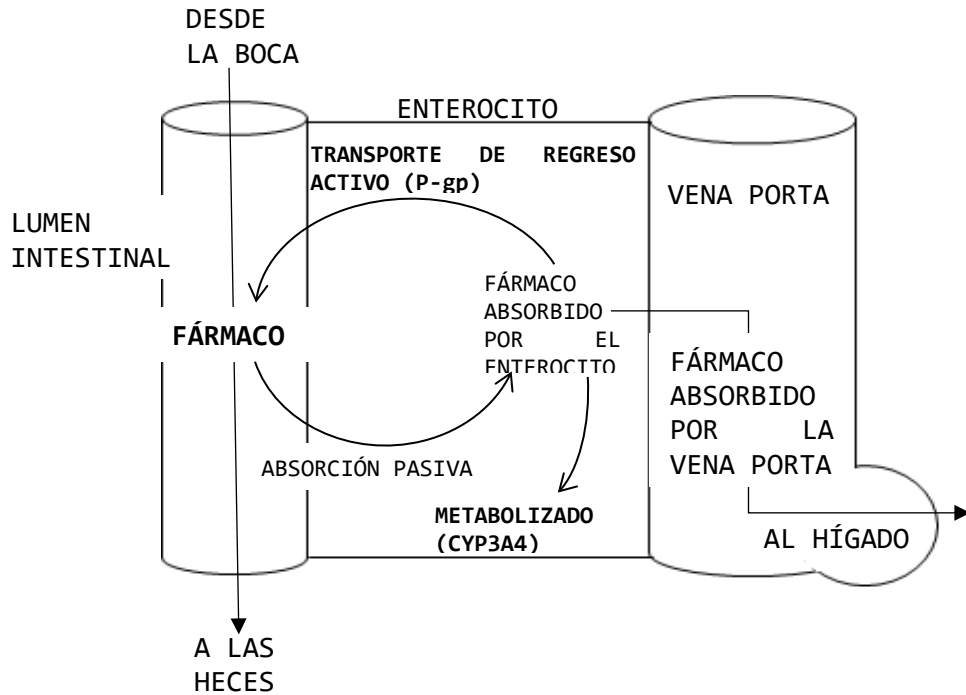


Imagen 39: mecanismo de interacción entre P-gp y CYP3A4, modificada de (396).

Tabla 17: Localización de La P-gp en Los tejidos, tomada de (394).

Tejido	Localización	Función
Intestino delgado y Colon	Membrana apical (luminal) de las células epiteliales	Secreción de los fármacos en el interior del intestino
Hígado	Membrana canalicular de los hepatocitos	Secreción de los fármacos en la bilis
Riñón	Membrana apical de las células epiteliales de los túbulos proximales	Secreción de los fármacos en el interior de los túbulos
SNC	Membrana luminal de las células endoteliales que forman la BHE	Protección del SNC de los xenobióticos
Testículos	Células endoteliales de los capilares sanguíneos	Barrera sanguínea de los testículos
Placenta	Trofoblastos	Protección del feto de los xenobióticos

La P-gp se caracterizó y clonó por primera vez en 1976, (399). La estructura de la P-gp se determinó en 2009 mediante cristalografía de rayos X, (400,401).

Existen varios factores como la dieta, la raza, el medio ambiente y el estado de la enfermedad, que pueden influir en la variabilidad interindividual en la farmacocinética de los sustratos de la P-gp y en el resultado terapéutico de ciertas enfermedades tratadas con dichos fármacos, (402). Existen evidencias que sugieren que los transportadores de fármacos son uno de los determinantes que rigen su perfil farmacocinético. Se necesitarán más investigaciones experimentales junto con estudios clínicos apropiados para aclarar aún más los mecanismos moleculares que subyacen a la asociación de polimorfismos de *ABCB1* con la farmacocinética alterada de P-gp, (403).

Al igual que ocurre con *CYP2D6* y el *CYP3A4*, *ABCB1* también hay fármacos que actúan como sus sustratos o inhibidores del mismo *Tabla 18*:

Tabla 18: sustratos e inhibidores de ABCB1, tomada de (394,404).

ABCB1	Sustratos	Grupo	Fármacos			
		TRS	Eliglustat			
		Anticancerígenos	Actinomicina D	Etopósido	Docetaxel	
			Doxorubicina	Daunorubicina	Irinotecán	
			Mitomicina C	Mitoxantrona	Paclitaxel	
			Tenipósido	Topotecan	Vinblastina	
			Vincristina			
		Fármacos del corazón	β-acetildigoxina	α-metildigoxina	Digitoxina	
			Digoxina	Quinidina		
		Inhibidores de la proteasa del VIH	Amprenavir	Idinavir	Nelfinavir	
			Saquinavir	Ritonavir		
		Inmunosupresores	Ciclosporina A	Tacrolimus		
		Antieméticos	Domperidona	Ondansentron		
		Antidiarreicos	Loperamida			
		Antibióticos	Eritromicina	Esparfloxacino	Levofloxacino	
		Esteroides	Dexametasona			
		Disminuidores lipídicos	Atorvastatina	Lovastatina		
		Bloqueadores de los canales de Ca	Diltiazem	Mibrefradil	Verapamil	
			D-617	D-620		
		Antagonistas β-adrenoceptores	Bunitrolol	Celiprolol	Talinolol	
		Antihistamínicos H1	Fexofenadina	Terfenadina		
		Antihistamínicos H2	Cimetadina	Ranitidina		
		Otros	Colchicina	Debrisoquina	Epirubicina	
			Losartán	Metrotexato	Morfina	
			Fenintoína	Rifampicina		
		Inhibidores				
		Otros	Gefitinib	Taridicar	Valspodar	

Los polimorfismos del gen *ABCB1* pueden ser un factor de riesgo especialmente en aquellos casos donde está demostrado que hay una relación etiológica con el gen, (405). También son uno de los determinantes primarios que influyen en la farmacocinética de los sustratos de la P-gp, así como en el resultado terapéutico, (402).

Las variantes más comunes de este gen son C1236T, A/G2677T y C3435T. La localización de estas variantes se encuentra reflejada en la *Imagen 40*:

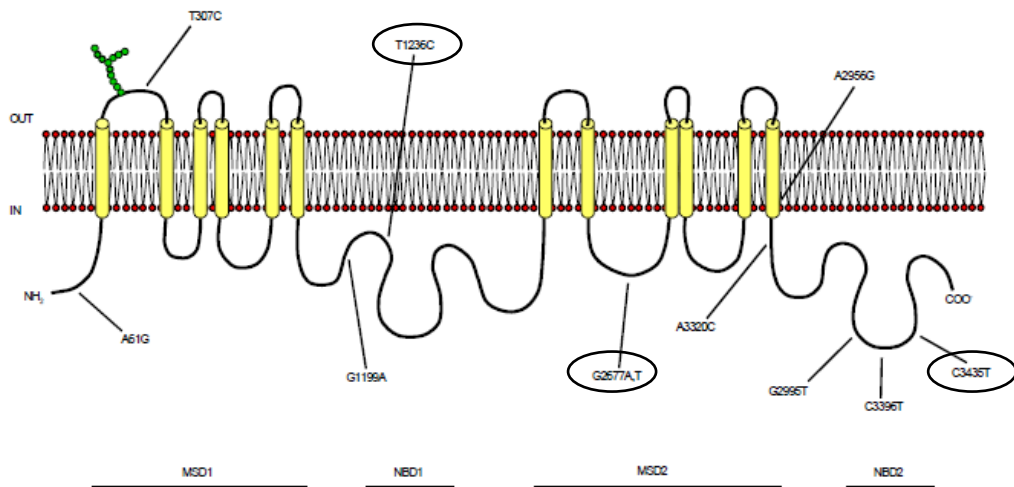


Imagen 40: Localización de Las variantes C3435T, A/G2677T y C1236T en el gen ABCB1. En La imagen se han redondeado de negro Las variantes que se han empleado en este estudio. MSD: Membrane Spanning Domain (dominio que abarca La membrana); NBD: Nucleotide Binding Domain (dominio de unión al nucleótido), tomada de (405).

1.5.3.1. C1236T (rs1128503):

Esta variante se encuentra localizada en el exón 12, (406). Es de tipo benigno y no supone cambio de aminoácido, es decir, es una variante sinónima, p.Gly412=, (407).

El polimorfismo C1236T de *ABCB1*, afecta al transporte de P-gp para cada fármaco. Estos estudios apoyan la importancia del SNP C1236T para la actividad de la P-gp y su potencial para explicar las alteraciones en la respuesta al fármaco, (408).

Aunque muchos estudios han iniciado la caracterización de posibles asociaciones fenotípicas para este SNP, no se ha llegado a ningún consenso sobre su funcionalidad según la literatura consultada, (409). Como ejemplo, se puede argumentar que hay estudios que encontraron tanto un aumento en la exposición

o respuesta al fármaco en sujetos homocigotos para el alelo C, (410,411), o para el alelo T, (412), como ningún efecto del cambio en este SNP, (413).

Se han realizado pocos estudios con respecto al alelo 1236T y la expresión de P-gp, (414). Hay resultados controvertidos al comparar estudios en tejidos e *in vitro* con una expresión disminuida y una función aumentada en la placenta humana con respecto al alelo 1236T, (415), y una aparente falta de efecto en estudios celulares con respecto a la expresión de proteínas, (416,417,418). Con respecto a las implicaciones funcionales, se ha demostrado que este SNP afecta al plegamiento de la proteína debido al uso de un codón poco conocido cuando se combina con el SNP C3435T, (417,418), causando un efecto disminuido sobre algunos inhibidores y otros probables efectos funcionales, como la función disminuida observada por Salama et al., (419).

1.5.3.2. A/G2677T (rs2032582):

Esta variante se encuentra localizada en el exón 21, (406). Se trata de una mutación sin sentido con cambio de aminoácido, p.Ser893Ala/Thr, (420).

La relación de los polimorfismos Ser893Ala/Thr con la expresión y actividad general de *ABCB1* es controvertida. En general, la expresión de transcripción de *ABCB1* en el intestino y la actividad en sujetos humanos se ha asociado más estrechamente con el polimorfismo C3435T que con Ser893Ala/Thr.

A pesar de que existe una gran cantidad de estudios que prueban asociaciones fenotípicas de este SNP, la literatura no es concluyente, (402,405,409). Hay evidencias a favor, (421,422), y en contra, (423,424), de la asociación del alelo 2677T con actividad y expresión de P-gp alterada, (409); 2677T se ha asociado con aumento, (411,425), disminución, (421), y sin cambio, (413,426,427,428,429,430), en la exposición y efecto del medicamento, (409).

Este SNP muestra resultados controvertidos en efectos funcionales. Kim et al., (421), identificaron un aumento de la función del flujo de salida de la P-gp en presencia del alelo 2677T. Por el contrario, Salama et al., (419), encontraron una función disminuida para el alelo 2677T, mientras que otros autores como Wang et al., (416), Morita et al., (427), y Kimchi-Safarty et al., (431), no encontraron ningún efecto.

1.5.3.3. C3435T (rs1045642):

Esta variante se encuentra localizada en el exón 26, (406), es de tipo benigno y no supone cambio de aminoácido, es decir, es una variante sinónima, p.Ile1145=, (432).

La variabilidad de la expresión de la P-gp entre individuos está vinculada al polimorfismo C3435T del gen *ABCB1* humano. La concentración de la P-gp en células epiteliales intestinales y en subconjunto de células linfoides, es sustancialmente menor en personas con el genotipo T/T que en aquellas con el genotipo C/C. Existen amplias diferencias en las diversas etnias que reflejan la diversidad alélica reportada en la literatura (433), que va desde el 83% en población ghanesa hasta el 34% en surasiáticos, (434). Dentro de las poblaciones caucásicas europeas, las frecuencias alélicas para el alelo C3435T en portugueses, españoles, alemanes y británicos van desde el 43% al 52%, (434,435,436).

La hipótesis de estos autores es que el genotipo CC en el polimorfismo C3435T de *ABCB1* se asocia con un aumento de la expresión de la proteína influyendo en la respuesta al tratamiento, siendo los antiepilépticos los más estudiados, (437). La alteración de *ABCB1* probablemente pueda causar una epilepsia resistente a los medicamentos ya que protege del paso de la BHE. El genotipo CC en el polimorfismo C3435T de *ABCB1* está asociado con la resistencia a múltiples fármacos, (437,438).

Se ha encontrado una correlación significativa entre la expresión de ARNm de *ABCB1* y *CYP3A4*, que sugiere una baja absorción intestinal para los sustratos de *CYP3A4* en aquellos sujetos que porten la variante C3435T, (439). Este suceso coincide con un informe reciente que indica que el receptor nuclear huérfano, SXR/PXR, está involucrado tanto en la inducción de la expresión de *ABCB1* como de *CYP3A4*, (440).

En este SNP, las personas que portan el alelo C presentan mayores niveles de ARNm que en aquellas que portan el alelo T, es decir, las personas que sean homocigotas o heterocigotas para el alelo C tendrán una mayor actividad y, por tanto, una mejor funcionalidad del gen que aquellas que sean homocigotas para el alelo T, (416). Un estudio realizado por Hoffmeyer et al., mostró que había niveles de proteína significativamente más bajos en el tejido duodenal en portadores homocigotos TT que aquellos que eran CC, para el polimorfismo C3435T, (441).

1.5.3.4. Haplotipos *ABCB1*:

Un haplotipo es una combinación de alelos que se heredan de forma conjunta; también se puede referir a un conjunto de polimorfismos (442). La secuenciación de *ABCB1* en diferentes grupos étnicos, (421,428,443,444,445,446,447), ha permitido identificar los haplotipos más frecuentes, (421,428,444), según lo explicado por Robarge et al., (448).

En un estudio realizado por Goto M et al., analizaron la expresión de los niveles de ARNm en el gen *ABCB1* en pacientes homocigotos para los 3 alelos wild-type (CC/GG/CC), y observaron que ésta tendía a ser más elevada que en aquellos pacientes que portaban las variaciones CT/GC/CT. Los pacientes que presentan el haplotipo TTT tienden a manifestar una expresión reducida de los niveles de proteína, (449). Este haplotipo está asociado con una expresión reducida de la P-gp y por tanto con un déficit de su actividad transportadora que no está compensada por los alelos normales C o G, (449,450,451).

1.5.3.5. Frecuencias alélicas de los SNPs del gen *ABCB1*:

Las frecuencias alélicas para los 3 SNP's del gen *ABCB1* se encuentran recogidas en la *Tabla 19*.

Tabla 19: polimorfismos del gen ABCB1 para Los SNPs rs1128503, rs2032582 y rs 1045642.

SNP	Alelo	MAF raza blanca UE	MAF raza blanca EE. UU.	MAF población afroamer.	MAF población africana de raza negra	MAF población japonesa	MAF población china	Actividad prevista de la enzima	Referencias	
rs1128503	C	58,4%	57,0%	81,0%	86,4%	39,9%	30,1%	Con el alelo T, disminuye la actividad	(447), (452)	
	T	41,6%	43,0%	19,0%	13,6%	60,1%	69,9%			
rs2032582	G	57,3%	56,9%	85,0%	98,0%	43,8%	43,7%		(447), (453)	
	T	1,8%	0%	11,0%	0,1%	14,9%	15,5%			
rs1045642	C	48,2%	47,6%	84,0%	85,0%	51,9%	62,1			(447), (454)
	T	51,8%	52,4%	16,0%	15,0%	48,1%	37,9%			

1.5.4. Influencia de la alimentación sobre los genes de estudio:

Al igual que pasa con los fármacos, hay alimentos o suplementos botánicos, *Imagen 41*, que pueden interactuar con los citocromos y el transportador *ABCB1*

ya sea inhibiéndolos o induciéndolos. A continuación, explicaremos que alimentos influyen sobre los genes de estudio.

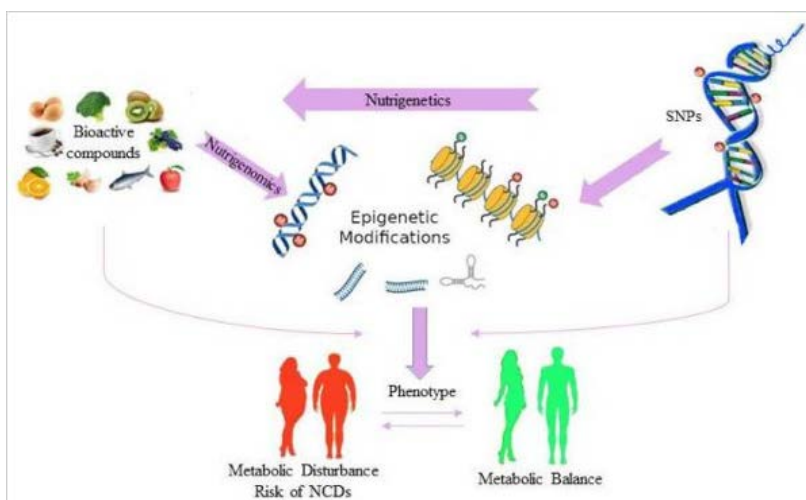


Imagen 41: interacción de los alimentos con los genes, tomada de (455).

Los alimentos que interactúan con el *CYP3A4* son el pomelo y su zumo, granada, naranja amarga, lima, café, (456), hierba de San Juan, *Golden seal*, pimienta negra, (457), *Schisandra* spp., (458), vino tinto, (459), cúrcuma (*Curcuma Longa*), cubeba o pimienta de Java (*Piper cubeba*), fruto y hoja de la pimienta negra, jengibre (*Zingiber officinale*), (460).

Los alimentos que interactúan con el *CYP2D6* son los suplementos dietéticos botánicos, (461), la granada (*Punica granatum*), hoja de pimienta negra, fruto de pimienta negra y vinca de Madagascar (*Catharanthus roseus*), (460).

Los alimentos que interactúan con *ABCB1* o P-gp son la pimienta negra y los flavonoides, (457,462).

1.5.4.1. Pomelo:

El pomelo puede aumentar la biodisponibilidad de la medicación oral a través de una inhibición irreversible del *CYP3A4* intestinal, (456). Está bien documentado que el zumo de pomelo causa aumentos clínicamente significativos en las concentraciones plasmáticas de muchos agentes terapéuticos. Se cree que estas interacciones están mediadas a través de la inhibición del *CYP3A4* por los flavonoides y/u otros productos químicos presentes en el zumo de pomelo, aunque el mecanismo de esa inhibición no se ha caracterizado completamente, (463). La base para las interacciones de pomelo con la enzima fue la inactivación irreversible de la *CYP3A4*, (464). Los cítricos relacionados con

el pomelo como la naranja amarga y la lima pueden causar interacción con *CYP3A4* dando como resultado una inhibición potente de la actividad del gen *in vitro* debido al contenido de furanocumarinas presente en estos frutos, (459,465,466,467).

1.5.4.2. Suplementos dietéticos:

El uso de suplementos dietéticos botánicos ha crecido de manera constante en los últimos 20 años a pesar de la información incompleta sobre los constituyentes activos, los mecanismos de acción, la eficacia y la seguridad. Una preocupación de seguridad importante, pero poco investigada, es la posibilidad de que los suplementos botánicos dietéticos interfieran con la absorción, el transporte y/o metabolismo de los agentes farmacéuticos. Hay informes de casos clínicos que indican que la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*) induce *CYP3A4*. Sin embargo, los estudios clínicos de la mayoría de los productos botánicos que fueron pronosticados de interactuar con los fármacos no han demostrado efectos clínicamente significativos. Por ejemplo, ensayos clínicos con el cardo mariano (*Silybum marianum*) no confirmaron las predicciones de que inhibiese *CYP3A4*, (461).

Korobkova en 2015, (468) revisó las interacciones de los polifenoles naturales, los cuales se pueden encontrar en muchos suplementos dietéticos botánicos, sobre las actividades de las enzimas *CYP450*. En particular, Korobkova descubrió que pueden modular las actividades del *CYP3A4*.

Las interacciones de los suplementos con los citocromos y transportadores se encuentran recogidas en las tablas *Tabla 20 a*, *Tabla 20 b* y *Tabla 20 c*.

Tabla 20 a: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos con interacción clínica: Cimífuga-Té verde, tomada de (461).

Nombre común (Nombre en latín)	Interacciones preclínicas	Interacciones clínicas	
		Inhibición	Inducción
Cimífuga (<i>Actaea racemosa</i>)	CYP2D6 (469) CYP3A4 (470).	x	x
Arándano (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	CYP3A (471)	x	x
Equinácea (<i>Echinacea purpurea</i>)	(CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) (472,473,474,475); OATP2B1 (476)	(CYP1A2, CYP3A4 (intestinal)) (477)	CYP3A4 (477) (hepática)
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	(CYP2C19, CYP2E1, CYP3A, ABCB1) (478,479); CYP2C9 (480); (CYP3A, ABCB1) (481)	CYP2E1 (482) (aceite)	x
Ginko (<i>Ginkgo biloba</i>)	(CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A) (474,483); OATP2B1 (476)	x	x
Ginseng (<i>Panax spp.</i>)	(CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, UGT2B15) (484); (CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) (485)	x	x
Hidrastis (<i>Hydrastis Canadensis</i>)	(CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4) (472,486,487)	CYP2D6 (488,489); CYP3A4/A5 (488)	x
Té verde (<i>Camellia sinensis</i>)	CYP1A2 (490) CYP3A4 (491) OATP2B1 (492)	x	x

Tabla 20 b: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos con interacción clínica: Isoflavonas-Valeriana, tomada de (461).

Nombre común (Nombre en latín)	Interacciones preclínicas		Interacciones clínicas
	Inhibición	Inducción	Inducción
Isoflavonas [ej.: soja (<i>Glycine max</i>) y trébol rojo (<i>Trifolium pretense</i>)]	(Soja: CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6) (475); CYP3A4, OATP22B1 (492)	CYP3A4 (475)	x
Kava kava (<i>Piper methysticum</i>)	CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 (493)	x	x
Cardo mariano (<i>Silybum marianum</i>)	ABCB1 (486,494) CYP3A4 (495)	x	x
Silimarina	CYP3A4, GT1A6/1A9 (496); (OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1) (497)	x	x
Silibinina	CYP2C9 (498,499,500) CYP3A4 (499,501)	x	x
Palmera (<i>Serenoa repens</i>)	CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 (474)	x	x
Raíz de San Juan (<i>Hypericum perforatum</i>)	x	CYP3A4, ABCB1 (491,502)	CYP3A4 (503) ABCB1 (504)
Valeriana (<i>Valeriana officinalis</i>)	CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, ABCB1 (473,505)	x	x

Tabla 20 c: compuestos botánicos que interactúan con CYP3A4. Datos preclínicos sin interacción clínica, tomada de (461).

Nombre común (Nombre en latín)	Interacciones preclínicas	
	Inhibición	Inducción
Dong quai (<i>Angelica sinensis</i>)	CYP1A (506) CYP3A4 (507)	CYP2D6 (508) CYP3A4 (509)
Aceite de onagra vespertina (<i>Oenothera biennis</i>)	Cis-ácido linoléico: CYP1A2 (510); (CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) (490)	x
Matricaria (<i>Tanacetum parthenium</i>)	CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 (493)	x
Regaliz (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>G. uralensis</i> et <i>G. inflata</i>)	CYP2A1 (511); (CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19) (504,505); CYP3A4 (477,504,505); UGT1A1 (512)	CYP1A2 (513) CYP2B6 (505)
Fitoesteroles (eg. Sitosterol)	ABCB1 (514) MRP1 (515)	x
Cúrcuma (<i>Curcuma Longa</i>)	Curcumina: CYP1A2 (516); (CYP2B6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) (517)	x
Yohimbina (<i>Pausinystalia yohimbe</i>)	CYP2D6 (518)	x

La mayoría de los suplementos dietéticos (cimífuga, ginko, ginseng, cardo mariano, palmera y valeriana) que predijeron que causasen interacciones farmacológicas mediante ensayos preclínicos, no produjeron interacciones clínicamente relevantes cuando se probaron en humanos *Tabla 20 a* y *Tabla 20 b*, (461). Por ejemplo, se informó que el té verde y la kava kava, *Tabla 20 a* y *Tabla 20 b*, inhiben varias enzimas metabolizadoras de fármacos, pero las pruebas clínicas de algunas de estas interacciones predichas no mostraron efectos. En el caso de la cimífuga, *Tabla 20 a*, que se había predicho en estudios preclínicos para inhibir el CYP3A4 y el CYP2D6, (469), no se vieron interacciones clínicamente observables con el CYP3A4, (488,519).

Sólo cuatro suplementos dietéticos botánicos que se predijeron que tendrían interacciones farmacológicas (la hierba de San Juan, la equinácea, el aceite de ajo y la hidrastis) se documentaron como causantes de interacciones en ensayos humanos, *Tabla 20 a* y *Tabla 20 b*. Los estudios preclínicos, predijeron que la equinácea inhibiría CYP2C9, 2C19, CYP2D6 y CYP3A4, pero en un ensayo clínico llevado a cabo por Gorski et al. en 2004 no se encontraron efectos sobre CYP2C9 o CYP2D6, aunque si se confirmó la inhibición intestinal de CYP1A2 y CYP3A4. Gorski et al., observaron la inducción del CYP3A4 hepático en humanos por equinácea, (477).

En el caso de la hidrastis, *Tabla 20 a*, los estudios preclínicos predijeron interacciones con CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4, (472,487,520). Los ensayos clínicos confirmaron posteriormente que la hidrastis inhibe a CYP2D6 y a CYP3A4/3A5, (488,489).

En los ensayos clínicos se ha demostrado que algunos suplementos botánicos causan interacciones entre fármaco-suplemento, pero estos efectos generalmente van de leves a moderados. Ocasionalmente, como ocurre con la hierba de San Juan, estas interacciones farmacológicas pueden ser significativas. Para los suplementos dietéticos botánicos con un largo historial de uso y/o alimentos sin incidentes, es probable que el riesgo de interacción fármaco-suplemento sea bajo. Sin embargo, sin la experimentación preclínica, estas interacciones no se conocerán hasta que los consumidores ya se hayan visto afectados negativamente, (461).

Los estudios de posibles interacciones entre fármaco-suplemento son especialmente importantes ya que los consumidores a menudo usan estos suplementos simultáneamente con medicamentos. Debido a la falta de conocimiento sobre las posibles interacciones entre fármaco-suplemento, se pone en riesgo la salud, especialmente para las poblaciones vulnerables, ya que a menudo recurren a los suplementos dietéticos botánicos cuando la medicina convencional les falla, (461).

En un estudio llevado a cabo por Usia T et al. analizaron 30 muestras de plantas medicinales indonesias para determinar su capacidad de inhibir el metabolismo *in vitro* del CYP3A4 y CYP2D6. La pimienta negra mostró la actividad inhibitoria más alta, 91,7%, contra CYP3A4 y la granada (*Punica granatum*) mostró una actividad inhibitoria contra CYP2D6 del 98,1%. La cúrcuma *hydeana* (*Curcuma*), 67%; la cubeba o pimienta de Java (*Piper cubeba*), 75%; el fruto de pimienta negra (*Piper nigrum*), 84%; la hoja de pimienta negra, 85,8% y el jengibre

(*Zingiber aromaticum/officinale*), 75,3% demostraron una actividad inhibitoria de más del 50% en el metabolismo mediado por *CYP3A4*. Sólo el fruto de la pimienta negra, 72,8%, y la hoja 69,1%, mostraron una fuerte actividad inhibitoria contra *CYP2D6*. La actividad inhibitoria más potente contra *CYP3A4* se encontró para el extracto de la hoja de pimienta negra mientras que el efecto inhibitorio más potente contra *CYP2D6* se encontró en la vinca de Madagascar (*Catharanthus roseus*), (460).

1.5.4.3. Pimienta negra:

La piperina, (1-peperoylpiperidina), es el componente lipofílico primario en la pimienta negra (*Piper nigrum*) y la pimienta larga (*Piper Longum*). Dicha molécula inhibe la P-gp y la actividad del *CYP3A4*. Dado que estas proteínas se expresan en enterocitos y hepatocitos, tienen un papel fundamental en el metabolismo de los fármacos. El contenido de piperina en el régimen nutricional puede cambiar los niveles de P-gp y sustratos del *CYP3A4* en sangre cuando los fármacos se administran por vía oral, (457).

Las dipiperamidas D y E de la pimienta blanca inhiben *CYP3A4*; no así como otros metabolitos de la pimienta que fueron moderadamente activos o inactivos, (521).

1.5.4.4. Schisandra spp.:

Los componentes conocidos de la fruta de la *Schisandra*, las gomisininas B, C, G y γ -shizandrina mostraron efectos inhibitorios sobre la actividad de la N-desmetilación de la eritromicina. Estos resultados indican que la gomisinina C es un inhibidor basado en el mecanismo que no sólo inhibe de manera competitiva, sino que también inactiva irreversiblemente el *CYP3A4*, (522).

1.5.4.5. Vino tinto:

El resveratrol (RSV) es un fitoquímico estilbeno común en los alimentos y el vino tinto. El RSV inhibe la actividad del *CYP3A4* e interactúa con PXR, el regulador central de la expresión de enzimas metabolizadoras de fármacos/xenobióticos, (523).

Al igual que el zumo de pomelo, el vino tinto contiene grandes cantidades de flavonoides y otros xenobióticos que también podrían mediar en la inhibición de *CYP3A4*. Tanto el vino tinto como el zumo de pomelo inhiben la actividad del *CYP3A4* de una manera que depende de la concentración. La actividad de la enzima

se inhibe entre un 84-90% por vino tinto y zumo de pomelo respectivamente. En contraste con el vino tinto, el vino blanco no inhibió apreciablemente la actividad del *CYP3A4*. La inhibición de *CYP3A4* por vino tinto es principalmente reversible en la naturaleza, (463).

1.5.4.6. Flavonoides:

Los flavonoides son una clase de polifenoles antioxidantes, producidos mediante la fotosíntesis y extensamente distribuidos entre vegetales, frutas y hierbas, además están estrechamente relacionados con la vida humana, (524). La ingesta total de polifenoles es aproximadamente de 1g/persona/día, y los flavonoides representan aproximadamente 2/3 de la ingesta total de los polifenoles en la dieta, (525,526,527). Actualmente los flavonoides han sido ampliamente investigados debido a su amplia variedad de actividad farmacológica como: antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, antibacterianos, antifúngicos y antivirales, (528).

Tradicionalmente se ha creído que la alimentación es segura, sin embargo, cada vez existe más información sobre la posible interacción fármaco-alimento. Estas interacciones están principalmente causadas por la modulación de los transportadores de fármacos, especialmente la P-gp, (462).

En un estudio realizado por Bai J et al., (462), tanto *in vitro* como *in vivo* acerca de la función inhibitoria sobre la P-gp con 75 flavonoides, vieron que sólo 5 (tangeritina, sinensitina, isosinensetina, esciadopitisina y oroxilina A) mostraban una inhibición significativa.

2. HIPÓTESIS

El análisis genético de las isoformas de los citocromos *CYP2D6* y *CYP3A4*, así como del transportador *ABCB1* aporta información sobre la respuesta al tratamiento con eliglustat en pacientes con EG. Dicha información nos podría resultar útil para llevar a cabo una terapia más personalizada sin posibles efectos secundarios para el paciente.

3. OBJETIVOS

- I. Analizar el genotipo de *CYP2D6*, *CYP3A4* y del transportador *ABCB1* en una cohorte de pacientes diagnosticados de enfermedad de Gaucher, para establecer su perfil metabolizador.
- II. Determinar el grado de respuesta al tratamiento en función del genotipo y la variación en los biomarcadores de seguimiento.
- III. Evaluar relación entre el genotipo de *CYP2D6*, *CYP3A4* y *ABCB1* y la aparición de efectos adversos al tratamiento.
- IV. Analizar si la relación genotipo-fenotipo del perfil del citocromo y del transportador en los pacientes con enfermedad de Gaucher en tratamiento con el inhibido de sustrato eliglustat podría ayudar a aplicar una medicina personalizada de precisión.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Para responder a los objetivos de la investigación planteados, el plan de Trabajo se diseñó en tres partes consecutivas, las cuales se describen a continuación:

La primera parte de este trabajo de investigación se ha focalizado en la identificación de las variables clínicas y genéticas (*CYP2D6*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*22* y *ABCB1*) en una cohorte de pacientes diagnosticados con la enfermedad de Gaucher.

En la segunda parte, se analizó la influencia de las variables clínicas y genéticas (*CYP2D6*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*22* y los SNP's de *ABCB1* (rs1128503, rs2032582 y rs1045642)) con el grado de respuesta al tratamiento y la variación en los biomarcadores.

En la tercera parte, se evaluó la relación entre las variables clínicas y genéticas (*CYP2D6*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*22* y los SNP's de *ABCB1* (rs1128503, rs2032582 y rs1045642)) con la aparición de efectos adversos.

4.1. METODOLOGÍA:

4.1.1. Diseño:

Estudio observacional retrospectivo y transversal.

4.1.2. Pacientes de estudio:

4.1.2.1. Consideraciones éticas:

El estudio fue aceptado por el Patronato de la Fundación para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales, según acta que se adjunta del 12 de junio de 2017 como subproducto del estudio TRAZELGA aprobado favorablemente por el CEICA el 7 de junio de 2017, (ver Anexo II). Todos los participantes aceptaron y firmaron el consentimiento informado elaborado para el estudio el cual se hizo siguiendo los principios éticos, para investigación médica en seres humanos, incluidos en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1975 y su posterior revisión en el año 2000, (ver Anexo II).

Siguiendo las directrices de dicha declaración, el acceso a sus datos clínicos y personales (Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal y a la Ley 41/02 de Autonomía del Paciente) sólo será posible con su consentimiento expreso y revocable.

Se informó a todos los pacientes y a sus familiares, o tutores legales en el caso de los menores de edad, sobre la metodología utilizada en el presente estudio de investigación. Se han respetado las normas éticas de investigación en los menores de edad y antes de empezar el estudio en el caso de los niños, no sólo ellos firmaron el consentimiento informado, sino también un familiar o tutor legal acompañante.

Para la realización del presente estudio se detalla en el consentimiento informado que las pruebas específicas para el mismo no suponen ningún riesgo, los fármacos se administran tanto por vía oral como por vía intravenosa y por lo tanto son aptos para su consumo.

Para la obtención de las muestras biológicas se solicitó la correspondiente autorización al Biobanco del Sistema de Salud Aragón.

4.1.2.2. Grupo de pacientes de estudio:

El grupo de pacientes está formado por 61 pacientes mayores de 13 años, 33 mujeres y 28 varones, afectos de EG tipo 1 incluido en el Registro Español de Enfermedad de Gaucher (REEG). Este estudio fue llevado a cabo en un grupo de pacientes diagnosticados de EG, bajo los auspicios de la Fundación Española para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEETEG), en la que participan todos los hospitales españoles con pacientes afectos. El REEG es independiente de la industria y se trata de un registro vivo en el que se actualiza la información clínica, de seguimiento analítico, de imagen y comorbilidades. Los datos han sido analizados y publicados en diferentes períodos, (86,196,529).

El reclutamiento de pacientes tuvo lugar en la Unidad de Referencia para el estudio de la EG y otras lisosomales de la U-752 del Centro de Investigación Biomédica En Red de Enfermedades Raras (CIBERER) del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. En el laboratorio de la FEETEG, asociado al grupo de estudio, se ha determinado la actividad de la enzima glucocerebrosidasa ácida, los biomarcadores de diagnóstico y seguimiento, así como el estudio genético molecular de los pacientes y sus familiares. El estudio del perfil del citocromo (*CYP2D6*) se realizó empleando el protocolo xTAG® Kit v3, (530) y el gen de la lactasa se realizó por secuenciación Sanger, (531). Desde 2013 la colección de muestras biológicas de pacientes y familiares está depositada en el Biobanco del Sistema de Salud de Aragón, (532,533). Los datos proceden de la información clínica directa de los pacientes atendidos en esta Unidad y de varios cuestionarios estandarizados enviados a los médicos que proporcionan información actualizada sobre sus pacientes.

El genotipado de los 3 SNPs de estudio del gen *ABCB1* y los dos SNPs del gen *CYP3A4*, se ha llevado a cabo en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad San Jorge, Zaragoza. Se realizó durante el período comprendido entre marzo de 2017 y septiembre de 2019.

Criterios de inclusión: pacientes diagnosticados de EG mediante estudio enzimático y caracterización genética en el laboratorio de la FEETEG y que

dispusieran de estudio de *CYP2D6* como posibles candidatos a tratamiento con inhibidor de sustrato oral eliglustat y pacientes de ambos sexos mayores de 13 años que firmaran el consentimiento informado.

Criterios de exclusión: pacientes embarazadas o en período de lactancia, negativa de participar en el estudio o de cumplimentación de la hoja de consentimiento informado.

4.1.2.3. Variables:

a) Variables independientes (clínicas, sociodemográficas y genéticas):

- ✓ **Variables clínicas y sociodemográficas:** edad, sexo (V/M), distribución de los genotipos de *GBA* y *CHIT1*, biomarcadores, la gravedad de la enfermedad que se estimó inicialmente por el índice de puntuación de gravedad (GD-DS3) de Weinreb NJ et al., (534). Así los pacientes fueron clasificados en una de las tres categorías clínicas: leve (puntuación de gravedad índice 0-10 puntos), moderada (11-19 puntos), o grave (≥ 19 puntos); dieta (normal, libre de naranja, pomelo y granada y pobre en hidratos de carbono), tipos de tratamiento (eliglustat, velaglucerasa, imiglucerasa y miglustat), respuesta al tratamiento (alcanza o no objetivos terapéuticos), comorbilidades asociadas, medicación concomitante y efectos adversos.
- ✓ **Variables genéticas:** *CYP2D6*, *CYP3A4*1B* (rs2740574), *CYP3A4*22* (rs35599367), *ABCB1* (rs1128503, rs2032582 y rs1045642) y gen de la lactasa.

b) Variables dependientes (seguridad):

Para evaluar la seguridad se consideraron los efectos adversos inducido por el tratamiento del estudio.

El estudio en sí no condicionaba ningún riesgo para los pacientes, pero los conocimientos derivados del análisis del perfil metabolizador permitían aconsejar sobre el tipo de medicación concomitante más segura para los pacientes.

4.1.2.4. Características clínicas de los pacientes:

En la base de datos del REEG se recogen datos demográficos, antropométricos, género, fecha de nacimiento, fecha de diagnóstico, lugar de residencia y número de familiares afectados. También se recogen las características clínicas: fecha de los primeros síntomas, crisis óseas, manifestaciones neurológicas, otros datos clínicos, volumen del hígado y del bazo. Datos biológicos: recuentos celulares, perfil de distribución del hierro, perfil hepático, lipídico y proteico, estudio de hemostasia, los biomarcadores QT y su genotipo, desde 2004, CCL18/PARC, y desde 2017 se mide la concentración plasmática de LysoGb1. Examen neurológico, estudio de la afectación ósea mediante radiología simple, resonancia magnética de médula ósea y densitometría. Pruebas de imagen como resonancia magnética o ecografía de abdomen para evaluar los volúmenes hepáticos y esplénicos y descartar presencia de nódulos. Esplenectomía y recambios articulares. Evaluación cardiológica. Tipo y fecha de inicio de tratamiento y la dosis. Objetivos terapéuticos alcanzados, según los criterios de Pastores et al., (535). Seguimiento clínico y biológico cada 6 meses y de imagen cada año.

4.1.3. Metodología para la determinación de los perfiles farmacogenéticos:

La determinación de los genotipos incluidos en el estudio se ha llevado a cabo mediante la siguiente metodología:

4.1.3.1. Extracción de ADN:

Las muestras de sangre de los pacientes fueron recogidas mediante los tubos BD vacutainer® de 10 ml (BD, Plymouth, Reino Unido). La extracción de ADN se realizó utilizando el kit comercial Nucleon BACC3, siguiendo las especificaciones concretas para cada tipo de muestra proporcionadas por el fabricante. La concentración y pureza del ADN se midieron con el espectrofotómetro de UV NanoDrop 2000c mediante la relación de absorbancia a 280/260 nm (nanómetros).

4.1.3.2. PCR-RFLP:

La amplificación de los SNP's del gen *ABCB1* se llevó a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional en los termocicladores *My CycLer™ Thermal CycLer* y *MJ-Mini™ Thermal CycLer*, ambos de la casa Bio-Rad (Bio-Rad®

Life Science, Hercules, CA, EE.UU.) en un volumen final de 15 µl para los SNP's rs1128503 y rs2032582 y 12,5 µl para el SNP rs1045642, utilizando una mezcla que contenía 50 ng de ADN. Los productos amplificados de la PCR fueron chequeados en geles de agarosa al 1,5% con GelRed® *Nucleic Acid Gel Satin* (Biotium®, Fremont, CA, EE.UU.) y visualizados bajo luz UV en Gel Doc™ EZ Imager (Bio-Rad® Life Science, Hercules, CA, EE.UU.).

Las condiciones para el genotipado del gen *ABCB1* eran las siguientes: buffer 10X, MgCl₂ 50 mM y Taq Pol 5 U (BIOTAQ™ DNA Polymerase, Biotium, UK), para los dNTPs 2,5 mM (VWR® Life Science, Pensilvania, EE.UU.) y para los *primers* 5 µM (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU.).

Los programas de amplificación para cada uno de los SNPs se recogen en la *Tabla 21* y los *primers* empleados en la PCR aparecen en la *Tabla 22*.

Tabla 21: condiciones de amplificación por PCR, para Los SNPs de ABCB1, (536,537,538).

	SNPs <i>ABCB1</i>		
	rs1128503 (C1236T)	rs2032582 (G2677T/A)	rs1045642 (C3435T)
Desnaturalización inicial	94°C, 5 minutos	94°C, 10 minutos	
Número de ciclos	35	29	
Desnaturalización	94°C, 50 segundos	94°C, 30 segundos	
Hibridación	61°C, 45 segundos	55,7°C, 40 segundos	55°C, 40 segundos
Elongación	72°C, 50 segundos	72°C, 40 segundos	
Elongación final	72°C, 5 minutos	72°C, 10 minutos	

Tabla 22: primers para Los SNPs de ABCB1.

SNP	Primer forward	Primer reverse	Amplicón (pb)	Referencia
rs1128503	5'-TTGAATGAAGAGTTTCTGATGTTTT-3'	5'-CTCTGCATCAGCTGGACTGT-3'	237	(536)
rs2032582	5'-TGCAGGCTATAGTTCCAGG-3'	5'-TTTAGTTTGACTCACCTTCCCG-3'	224	(537)
rs1045642	5'-GATCTGTGAACTCTTGTTTTCA-3'	5'-GAAGAGAGACTTACATTAGCC-3'	244	(538)

Las muestras se visualizaron en gel de agarosa al 1,5% utilizando los marcadores de pesos moleculares XIII y XIV (Roche®, Mannheim, Germany).

4.1.3.3. Digestión enzimática:

Las enzimas empleadas para el ensayo se recogen en la Tabla 23.

Tabla 23: nomenclatura y zonas de corte de Las enzimas empleadas en el estudio.

SNP	Nomenclatura	Sitio de reconocimiento	Patrón de fragmentos (pb)	Referencia
rs1128503	H	5'...GGCC...3' 3'...CCGG...5'	CC: 148+54+35 CT: 183+148+54+35 TT: 183+54	(537)
	ae			
	III			
rs2032582	B	5'...G [▼] YRCC...3' 3'...CCRYG _▲ G...5'	GG: 198+26 GT: 224+198+26 TT: 224	(537)
	an			
	I			
rs1045642	M	5'...GATC...3' 3'...CTAG _▲ ...5'	CC: 172+21+1 CT: 243+172+71+1 TT: 243+1	(538)
	bo			
	I			

En la Tabla 23 se describen los fragmentos que se esperan obtener de cada endonucleasa de restricción, según la presencia de los distintos SNPs.

La mezcla contiene enzima de restricción 10 U/ml y 1 µl de buffer 10X (New England Biolabs®, MA, EE.UU.) por cada muestra. Las muestras se incuban a 37°C durante 24 horas.

4.1.3.4. Q-PCR:

La determinación de los polimorfismos genéticos *CYP3A4*1B* (rs2740574) y *CYP3A4*22* (rs35599367) fue realizada mediante PCR cuantitativa (Q-PCR) a través de diagramas de discriminación alélica utilizando sondas *rhAmp*[®] SNP Assay en el termociclador Bio-Rad[®] CFX Manager (Bio-Rad[®] Life Science, Hercules, CA, EE.UU.) en un volumen final de 5 µl para el SNP rs2740574 y 12,5 µl para el SNP rs35599367, utilizando una mezcla que contenía 50 ng de ADN.

La mezcla de reacción de Q-PCR para los SNP's del gen *CYP3A4* contenían las siguientes concentraciones: para el SNP rs2740574 mastermix+reportermix están en relación 20:1 y el *Snp assay 100rxn* (IDT[®], Coralville, Iowa, EE.UU.). Para el SNP rs35599367 las sondas 40X y mastermix 2x, (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU.). Las sondas utilizadas para *CYP3A4*1B* fueron de la casa comercial IDT (IDT[®], Coralville, Iowa, EE.UU.). Para *CYP3A4*22*, los reactivos empleados fueron de ThermoFisher con referencia: C_59013445_10; Catalog number: 4351379.

Para la metodología de la Q-PCR se han seguido las indicaciones de *rhAmp*[™] *Genotyping (Genotyping with rhAmp SNP Assays and rhAmp reagent mixes)*, el cual es un protocolo estandarizado que se han seguido las indicaciones del proveedor y que las condiciones se recogen en la *Tabla 24*. La intensidad de señal de fluorescencia debido a la degradación de la sonda *rhAmp*[®] se cuantificó durante la fase de anillado de cada ciclo de PCR. La presencia del genotipo *wild-type* y las variantes alélicas se definieron comparando el punto final de fluorescencia relativa creado por la degradación de cada sonda marcada fluorescentemente con *rhAmp*[®] (FAM/VIC). Las sondas empleadas se recogen en la *Tabla 25*.

Tabla 24: condiciones de La qPCR para Los SNPs de CYP3A4.

SNPs CYP3A4		
	rs2740574 (G-395A)	rs35599367 (C15389T)
Desnaturalización inicial	95°C, 10 minutos	
Número de ciclos	45	40
Desnaturalización	95°C, 10 segundos	95°C, 15 segundos
Hibridación	60°C, 30 segundos	60°C, 1 minuto
Elongación	80°C, 20 segundos	-
Heat Inactivation	99,5°C, 15 minutos	

Tabla 25: sondas empleadas en La qPCR para Los SNPs de CYP3A4.

CYP3A4	
SNP	Sonda
rs2740574	TAAAATCTATTAAATCGCCTCTCTC[G/A]TGCCCTTGTCTCTATGGCTGCCTC
rs35599367	GTGCCAGTGATGCAGCTGGCCCTAC[C/T]CTGGGTGTGATGGAGACACTGAACT

4.1.3.5. Genotipado del gen *GBA*:

El análisis genético del gen *GBA* (NM_000157.4) se realizó extrayendo el ADN genómico de los leucocitos periféricos utilizando métodos estándar. A todos los pacientes se les examinaron las mutaciones N370S y L444P y la supresión de 55 pb según Beutler et al., (539), Uchiyama et al., (540), y Torralba et al. (541),. Una vez que se excluyó la presencia de estos alelos mutados, se realizó el análisis de las mutaciones en el gen se realizaron las amplificaciones del ADN empleando la técnica de la PCR de larga duración seguida de una PCR anidada según Torralba et al., (87).

Tras la amplificación del ADN, los amplicones de la PCR fueron purificados y secuenciados en un secuenciador de ADN automatizado, MegaBACE DNA Analysis System (Amersham Biosciencias, Uppsala, Suecia). Las posiciones de los nucleótidos fueron numeradas desde el primer ATG (GenBank/EMBL número de acceso M16328).

4.1.3.6. Genotipado del gen *CHIT1*:

El análisis del gen *CHIT1* (NM_003465.3:c.1049_1072dup24) se realizó por la técnica de la PCR tal y como lo describen Boot et al., (135). Los productos generados por la PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% NuSieve®GTG® (Lonza, Rockland, ME, EE.UU.).

La concentración en plasma de la QT se midió usando el sustrato fluorogénico 4MU-chitotriósido (Sigma Chemical Co., St Luis, MO, EE.UU.), tal y como mencionan Hollak et al., (132).

4.1.4. Análisis estadístico:

Las variables cualitativas empleadas en nuestro estudio fueron: sexo, genes de estudio (citocromos (*CYP2D6*, *CYP3A4*1B* y *CYP3A4*22*) y los SNPs del transportador *ABCB1* (rs1045642, rs2032582 y rs1128503), tratamiento, gen de la lactasa, genotipo de *GBA/CHIT1*, efectos adversos, medicación concomitante, respuesta al tratamiento, comorbilidades y dieta. Las variables cuantitativas empleadas en nuestro estudio fueron edad y biomarcadores (QT, CCL18/PARC y LysoGb1); ver Anexo I.

Los datos cuantitativos se expresaron como media \pm desviación estándar para las variables con distribución normal. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (con la corrección de Lilliefors) y Shapiro-Wilk.

Se aplicó la prueba de Levene junto con la *t de Student* (para muestras independientes) o de ANOVA para las variables con distribución normal y en el caso de las variables no paramétricas, se aplicó el test de Mann-Whitney. La asociación bivalente para las variables dicotómicas cualitativas se realizó mediante la prueba *Chi-cuadrado*. La prueba de ANOVA o de Kruskal-Wallis se aplicó en el caso de las variables cualitativas con más de dos categorías. En función de la normalidad de los datos, para comparar las variables cuantitativas se utilizó la correlación de Pearson. Se realizó un análisis multivariante (regresión lineal o logística) para detectar las posibles variables de confusión. La normalidad de los residuos en el modelo de la regresión lineal fue testada empleando la técnica de Shapiro-Wilk, y también se comprobó gráficamente (figuras Q-Q de normalidad).

Los datos se recogieron en formato Excel y el análisis estadístico se llevó a cabo mediante el *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS Inc. versión 22.0). El nivel de confianza fijado para todos los análisis es del 95%, considerando significación estadística un valor de $p \leq 0,05$.

4.1.5. Evaluación clínica del paciente en el momento del estudio:

4.1.5.1. Información clínica:

Los datos clínicos de los pacientes se obtuvieron mediante una encuesta. Dicho documento incluía información como la presencia de otras enfermedades y medicación concomitante, el tipo de tratamiento y los años en tratamiento, la presencia o no de efectos adversos y el tipo de dieta habitual, considerando:

- 1) Dieta normal: la dieta equilibrada de 2000-2500 Kcal que contenga HC, proteínas y lípidos, en proporción 300, 100, 100 respectivamente.
- 2) Dieta pobre en HC: personas diabéticas o con dietas hipocalóricas.
- 3) Dieta restringida en sal: pacientes con HTA o problemas cardiovasculares.
- 4) Dieta libre de pomelo, naranja amarga, granada y carambola: dieta recomendada para pacientes en tratamiento con eliglustat.
- 5) Dieta vegetariana y vegana.

4.1.5.2. Objetivos terapéuticos:

En relación a la valoración de la respuesta al tratamiento se utilizaron las normas establecidas tanto para el TRE, (535), como para el TRS, (209,542), siguiendo la guía de actuación para pacientes niños y adultos, *Tabla 26*, *Tabla 27* y *Tabla 28*, el contenido de las tablas se ha obtenido de la fundación FEETEG.

Tabla 26: criterios de respuesta de Los OT en niños y adultos en sangre, (543).

Objetivos Terapéuticos (OT)		
Criterios de respuesta	Niños	Adultos
Hemoglobina (Hb)	>11 g/dL	>11 g/dL para mujeres y >12 g/dL para varones
	Independiente de transfusiones. Sin síntomas de síndrome anémico	
	Mantener los valores estables tras 12-24 meses de tratamiento	
Plaquetas	Incremento de la cifra plaquetaria basal 1,5-2 veces durante el primer año en tratamiento para alcanzar valores normales en el segundo año	Incremento de la cifra plaquetaria basal durante el primer año en tratamiento suficiente para mantener valores hemostáticos.
		Pacientes esplenectomizados: normalización de cifra plaquetaria en el primer año de tratamiento.
		Pacientes no esplenectomizados.
		Trombocitopenia moderada ($>40-100 \times 10^9/L$) incremento en 1,5-2 veces cifras basales por año y alcanzar valores normales durante el segundo año.
		Trombocitopenia grave ($<40 \times 10^9/L$) incremento de 1,5 veces durante el primer año en tratamiento y aumento continuado durante los siguientes 2-5 años, aunque no alcance valores normales.

Tabla 27: criterios de respuesta de Los OT en niños y adultos en vísceras, (543).

Objetivos Terapéuticos (OT)		
Criterios de respuesta	Niños	Adultos
Volumen hepático	Reducción del volumen hepático del 20-30% al año de inicio del tratamiento	Reducción y mantenimiento del volumen hepático a valores normales ó 1,5 veces el valor normal (en función de la superficie corporal del sujeto).
		Reducción del volumen hepático del 20-30% entre los primeros 12-24 meses y entre 30-40% entre los 3-5 años.
Volumen esplénico	Reducción del volumen esplénico del 30-50% en el primer año	Reducción y mantenimiento del volumen esplénico de 2-8 veces el volumen normal (en función de la superficie corporal del sujeto).
		Reducción del volumen esplénico del 30-50% en el primer año y del 50-60% entre los años 2-5.

Tabla 28: criterios de respuesta de Los OT en niños y adultos en peso y talla, enfermedad ósea y biomarcadores, (543).

Objetivos Terapéuticos (OT)		
Criterios de respuesta	Niños	Adultos
Peso y talla	Normalización de los percentiles de peso y talla de acuerdo a la edad	NA
	Normalización de edad ósea	
	Prevenir osteopenia y osteoporosis	
Enfermedad ósea	NA	Reducir o eliminar dolor óseo durante los primeros 12-24 meses
		Prevenir crisis óseas
		Prevenir osteonecrosis y aplastamientos subcondriales articulares
		Mejorar la densidad ósea entre 3-5 años
Biomarcadores	Pacientes con actividad de QT. Descenso entre 40-70% de los valores basales durante los primeros 12-24 meses	
	Pacientes sin actividad de QT, monitorizar con niveles de CCL-18/PARC. Descensos entre 30-50% de los valores basales	

4.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS:

La frecuencia alélica menor (FAM) se ha calculado de la siguiente manera:

$$FAM = \frac{(2 * n^{\circ} \text{ de casos del alelo dominante})}{(2 * (n^{\circ} \text{ de casos del alelo dominante} + n^{\circ} \text{ de casos del alelo recesivo}))}$$

↓

$$FAM = \frac{n^{\circ} \text{ de casos del alelo dominante}}{n^{\circ} \text{ de casos del alelo dominante} + n^{\circ} \text{ de casos del alelo recesivo}}$$

Para conocer la frecuencia alélica es necesario conocer primero la frecuencia genotípica:

$$\text{Genotipo } BB = \frac{n^{\circ} \text{ de } BB \text{ observados}}{n^{\circ} \text{ total de casos}} = X$$
$$\text{Genotipo } Bb = \frac{n^{\circ} \text{ de } Bb \text{ observados}}{n^{\circ} \text{ total de casos}} = Y$$
$$\text{Genotipo } bb = \frac{n^{\circ} \text{ de } bb \text{ observados}}{n^{\circ} \text{ total de casos}} = Z$$

Una vez calculadas las frecuencias del genotipo, procederemos a calcular las frecuencias alélicas (544):

$$\left. \begin{array}{l} \text{Alelo } B = (X + 0,5) * Y \\ \text{Alelo } b = (Z + 0,5) * Y \end{array} \right\} \Longrightarrow \begin{array}{l} 0,5 \text{ es la probabilidad de cada alelo,} \\ \text{es decir, } 1/2 \text{ o } 50\%. \end{array}$$

Para el análisis comparativo de los alelos de *CYP2D6*, *CYP3A4*, y *ABCB1*, de la serie de pacientes frente a la población ibérica y europea, se ha utilizado la base de datos del genoma humano de *Ensembl*, para *CYP3A4*1B*, (545), y para *CYP3A4*22*, (546).

5. RESULTADOS

5.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Se trata de un estudio de cohorte que incluye 61 pacientes, los cuales presentan una media de edad de 47,9 años, con una desviación estándar de 16,6 y con un mínimo de edad de 15 años y un máximo de 83 años, *Tabla 29*. La distribución por género es de 33 mujeres y 28 varones, lo que representa un porcentaje del 54,1% y del 45,9% respectivamente, *Tabla 30*.

Tabla 29: frecuencia de la edad.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	61	15	83	47,90	16,557

Tabla 30: frecuencia y porcentaje del género.

	N	%
Mujer	33	54,1
Varón	28	45,9
Total	61	100,0

En la *Figura 1*, se recogen los rangos de edad de los pacientes siendo el más frecuente los pacientes con edades comprendidas entre los 51 y 60 años, mientras que el menos frecuente serían los pacientes con edades superiores a 70 años. La edad del grupo sigue una distribución gaussiana.

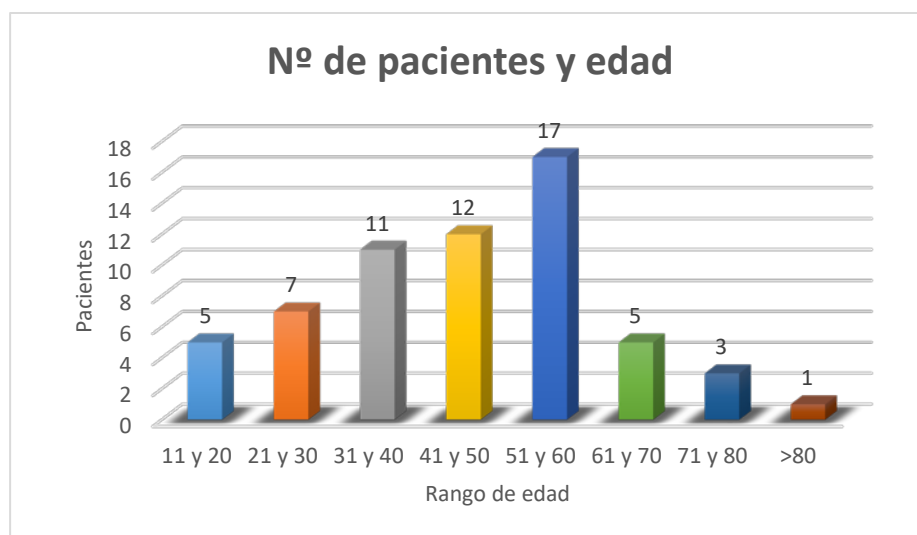


Figura 1: distribución de los pacientes por rango de edad.

La dosis que recibían los pacientes en TRE oscilaba entre 30 y 60 U/Kg por vía intravenosa cada 2 semanas. Los pacientes que recibían terapia de inhibición de sustrato con miglustat, la dosis era de 100 mg/8h. La dosis de los pacientes

con el inhibidor de sustrato estaba condicionada por el tipo de metabolizador de *CYP2D6*. Para los metabolizadores rápidos e intermedios, la dosis es de 84 mg/12h y para los metabolizadores lentos es de 84 mg/24h. Solamente un paciente metabolizador lento recibía 84 mg/48h debido a la intolerancia al fármaco.

5.2. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS:

5.2.1. PCR-RFLP:

El genotipado de los tres SNP's del gen *ABCB1* se llevó a cabo con la metodología explicada en el apartado 4.1.3.2. El tamaño del amplicón de cada SNP fue de 244 pb para el SNP (rs1045642), de 224 pb para el SNP (rs2032582) y 237 pb para el SNP (rs1128503). Los resultados obtenidos se pueden observar mejor en las imágenes *Imagen 42*, *Imagen 43* e *Imagen 44*.

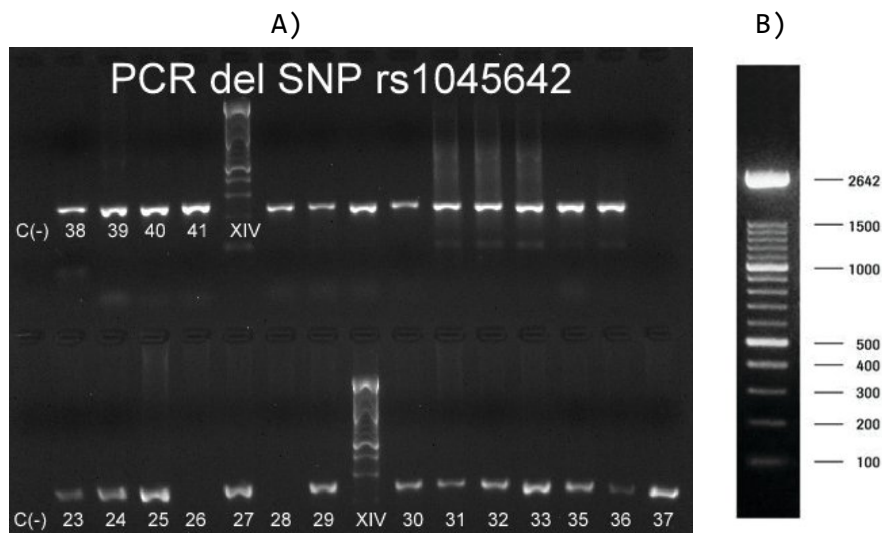


Imagen 42: A) PCR del SNP rs1045642 muestras 23-33, 35-41, con un amplicón de 244 pb. B) Marcador de peso molecular XIV.

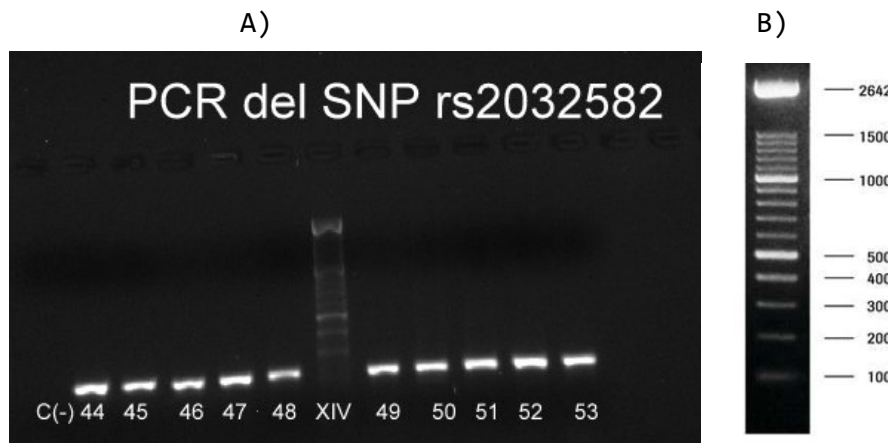


Imagen 43: A) PCR del SNP rs2032582 muestras 44-53, con un amplicón de 224 pb. B) Marcador de pesos moleculares XIV.

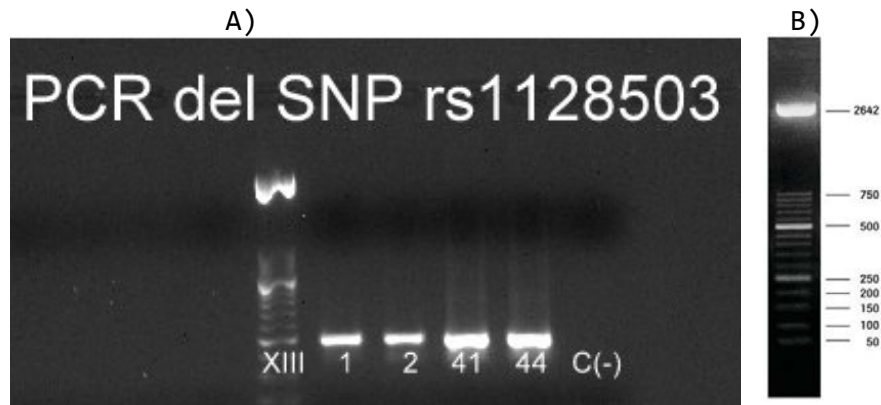


Imagen 44: A) PCR del SNP rs1128503 muestras 1, 2, 41 y 44, con un amplicón de 237 pb. B) Marcador de pesos moleculares XIII.

El resultado obtenido de la digestión se puede apreciar en las siguientes imágenes: *Imagen 45*, *Imagen 46* e *Imagen 47*.

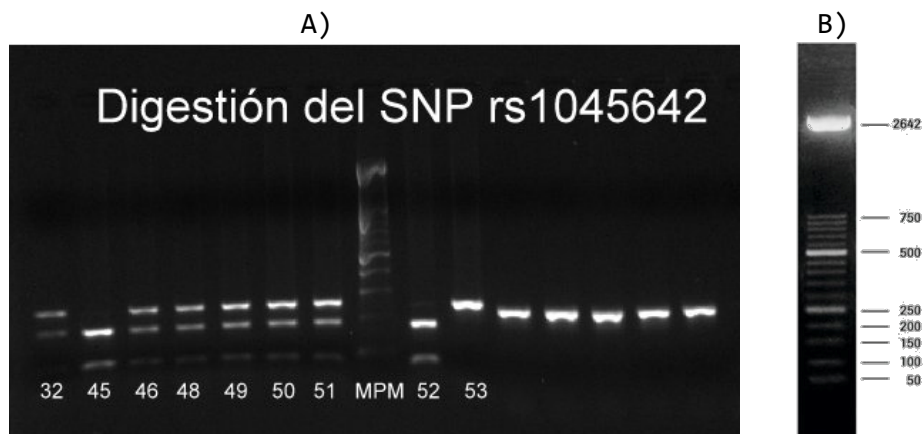


Imagen 45: A) Digestión del SNP rs 1045642 muestras 32, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52 y 53 con MboI. B) Marcador de pesos moleculares XIII.

En la *Imagen 45*, observamos que aquellas muestras que sean heterocigotas presentan tres bandas visibles de 243+172+71+1 pb (CT), mientras que la que es heterocigota presenta una banda de 243+1 pb (TT) o dos bandas de 172+71+1 pb (CC). Así, las muestras 32, 46-51 son CT, las muestras 45 y 52 son CC y la muestra 53 es TT.

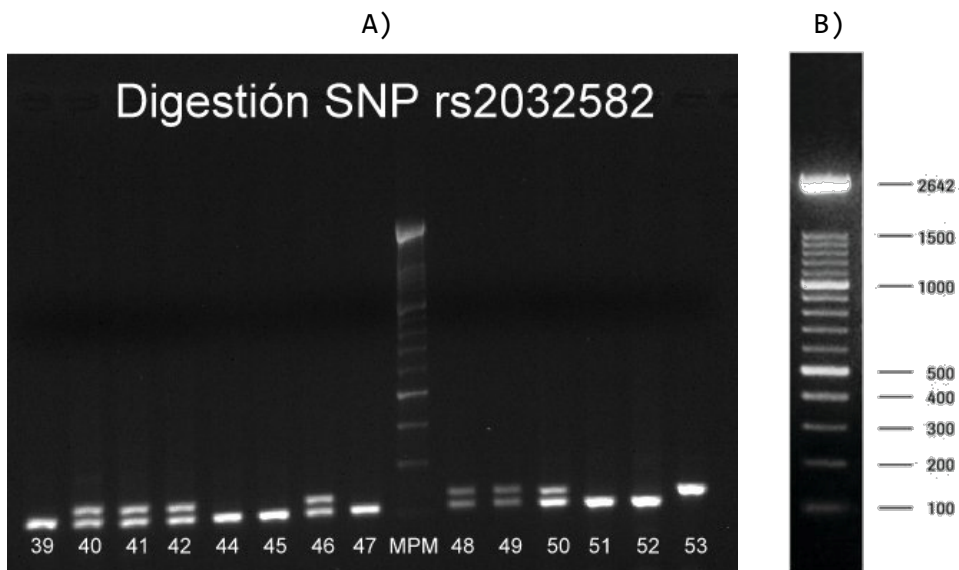


Imagen 46: A) Digestión del SNP rs2032582 muestras 39-42, 44-53 con *BanI*. B) Marcador de pesos moleculares XIV.

En la *Imagen 46*, observamos que aquellas muestras que sean heterocigotas presentan dos bandas visibles de 224+198+26 pb (GT), mientras que la que es heterocigota presenta una banda de 224 pb (TT) o de 198+26 pb (GG). Así, las muestras 40-42, 46 y 48-50 son CG, las muestras 39, 44, 45, 47, 51 y 52 son GG y la muestra 53 es TT.

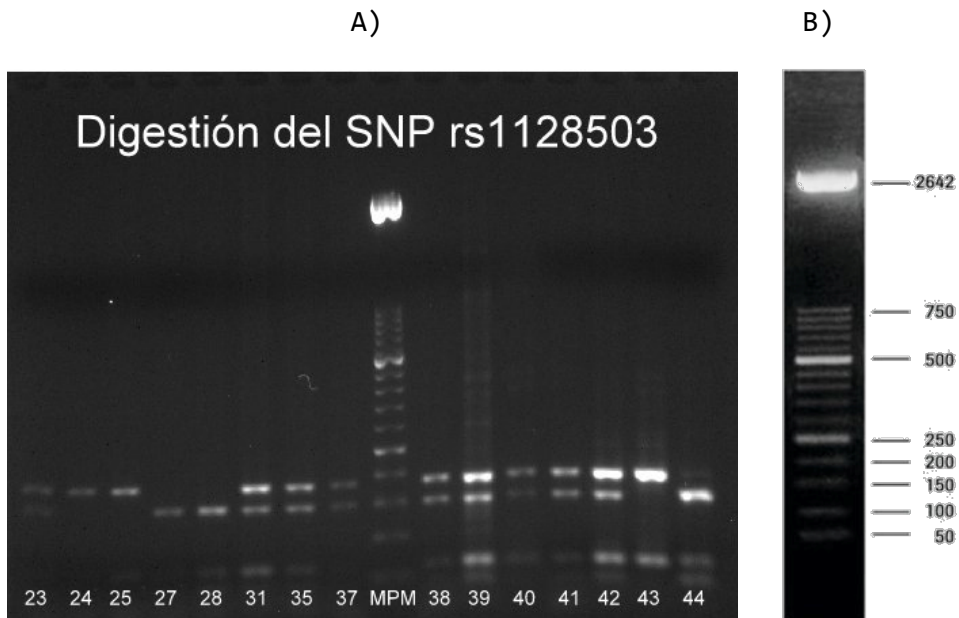


Imagen 47: Digestión del SNP rs1128503 muestras 23-25, 27, 28, 31, 35, 37 y 39-44 con *HaeIII*. B) Marcador de pesos moleculares XIII.

En la *Imagen 47*, observamos que aquellas muestras que son heterocigotas presentan tres bandas visibles de 183+148+54+35 pb (CT), mientras que la que

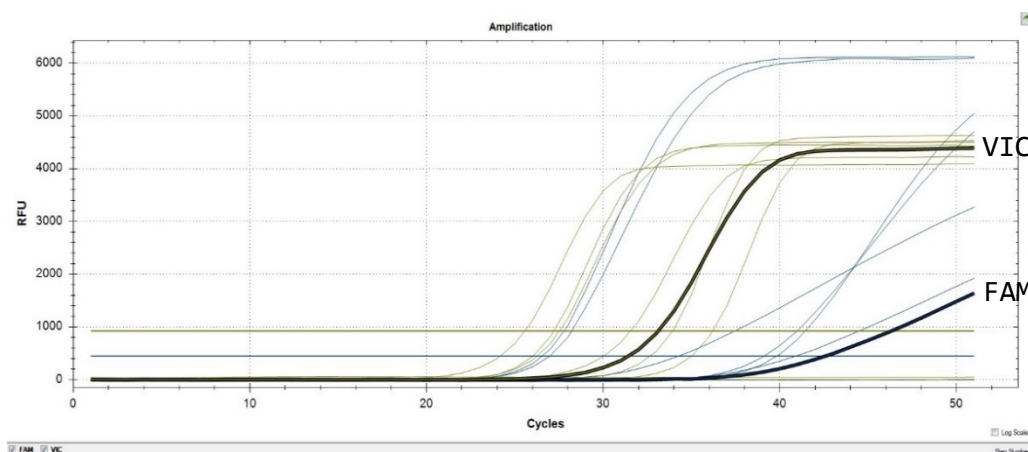
es homocigota presenta una banda de 183+54 pb (TT) o dos bandas de 148+54+35 pb (CC), hay que resaltar que la banda de 54 pb no es visible. Así, las muestras 23, 31, 35, 37 y 38-42 son CT, las muestras 24 y 25 son TT y las muestras 27, 28 y 44 son CC.

5.2.2. Q-PCR:

En la técnica por qPCR se identifican dos señales marcadas con diferentes fluoróforos. Las sondas VIC, se marcan con un fluoróforo de color verde, y las FAM con un fluoróforo de color azul. La presencia de señales con estos marcadores nos indica si el sujeto es homocigoto para el alelo *wild type* o para el alelo mutado (VIC/VIC o FAM/FAM), o heterocigoto (VIC/FAM). Los resultados de la qPCR los podemos observar, para cada uno de los genes estudiados, en las imágenes: *Imagen 48*, *Imagen 49*, *Imagen 50* e *Imagen 51*.

5.2.2.1. CYP3A4*1B:

A modo de ejemplo en la imagen 48, aparece el resultado de la amplificación del paciente 25. Como se puede observar que se trata de un homocigoto para el alelo *wild type* (VIC/VIC), alelo A, ya que únicamente se obtiene la señal de la sonda marcada en verde. Se obtuvo una señal similar para las muestras de los pacientes 19, 21, 26, 59 y 61.



*Imagen 48: muestra 25 homocigota para CYP3A4*1B, alelo wild type.*

En el siguiente ejemplo, *Imagen 49*, aparece el resultado de la amplificación del paciente 40. Como se puede observar la muestra corresponde a un sujeto heterocigoto para el alelo AG ya que las curvas que se muestran se identifican con los fluoróforos VIC y FAM. Se obtuvo una señal similar para la muestra del paciente 43.

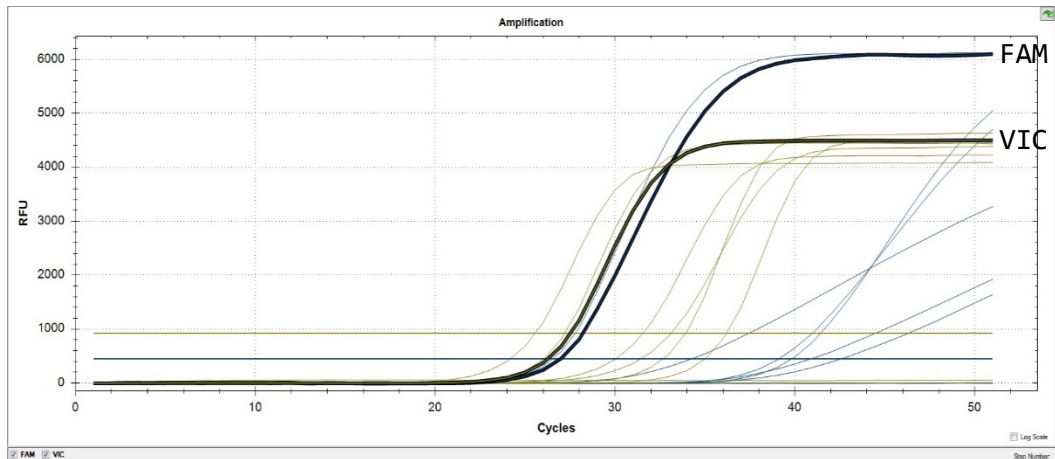


Imagen 49: muestra 40 heterocigota para CYP3A4*1B.

5.2.2.2. CYP3A4*22:

En la Imagen 50, aparece el resultado de la amplificación para el paciente 3. Se trata de un homocigoto para el alelo *wild type*, alelo C, ya que la señal que se muestra es la de la sonda marcada en verde, VIC. Se obtuvo una señal similar para las muestras de los pacientes (1, 4-8, 19, 21, 23, 26, 40, 46, 56-60 y 62).

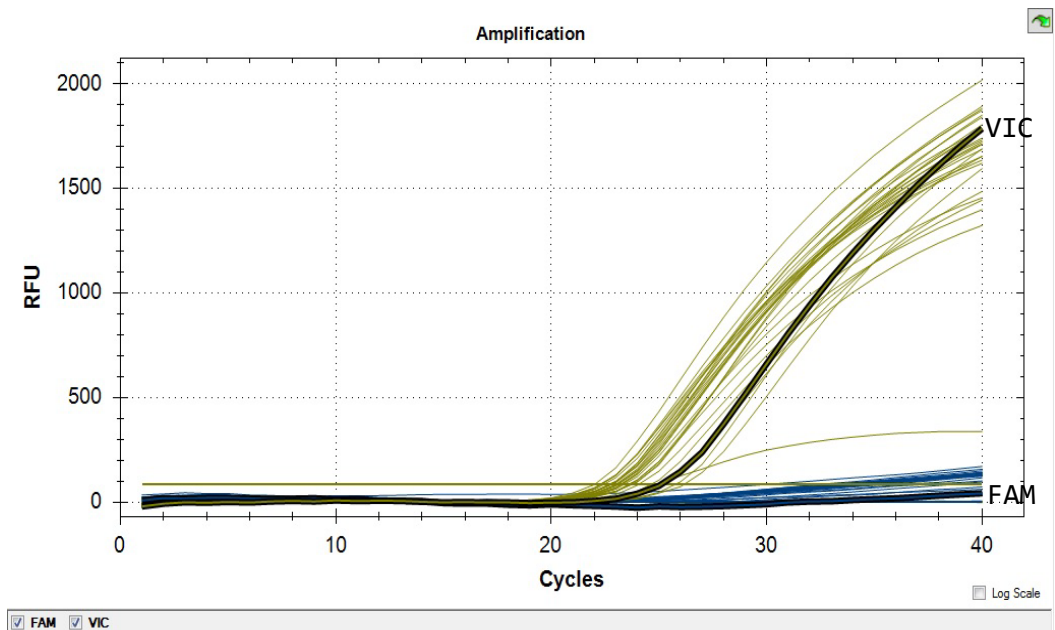


Imagen 50: muestra 3 homocigota para CYP3A4*22, alelo wild type.

En el siguiente ejemplo, Imagen 51, aparece el resultado de la amplificación del paciente 20. Como se puede observar la muestra corresponde a un sujeto heterocigoto para el alelo CT ya que las curvas que se muestran se identifican

con los fluoróforos VIC y FAM. Se obtuvo una señal similar para las muestras de los pacientes 2 y 9.

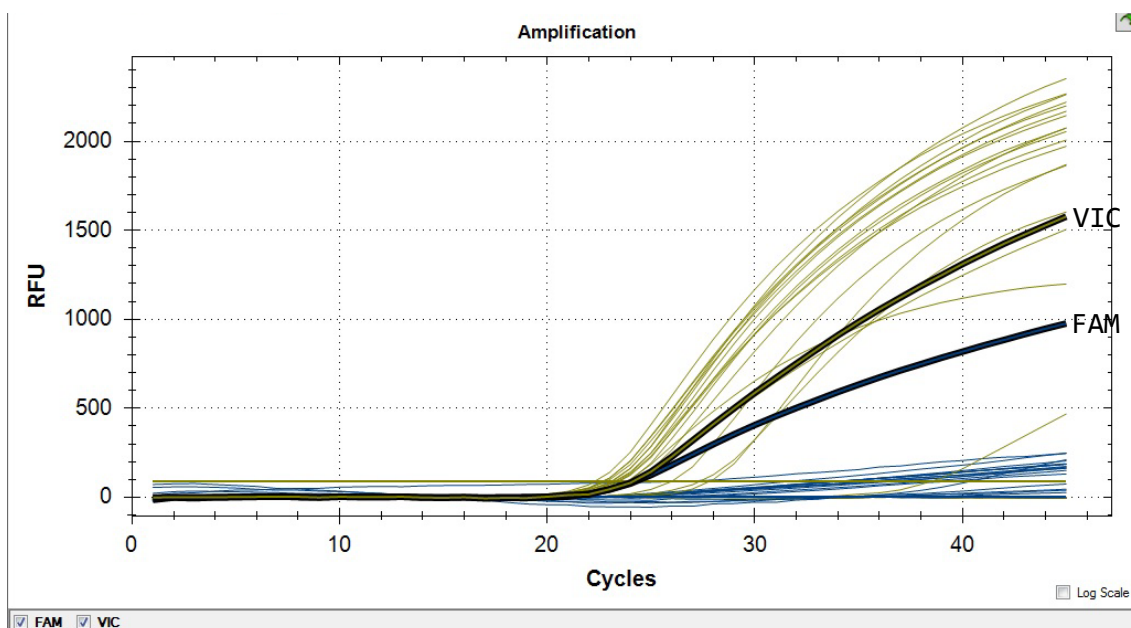


Imagen 51: muestra 20 heterocigota para CYP3A4*22.

5.2.3. Genotipo CYP2D6, CYP3A4 y ABCB1:

5.2.3.1. Análisis general:

En este apartado se describe el perfil genético de CYP2D6, los SNP's del CYP3A4: CYP3A4*1B (rs2740574) y CYP3A4*22 (rs35599367), y los SNP's del transportador ABCB1: ABCB1 (rs1045642, rs2032582 y rs1128503). La distribución de las frecuencias se reflejan en las tablas: Tabla 31, Tabla 32, Tabla 33, Tabla 34, Tabla 35 y Tabla 36, acompañadas de sus respectivas figuras: Figura 2, Figura 3, Figura 4 y Figura 5.

Tabla 31: pacientes y tipo de metabolizador para CYP2D6.

Tipo de metabolizador	N	%
Rápido	49	80,3
Intermedio	8	13,1
Pobre	3	4,9
Ultrarrápido	1	1,6
Total	61	100,0

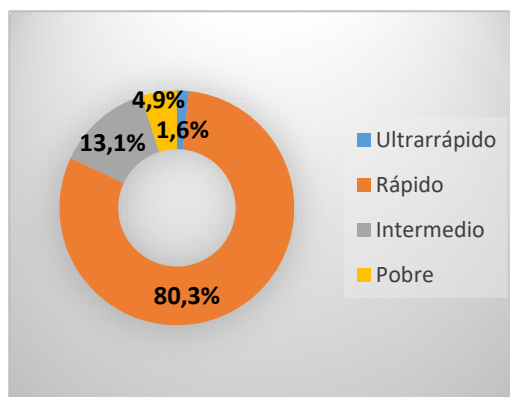


Figura 2: tipo de metabolizador para CYP2D6.

Tabla 32: pacientes y tipo de metabolizador para CYP3A4*22.

Tipo de metabolizador (alelos)	N	%
Rápido (CC)	58	95,1
Intermedio (CT)	3	4,9
Total	61	100,0

Tabla 33: pacientes y tipo de metabolizador para CYP3A*1B.

Tipo de metabolizador (alelos)	N	%
Rápido (AA)	55	90,2
Intermedio (AG)	6	9,8
Total	61	100,0

Tabla 34: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs1045642).

Tipo de actividad (alelos)	N	%
Normal (CT)	32	52,5
Normal (CC)	17	27,9
Deficiente (TT)	12	19,7
Total	61	100,0

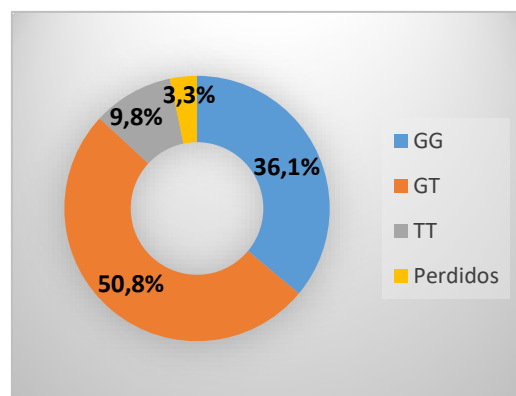


Figura 3: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs1044652).

Tabla 35: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs2032582).

Tipo de actividad (alelos)	N	%
Normal (GT)	31	50,8
Normal (GG)	22	36,1
Deficiente (TT)	6	9,8
NV*	2	3,3
Total	61	100,0

*NV (No Valorables). En 2 pacientes por motivos técnicos no se pudo completar el genotipo para este SNP.

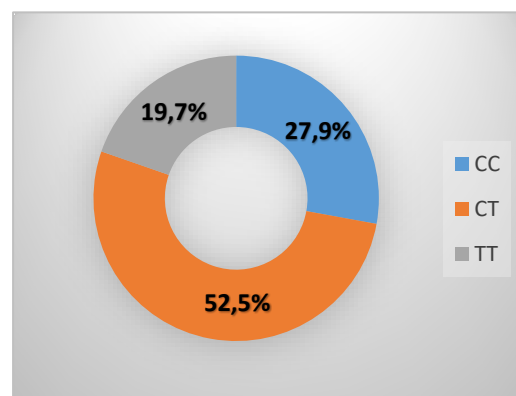


Figura 4: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs2032582).

Tabla 36: pacientes y tipo de actividad para ABCB1, SNP (rs1128503).

Tipo de actividad (alelos)	N	%
Normal (CT)	34	55,7
Normal (CC)	16	26,2
Deficiente (TT)	11	18,0
Total	61	100,0

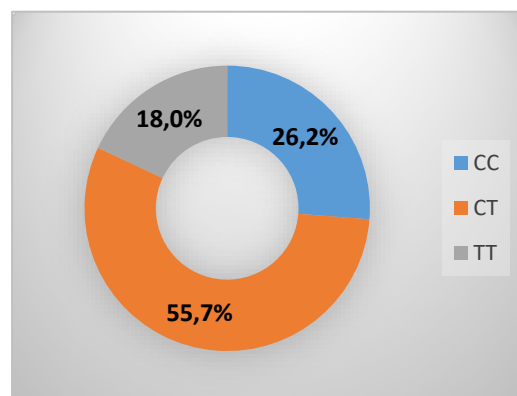


Figura 5: distribución, en porcentaje, del genotipo del gen ABCB1 (rs1128503).

5.2.3.2. Clasificación de los pacientes según el genotipo:

De acuerdo a la frecuencia de los diferentes tipos de metabolizadores de los citocromos analizados y del transportador hemos clasificado a los pacientes asignándoles un código que está definido en la *Tabla 37*. Para facilitar la exposición, la distribución de los pacientes queda reflejada en la *Tabla 38* y en la *Figura 6* utilizando los códigos asignados.

Tabla 37: códigos del genotipo de Los citocromos y ABCB1.

		Gen	Significado
Código	R1	CYP2D6	Rápido
	R2	CYP3A4*1B	
	R3	CYP3A4*22	
	I1	CYP2D6	Intermedio
	I2	CYP3A4*1B	
	I3	CYP3A4*22	
	L	CYP2D6	Lento
	UR	CYP2D6	Ultrarrápido
	AN1	ABCB1 (rs1045642)	Actividad normal
	AN2	ABCB1 (rs2032582)	
	AN3	ABCB1 (rs1128503)	
	AD1	ABCB1 (rs1045642)	Actividad deficiente
	AD2	ABCB1 (rs2032582)	
	AD3	ABCB1 (rs1128503)	

Tabla 38: distribución de Los fenotipos.

Distribución general del perfil metabolizador	
R1+R2+R3+AN1+AN2+AN3	33
R1+R2+R3+AN1+AN2+AD3	2
R1+R2+R3+AD1+AN2+AN3	2
R1+R2+R3+AD1+AN2+AD3	1
R1+R2+R3+AD1+AD2+AD3	3
R1+R2+I3+AN1+AN2+AN3	1
R1+R2+I3+AN1+AN2+AD3	1
R1+R2+I3+AD1+AN2+AN3	1
R1+I2+R3+AN1+AN2+AN3	2
R1+I2+R3+AD1+AN2+AN3	1
R1+I2+R3+AD1+AD2+AN3	1
R1+R2+R3+AN1+*+AN3	1
I1+R2+R3+AN1+AN2+AN3	6
I1+R2+R3+AD1+AD2+AD3	1
I1+R2+R3+AN1+*+AD3	1
L1+R2+R3+AD1+AD2+AN3	1
L1+R2+R3+AN1+AN2+AD3	1
L1+I2+R3+AD1+AN2+AD3	1
UR+R2+R3+AN1+AN2+AN3	1

*no se pudo determinar el SNP

Como se observa en la *Tabla 38*, el fenotipo de metabolizador más frecuente (33 pacientes, 54,1%) es el de metabolizador rápido para *CYP2D6*, *CYP3A4*1B* y *CYP3A4*22* y con perfil de actividad normal para los tres SNPs de *ABCB1*. En menor proporción se encuentran los metabolizadores intermedios para *CYP2D6*, rápidos para *CYP3A4*1B* y *22 y actividad normal para los tres SNP's del *ABCB1* (6 pacientes), y aquellos que son metabolizadores rápidos para *CYP2D6*, *CYP3A4*1B* y *22 y con actividad deficiente para los tres SNP's del *ABCB1* (4 pacientes), *Figura 6*.

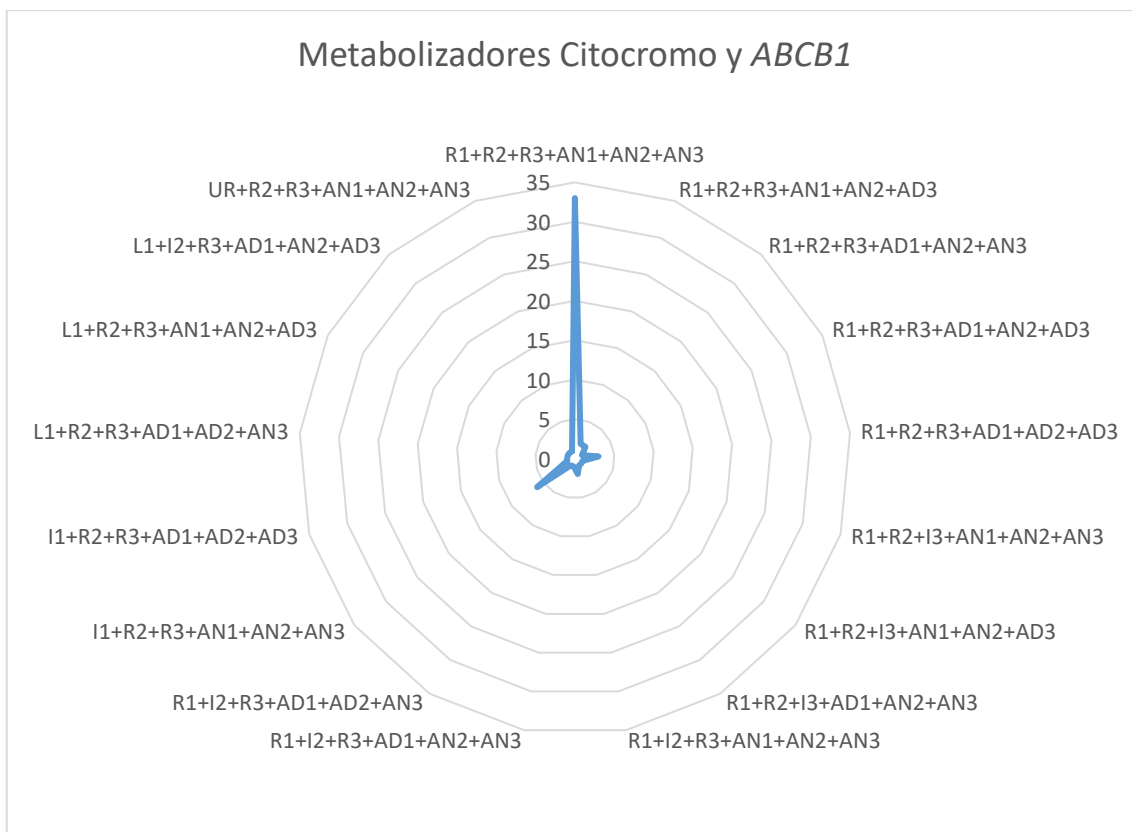


Figura 6: distribución del fenotipo de 61 pacientes afectados de EG en función de su genotipo.

5.2.3.3. Distribución por género:

La distribución de los perfiles de metabolizador del citocromo y actividad del transportador se realiza por genotipo y sexo. Los datos para el CYP2D6 aparecen en la Tabla 39, los datos para el CYP3A4 aparecen en las tablas Tabla 40 y Tabla 41 y los datos para ABCB1 aparecen en las tablas Tabla 42, Tabla 43 y Tabla 44.

Tabla 39: distribución de CYP2D6 en función del género.

	CYP2D6	N	%
Varón	Rápido	22	78,6
	Intermedio	3	10,7
	Pobre	3	10,7
	Total	28	100,0
Mujer	Rápido	27	81,8
	Intermedio	5	15,2
	Ultrarrápido	1	3,0
	Total	33	100,0

Tabla 40: distribución de CYP3A4*1B en función del género.

CYP3A4*1B		N	%
Varón	AA (rápido)	25	89,3
	AG (Intermedio)	3	10,7
	Total	28	100,0
Mujer	AA (rápido)	30	90,9
	AG (Intermedio)	3	9,1
	Total	33	100,0

Tabla 41: distribución de CYP3A4*22 en función del género.

CYP3A4*22		N	%
Varón	CC (rápido)	28	100,0
	CC (rápido)	30	90,9
Mujer	CT (Intermedio)	3	9,1
	Total	33	100,0

Tabla 42: distribución de ABCB1 (rs1045642) en función del género.

ABCB1 (rs1045642)		N	%
Varón	CT (Actividad normal)	15	53,6
	CC (Actividad normal)	7	25,0
	TT (Actividad deficiente)	6	21,4
	Total	28	100,0
Mujer	CT (Actividad normal)	17	51,5
	CC (Actividad normal)	10	30,3
	TT (Actividad deficiente)	6	18,2
	Total	33	100,0

Tabla 43: distribución de ABCB1 (rs2032582) en función del género.

ABCB1 (rs2032582)		N	%
Varón	GT (Actividad normal)	13	46,4
	GG (Actividad normal)	11	39,3
	TT (Actividad deficiente)	3	10,7
	Perdidos	1	3,6
	Total	28	100,0
Mujer	GT (Actividad normal)	18	54,5
	GG (Actividad normal)	11	33,3
	TT (Actividad deficiente)	3	9,1
	Perdidos	1	3,0
	Total	33	100,0

Tabla 44: distribución de ABCB1 (rs1128503) en función del género.

ABCB1 (rs1128503)		N	%
Varón	CT (Actividad normal)	15	53,6
	CC (Actividad normal)	9	32,1
	TT (Actividad deficiente)	4	14,3
	Total	28	100,0
Mujer	CT (Actividad normal)	19	57,6
	CC (Actividad normal)	7	21,2
	TT (Actividad deficiente)	7	21,2
	Total	33	100,0

La Tabla 45, es un resumen de las tablas 39-44 del genotipo y fenotipo de los genes estudiados con respecto al género. En la misma, podemos observar que la distribución del perfil del metabolizador de los citocromos y la actividad del transportador analizados es similar tanto en hombres como en mujeres.

Tabla 45: tabla resumen de la distribución de Los genes de estudio.

Género/genes	CYP2D6		CYP3A4			ABCB1			
				*1B	*22		rs1045642	rs2032582	rs1128503
V	Rápido	22	Rápido	25	28	Actividad normal	22	24	24
	Intermedio	3	Intermedio	3	0	Actividad deficiente	6	3	4
M	Rápido	27	Rápido	30	30	Actividad normal	27	29	26
	Intermedio	5	Intermedio	3	3	Actividad deficiente	6	3	7

5.3. ANÁLISIS DE DATOS ALÉLICOS Y GENOTÍPICOS:

5.3.1. Frecuencias alélicas y genotípicas de CYP2D6, CYP3A4 y ABCB1:

En este apartado vamos a calcular las diferencias de las frecuencias alélicas y genotípicas de los citocromos CYP2D6 (Tabla 46 y Tabla 47) y CYP3A4 (Tabla 48, Tabla 49 y Tabla 50) y el transportador ABCB1 (Tabla 51, Tabla 52, Tabla 53 y Tabla 54) en nuestra cohorte de pacientes con EG respecto a la población ibérica (IBS) y a la referida en la bibliografía para población europea.

5.3.1.1. CYP2D6:

En la *Tabla 46*, El estudio comparativo entre los datos obtenidos en la cohorte en los alelos *1, *2, *4, *5, *9, *10, *17 y *35 de CYP2D6 y los publicados en población IBS y europea muestra mayor prevalencia en los alelos *1 y *4 frente a la población europea. La comparación con los datos publicados en la población IBS también revelan incrementos significativos en los alelos *1, *2, y *4, *Tabla 47*.

Tabla 46: tabla comparativa de La frecuencia alélica de CYP2D6 en La población europea y Los pacientes de estudio.

CYP2D6			
Alelo	Población Europea	Población IBS (Ensembl)	Población EG (Estudio)
*1	33-37%	40,06%	69%
*2	22-33%	16,69%	31%
*3	1-4%	1,37%	3%
*4	12-23%	19,01%	31%
*5	2-7%	1,61%	7%
*6	1%	0,87%	2%
*7	NA	NA	0%
*8	NA	NA	0%
*9	0-3%	NA	5%
*10	1-2%	2,17%	5%
*11	NA	NA	0%
*15	NA	NA	0%
*17	< 1%	0,93%	3%
*29	NA	NA	0%
*35	NA	5,28%	8%
*41	NA	7,52%	8%

Tabla 47: tabla resumen del estudio comparativo de los alelos CYP2D6 en las poblaciones europea, población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).

CYP2D6		TABLA RESUMEN DE LA PRUEBA DEL CHI-CUADRADO				
Alelo	Valor Chi-Cuadrado	Población europea	Población IBS	p	Población EG	p
*1		0,61	0,169	0,0000	0,231	0,0000
*2		NA	0,053	0,02	NA	
*4		0,395	0,038	0,05	0,457	0,0326
*5		NA	0,029	0,08	NA	
*9		0,179	NA		0,005	0,470
*10		0,183	0,013	0,248	0,013	0,248
*17		0,17	0,01	0,312	0,01	0,312
*35		NA	0,007	0,389	NA	

5.3.1.2. CYP3A4:

5.3.1.2.1. Alelo *1B:

En la *Tabla 48*, la diferencia para la frecuencia alélica (FA) es del 2,1%, esta diferencia es similar a la referida en población IBS. En cuanto al genotipo, la diferencia es del 4,2% y no tiene significación estadística, *Tabla 50*.

*Tabla 48: comparación de La frecuencia alélica de CYP3A4*1B frente a La de La base de datos en población.*

CYP3A4*1B (rs2740574)					
		Frecuencia alélica (%)		Frecuencia genotípica (%)	
Estudio	A	G	AA	AG	
	95,1	4,9	90,2	9,8	
Ensembl	A	G	AA	AG	
	97,2	2,8	94,4	5,6	
Diferencia	A	G	AA	AG	
	2,1	2,1	4,2	4,2	

5.3.1.2.2. Alelo *22:

En la *Tabla 49*, se observa que la diferencia para la FA es del 1,2% siendo similar a la de la población IBS. En cuanto al genotipo, la diferencia es del 2,6%, que al igual que la FA, tampoco se aleja del rango observado en la base de datos de la población IBS, *Tabla 50*.

Tabla 49: comparación de la frecuencia alélica de CYP3A4*22 frente a la de la base de datos en población ibérica.

CYP3A4*22 (rs35599367)				
	Frecuencia alélica (%)		Frecuencia genotípica (%)	
Estudio	C	T	CC	CT
	97,5	2,5	95,1	4,9
Ensembl	C	T	CC	CT
	96,3	3,7	92,5	7,5
Diferencia	C	T	CC	CT
	1,2	1,2	2,6	2,6

Tabla 50: tabla resumen del estudio comparativo de CYP3A4 en la población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).

CYP3A4		TABLA RESUMEN DE LA PRUEBA DEL CHI-CUADRADO			
		Alelos		Genotipos	
		A	G	AA	AG
		*1B (rs2740574)			
Población EG	Valor Chi-Cuadrado	0,011		0,01	
Ensembl					
	p	0,31		0,31	
*22 (rs35599367)		C	T	CC	CT
Población EG	Valor Chi-Cuadrado	0,018		0,004	
Ensembl					
	p	0,67		0,85	

5.3.1.3. ABCB1:

5.3.1.3.1. C3435T (rs1045642):

La *Tabla 51* refleja que la diferencia para la FA está por debajo de lo observado en población IBS; sin embargo, estas diferencias no resultan estadísticamente significativas. La proporción de genotipos CC, CT y TT es similar a la referida en población IBS, ver más adelante en *Tabla 54*.

Tabla 51: comparación de La frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs1045642) frente a La de La base de datos en población ibérica.

ABCB1 (rs1045642)					
	Frecuencia alélica (%)		Frecuencia genotípica (%)		
Estudio	C	T	CC	CT	TT
	54,1	45,9	27,9	52,5	19,7
Ensembl	C	T	CC	CT	TT
	53,7	46,3	29,9	47,7	22,4
Diferencia	C	T	CC	CT	TT
	0,4	0,4	2	4,8	2,7

5.3.1.3.2. G2677T/A (rs2032582):

En la *Tabla 52* la FA es del 1,1%, para el alelo G y del 37,6% para el alelo T correspondiendo una prevalencia más elevada para la población del estudio, aunque la diferencia no ha resultado estadísticamente significativa. En cuanto al genotipo, la diferencia es del 2,7% para GG, 48,8% para GT y 1% para TT. La diferencia para el genotipo GT ha resultado estadísticamente significativa en la población de estudio ($p=0,000$), ver más adelante en *Tabla 54*.

Tabla 52: comparación de La frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs2032582) frente a La de La base de datos en población ibérica.

ABCB1 (rs2032582)					
	Frecuencia alélica (%)		Frecuencia genotípica (%)		
Estudio	G	T	GG	GT	TT
	61,5	35,2	36,1	50,8	9,8
Ensembl	G	T	GG	GT	TT
	61,2	36,4	34,6	49,5	11,2
Diferencia	G	T	GG	GT	TT
	0,3	1,2	1,5	1,3	1,4

5.3.1.3.3. C1236T (rs1128503):

La *Tabla 53* muestra que la diferencia para la FA es del 8% pero sin presentar diferencias significativas. En cuanto al genotipo, la diferencia es del 11,2% para CC, 6,2% para CT y 4,9% para TT. Estos datos no se alejan del rango observado en la población IBS y no resultan estadísticamente significativos, ver más adelante en *Tabla 54*.

Tabla 53: comparación de la frecuencia alélica de ABCB1 SNP (rs1128503) frente a la de la base de datos en población ibérica.

ABCB1 (rs1128503)					
	Frecuencia alélica (%)		Frecuencia genotípica (%)		
	C	T	CC	CT	TT
Estudio	54,1	45,9	26,2	55,7	18
Ensembl	62,1	37,9	37,4	49,5	13,1
Diferencia	8	8	11,2	6,2	4,9

Tabla 54: tabla resumen del estudio comparativo de ABCB1 en la población Gaucher del estudio y población ibérica (IBS).

ABCB1		TABLA RESUMEN DE LA PRUEBA DEL CHI-CUADRADO				
		Alelos		Genotipos		
		C	T	CC	CT	TT
		rs1045642				
Población EG	Valor Chi-Cuadrado	0,011	0,008	0,036	0,018	
Ensembl						
	p	0,28	0,78	0,55	0,67	
rs2032582		G	T	GG	GT	TT
Población EG	Valor Chi-Cuadrado	0,018	0,012	0,54	0,004	
Ensembl						
	p	0,67	0,73	0,000	0,84	
rs1128503		C	T	CC	CT	TT
Población EG	Valor Chi-Cuadrado	0,02	0,02	0,06	0,075	
Ensembl						
	p	0,15	0,14	0,44	0,39	

5.3.2. Distribución de los genotipos de *GBA* y *CHIT1*:

La distribución del genotipo del *GBA* en los 61 pacientes del estudio se muestra en la *Tabla 55* y *Figura 7*. Para facilitar el posterior análisis de la relación con la distribución del genotipo de los citocromos, se han reagrupado conforme a los genotipos más frecuentes en los pacientes con EG (N370S+Otras variantes, N370S+L444P, N370S y R496H homocigotos y S13L+G202R), *Tabla 56* y *Figura 8*.

Tabla 55: distribución del genotipo del GBA.

	N	%
N370S+L444P	23	37,7
N370S+N370S	7	11,5
N370S+R257X	3	4,9
N370S+c.84InsG	3	4,9
N370S+RecNcil	3	4,9
N370S+G195W	2	3,3
R496H+R496H	2	3,3
N370S+R163X	2	3,3
N370S+W(-4)X	1	1,6
N370S+W36X	1	1,6
N370S+L336P	1	1,6
N370S+Y313H	1	1,6
N370S+T134P	1	1,6
N370S+c.1214delGC	1	1,6
N370S+N188S	1	1,6
N370S+G113E	1	1,6
N376S+G202R	1	1,6
N370S+R47X	1	1,6
N370S+c.1207InsA	1	1,6
S13L+G202R	1	1,6
N370S+Y412H	1	1,6
N370S+84GG	1	1,6
N370S+P319L	1	1,6
N370S+V398I	1	1,6
Total	61	100

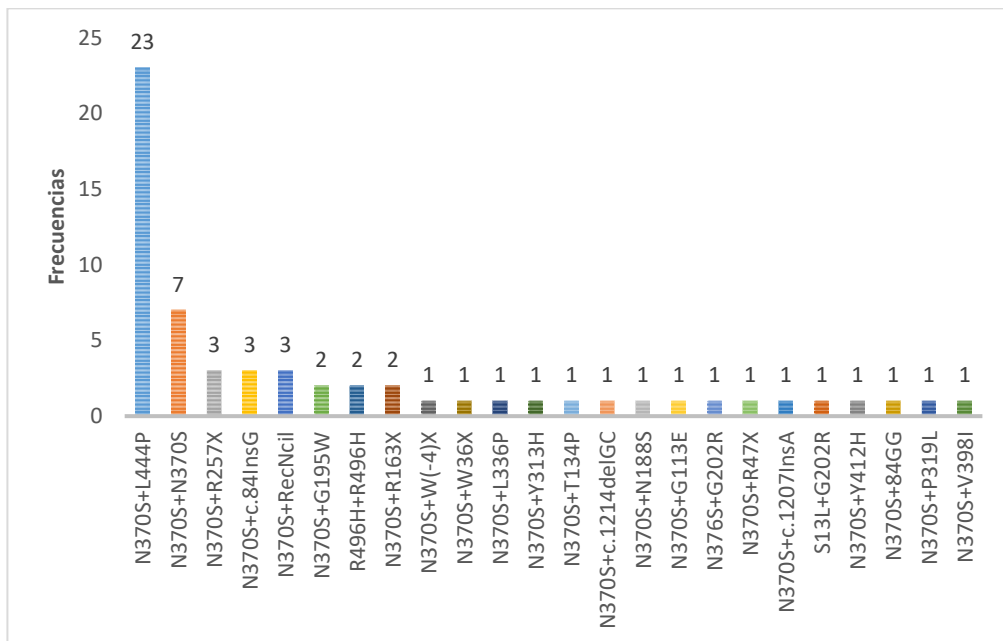


Figura 7: figura de Las frecuencias del genotipo de La GBA.

Tabla 56: agrupación del genotipo del GBA.

Genotipo	N	%
N370S+Otros	28	45,9
N370S+L444P	23	37,7
N370S+N370S	7	11,5
R496H+R496H	2	3,3
S13L+G202R	1	1,6
Total	61	100

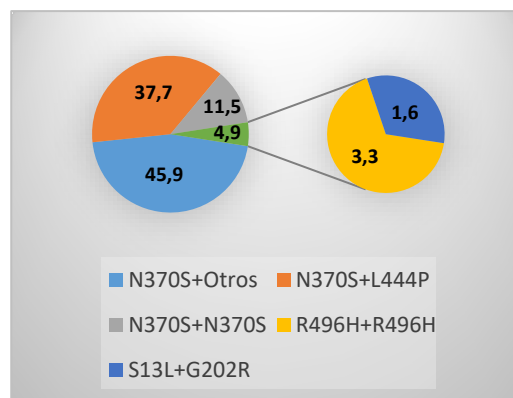


Figura 8: porcentajes genotipo GBA.

El genotipo más frecuente del gen de la GBA en población española es el heterocigoto para N370S con otras variantes, siendo la variante L444P la más predominante (37,7%), Tabla 56 y Figura 8.

El análisis del gen *CHIT1* realizado en todos los pacientes se muestra en la Tabla 57 y Figura 9; distribuyendo los pacientes en función de la presencia o no de la variante polimórfica que corresponde a la duplicación de 24pb en uno o los dos alelos.

Cuando esta duplicación está presente en homocigidad, los sujetos muestran ausencia total de la actividad para la QT.

Tabla 57: frecuencias genotipo *CHIT1*.

Genotipo <i>CHIT1</i>	N	%
Hetero	30	49,2
Normal	27	44,3
Homo	3	4,9
NA*	1	1,6
Total	61	100

*NA: sin información.

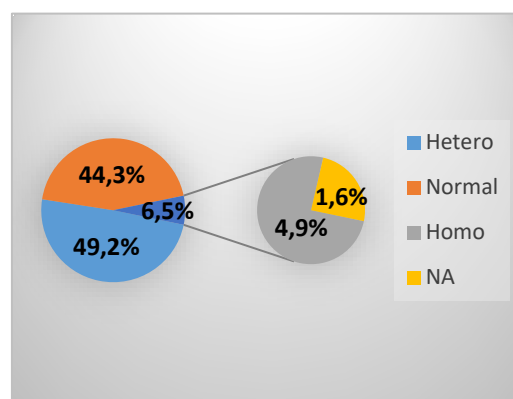


Figura 9: porcentaje de la frecuencia del genotipo del *CHIT1*.

5.3.2.1. Perfil metabolizador y genotipo de la GBA:

Para analizar la relación entre perfil del metabolizador y genotipo de la *GBA* hemos considerado 2 grupos de perfil del metabolizador, el más frecuente (rápido para *CYP2D6*, *CYP3A4*1B* y *22 y actividad normal para los tres SNP's del *ABCB1*) (33 casos) frente a los menos frecuentes (26 casos), *Tabla 58* y *Figura 10*.

Tabla 58: relación entre el perfil del metabolizador y el genotipo de La GBA.

Perfil del metabolizador- Genotipo GBA		N	%
Frecuente	N370S+Otros	16	48,5
	N370S+L444P	12	36,4
	N370S+N370S	2	6,1
	R496H+R496H	2	6,1
	S13L+G202R	1	3,0
	Total	33	100,0
Menos frecuente	N370S+L444P	11	42,3
	N370S+Otros	10	38,5
	N370S+N370S	5	19,2
	Total	26	100,0

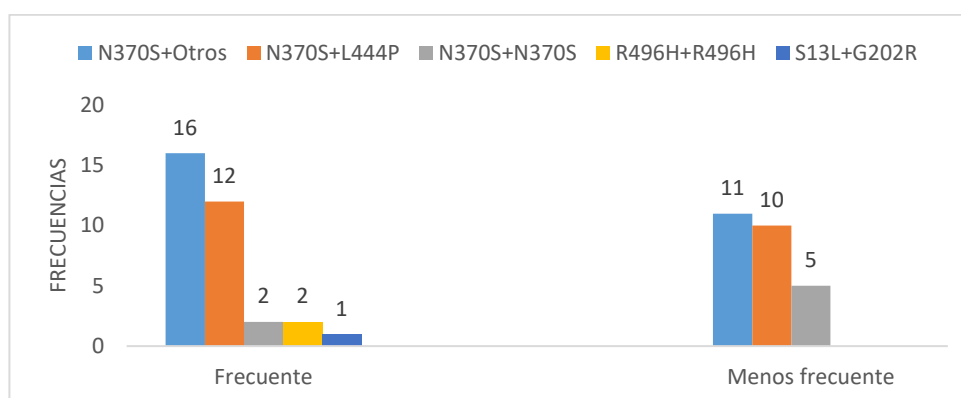


Figura 10: distribución de las frecuencias del genotipo de GBA en relación con el perfil metabolizador.

Como se puede observar en la *Figura 10*, la distribución de los genotipos de *GBA* es similar en ambos grupos de metabolizadores, predominando el genotipo heterocigoto para N370S, tanto para N370S+L444P como N370S+Otros sin encontrar diferencias significativas al comparar esta distribución, $p=0,1$.

5.3.3. Gen de la lactasa:

En 26 pacientes se ha determinado el polimorfismo C/T-13910. La distribución del polimorfismo C/T-13910 está asociada a la síntesis de lactasa, se refleja en la *Tabla 59*. El 50 % de los sujetos analizados muestran el perfil de no

persistencia de lactasa (CC) que está dentro del rango esperado para la población europea.

Tabla 59: distribución del polimorfismo C/T-13910.

Polimorfismo	N	%
CC	13	50,0
CT	9	34,6
TT	4	15,4
Total	26	100,0

5.4. BIOMARCADORES DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER:

Todos los pacientes tienen determinados los biomarcadores relacionados con la enfermedad en el momento del estudio, excepto el biomarcador LysoGb1 que se ha incorporado más recientemente y está disponible sólo en el 73,8% de los pacientes [45]. La distribución de QT, CCL18/PARC y LysoGb1 se detalla en la *Tabla 60* y *Figura 11*.

Tabla 60: distribución de Los biomarcadores plasmáticos en Los pacientes estudiados.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
QT (nmol/ml.h)	61	0	20130	1674,13	3031,96
CCL18/PARC (ng/ml)	59	33	2302	342,46	412,84
LysoGb1 (ng/ml)	45	0	130	16,60	28,88

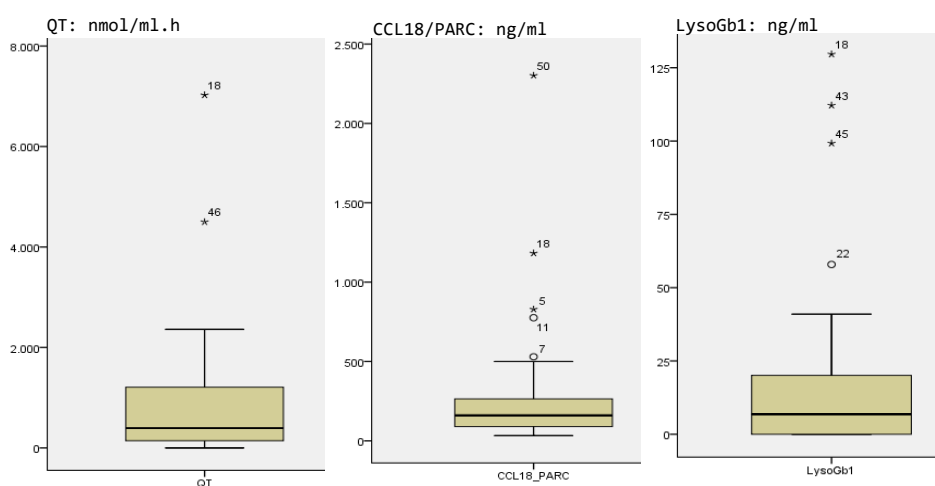


Figura 11: representación gráfica de la media y extremos de Los biomarcadores plasmáticos del grupo de pacientes.

5.4.1. Perfil metabolizador y biomarcadores:

La distribución de biomarcadores en relación con el perfil metabolizador queda detallada en la *Tabla 61*. La proporción de pacientes con perfil metabolizador frecuente y menos frecuente está equilibrada, al aplicar el análisis estadístico entre la concentración de cada biomarcador y el perfil metabolizador observamos un aumento significativo en la concentración de los biomarcadores QT ($p=0,006$) y LysoGb1 ($p=0,045$) en el grupo con perfil metabolizador menos frecuente, *Tabla 62*.

Tabla 61: distribución de la concentración de biomarcadores en relación con el perfil metabolizador.

Perfil metabolizador		N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
QT	Menos frecuente	26	2470,92	4342,56	851,65
	Frecuente	33	1124,52	1252,99	218,12
CCL18/PARC	Menos frecuente	24	352,04	410,38	83,77
	Frecuente	33	341,36	430,08	74,87
LysoGb1	Menos frecuente	20	22,05	37,43	8,37
	Frecuente	26	13,05	20,55	4,03

Tabla 62: prueba de Levene para los biomarcadores respecto al perfil metabolizador.

		Prueba de Levene de calidad de varianzas	
		F	Sig.
QT	Se asumen varianzas iguales	8,02	0,006
CCL18/PARC	Se asumen varianzas iguales	0,19	0,663
LysoGb1	Se asumen varianzas iguales	4,27	0,045

5.5. TIPOS DE TRATAMIENTO:

La distribución de los tratamientos específicos para la enfermedad en el grupo estudiado aparece reflejada en la *Tabla 63* y en la *Figura 12*:

Tabla 63: tipos de tratamiento.

Tipo	N	%
Eliglustat (TRS)	17	27,9
Imiglucerasa (TRE)	16	26,2
Velaglucerasa (TRE)	12	19,8
Miglustat (TRS)	7	11,5
NI*	9	14,6
Total	61	100,0

*NI: No iniciado el tratamiento.

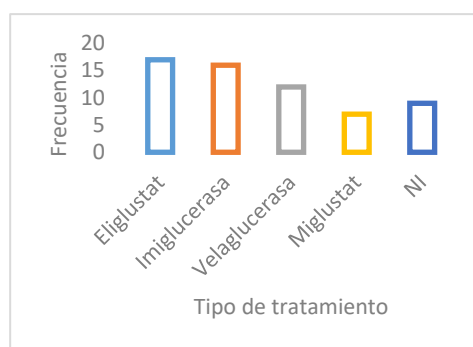


Figura 12: distribución de los pacientes según el tipo de tratamiento.

5.5.1. Respuesta al tratamiento:

La distribución de la respuesta al tratamiento se ha realizado siguiendo los criterios establecidos en el apartado 4.1.5 de material y métodos, clasificando a los pacientes en aquellos que alcanzaron objetivos terapéuticos y los que no los alcanzaron. Hay un subgrupo de 11 pacientes que no habían recibido nunca tratamiento (No iniciado) y por tanto no se incluyen en este apartado, *Tabla 64*.

Tabla 64: distribución de la respuesta al tratamiento.

Respuesta	N	%
Alcanza OT	32	61,5
No alcanza OT	20	38,5
Total	52	100

*OT: objetivos terapéuticos

El análisis de la respuesta al tratamiento, medicación concomitante y efectos adversos al tratamiento de la enfermedad en relación a los grupos de perfil metabolizadores se muestra a continuación.

5.5.2. Perfil metabolizador y respuesta al tratamiento:

Para facilitar el análisis comparativo de las diferentes variables, hemos distribuido a los pacientes en dos grupos, el grupo de metabolizador más frecuente [33], y agrupamos el resto en un solo grupo que denominamos menos frecuente [26].

La distribución del perfil metabolizador está reflejada en la *Tabla 65*. Para el análisis comparativo, no se han considerado aquellos casos que no habían iniciado tratamiento (9 casos). Como puede observarse en el grupo de perfil metabolizador frecuente los pacientes que alcanzan respuesta al tratamiento es cercano al 70%, frente a los de perfil metabolizador menos frecuente que es del 52,4%. Estas diferencias no fueron significativas en relación al perfil ($p=0,233$).

Tabla 65: distribución del perfil del metabolizador y respuesta al tratamiento.

Tipo de metabolizador- Respuesta al tratamiento		N	%
Frecuente	Alcanza OT	20	69,0
	No alcanza OT	9	31,0
	Total	29	100,0
Menos frecuente	Alcanza OT	11	52,4
	No alcanza OT	10	47,6
	Total	21	100,0

Consideramos, por su importancia, analizar el grupo de pacientes que reciben tratamiento con eliglustat, 17 de los 61 de estudio (27,8%), ya que este fármaco se metaboliza principalmente por la vía del *CYP2D6*. En la *Tabla 66*, se describen los pacientes clasificados por su fenotipo metabolizador, el perfil más frecuente es de metabolizador rápido para *CYP2D6*, rápido para *CYP3A4* con actividad normal del transportador *ABCB1* (58,9%).

Tabla 66: relación entre fenotipo de metabolizador y los pacientes en tratamiento con eliglustat [17 pacientes].

Fármaco/fenotipo	CYP2D6		CYP3A4			ABCB1			
				*1B	*22		rs1045642	rs2032582	rs1128503
Eliglustat	Rápido	13	Rápido	16	17	Actividad normal	14	15	13
	Intermedio	2	Intermedio	1	0	Actividad deficiente	3	2	4
	Lento	2							

En las tablas *Tabla 67 a* y *Tabla 67 b*, se recogen las características generales de los pacientes que están en tratamiento con eliglustat. Diez de ellos tienen perfil metabolizador frecuente (58,8%), de ellos 7 alcanzan OT, con escasa incidencia de efectos adversos (1 paciente presentaba trastornos gastrointestinales). Entre los 7 pacientes con perfil metabolizador menos frecuente, también se observa un porcentaje elevado de respuestas, 5, siendo el porcentaje similar entre ambos, lo que indica que el perfil metabolizador no está influyendo en la respuesta. En cuanto a efectos adversos, 2 pacientes de este grupo referían cefalea. Otro dato de interés, es la valoración del tratamiento concomitante, 10 de los pacientes en tratamiento con eliglustat tomaban 2 o más fármacos de forma regular, y en 9 de ellos alguno de los medicamentos interactúa con las vías del citocromo analizadas y/o del transportador *ABCB1* (marcadas en rojo). En la *Tabla 68*, se detallan las distintas interacciones.

Tabla 67 a: descripción de las características de los pacientes que están en tratamiento con eliglustat, y/o su perfil metabolizador.

nº registro	CYP2D6	CYP3A4		ABCB1			Efectos adversos	Medicación concomitante	Respuesta	Perfil metabolizador
		c.-392 G>A (1B) rs2740574	c.15389 T>C (22) rs35599367	c.3435 T>C rs1045642	c.2677 T>A/G rs2032582	c.1236 T>C rs1128503				
1	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad deficiente	No	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Menos frecuente
4	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	Alcanza OT	Frecuente
5	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	Alcanza OT	Frecuente
6	Intermedio	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	Paracetamol, Naproxeno	Alcanza OT	Menos frecuente
14	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	Temblor, diarreas, epigastralgia	Ibuprofeno, Paracetamol, Citalopram, Estrógenos	No alcanza OT	Frecuente
16	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	No alcanza OT	Frecuente
19	Lento	Rápido	Rápido	Actividad deficiente	Actividad deficiente	Actividad normal	Cefalea y pérdida de estabilidad	Paracetamol, Ibuprofeno	Alcanza OT	Menos frecuente
27	Intermedio	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	Cefalea	Paracetamol, Fentanilo	Alcanza OT	Menos frecuente
29	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	Alcanza OT	Frecuente
39	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	Vitamina D, Ibuprofeno, Paracetamol, Trankimazín	Alcanza OT	Frecuente
41	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	Dasatinib, Paracetamol	Alcanza OT	Frecuente

Tabla 67 b: descripción de Las características de Los pacientes que están en tratamiento con eliglustat, y/o su perfil metabolizador.

nº registro	CYP2D6	CYP3A4		ABCB1			Efectos adversos	Medicación concomitante	Respuesta	Perfil metabolizador
		c. -392 G>A (1B) rs2740574	c.15389 T>C (22) rs35599367	c.3435 T>C rs1045642	c.2677 T>A/G rs2032582	c.1236 T>C rs1128503				
43	Lento	Intermedio	Rápido	Actividad deficiente	Actividad normal	Actividad deficiente	No	Ibuprofeno, Dexketoprofeno, Paracetamol	Alcanza OT	Menos frecuente
51	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	Alcanza OT	Frecuente
52	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	No	Alcanza OT	Frecuente
53	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad deficiente	Actividad deficiente	Actividad deficiente	No	Symbicort forte , Vitamina D, Ácido tranexámico, Omeprazol, Ácido Fólico Ranitidina, Vitamina B12, Prednisona	No alcanza OT	Menos frecuente
54	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad normal	No	Bifosfonatos, Vitamina D	No alcanza OT	Frecuente
62	Rápido	Rápido	Rápido	Actividad normal	Actividad normal	Actividad deficiente	No	No	Alcanza OT	Menos frecuente

Tabla 68: medicación concomitante de los pacientes de estudio y vía metabólica.

Fármacos	Vía metabólica		
	CYP2D6	CYP3A4	ABCB1
Alprazolam	-	P	-
Amitriptilina	S	-	I
Amlodipino	-	S	-
Benzodiazepina	S	-	-
Bisoprolol	S	S	-
Budesonida/formoterol	-	S	-
Citalopram	-	S	-
Dasatinib	-	S/I	-
Dexketoprofeno	I	S	-
Diazepam	-	S	-
Ebastina	-	S	-
Esteroides	-	P	P
Fentanilo	-	S	-
Litio	-	I	-
Losartán	-	-	S
Levodopa	s	s	-
Mirtazapina	S	S	-
Paracetamol	-	S	-
Prednisona	-	S	-
Propranolol	S	S	-
Ranitidina	I	-	-
Rosuvastatina	-	S	-
Sitagliptina	-	S	-
Trazodona	-	I	-
Vitamina B12	-	-	I

I: inhibe, S: sustrato, P: potenciador, s: sustrato débil

A modo de resumen, en la Tabla 69, se detalla el tipo de perfil metabolizador, la respuesta al tratamiento y la presencia de efectos adversos; como se puede apreciar, más del 70 % de los pacientes [12] en tratamiento con eliglustat alcanzan objetivos terapéuticos. El análisis estadístico comparativo entre las variables, perfil metabolizador, y efectos adversos, no muestra significación ($p=0,77$) aunque esta información está limitada por el escaso tamaño de la muestra.

Tabla 69: incidencia de efectos adversos en pacientes en tratamiento con eliglustat en relación con el perfil metabolizador y el grado de respuesta al tratamiento.

Efectos adversos	Respuesta al tratamiento	Perfil metabolizador		Total
		Frecuente	Menos frecuente	
No	Alcanza OT	7	3	10
	No alcanza OT	2	2	4
	Total	9	5	14
Sí	Alcanza OT	0	2	2
	No alcanza OT	1	0	1
	Total	1	2	3

5.5.3. Perfil metabolizador y medicación concomitante:

Para analizar de forma detallada la influencia que la medicación concomitante y el perfil metabolizador pudieran tener sobre el resultado terapéutico y los efectos adversos, hemos analizado de forma pormenorizada los fármacos que consumían habitualmente los pacientes tal y como se muestra en la *Tabla 70*, en la que se recogen los principios activos de forma individualizada.

Tabla 70: distribución del perfil metabolizador y medicación concomitante.

Perfil metabolizador					
Frecuente			Menos frecuente		
Medicación concomitante	N	%	Medicación concomitante	N	%
No	16	48,5	No	11	42,3
Dexketoprofeno, Paracetamol	2	6,1	Dexketoprofeno, Paracetamol	3	11,5
Levodopa e inhibidores de la MAO	2	6,1	Paracetamol, Ibuprofeno	2	7,7
Citalopram, Paracetamol	1	3,0	Paracetamol, Levotiroxina de Na, Indapamida	1	3,8
Ibuprofeno, Paracetamol, Citalopram, Estrógenos	1	3,0	Paracetamol, Naproxeno	1	3,8
Ibuprofeno	1	3,0	Eprotarsán, Litio	1	3,8
Salbutamol sulfato, Quimioterapia local, Ibuprofeno	1	3,0	Ibuprofeno, Amitriptilina	1	3,8
Vitamina D, Ibuprofeno, Paracetamol, Alprazolam	1	3,0	Paracetamol, Fentanilo	1	3,8
Dasatinib, Paracetamol	1	3,0	Vitamina D	1	3,8
Metformina	1	3,0	Metamizol, Ibuprofeno	1	3,8
Levotiroxina de Na, Metformina, Sitagliptina, Losartán, Bisopropol, Rosubastatina	1	3,0	Ibuprofeno, Dexketoprofeno, Paracetamol, Bifosfonatos	1	3,8
Valsartán, Vitamina D, Amlodipino, Paracetamol, Estrógenos	1	3,0	Budesonida/formoterol, Vitamina D, Ácido tranaxémico, Omeprazol, Vitamina B12, Prednisona, Ácido fólico, Ranitidina	1	3,8
Ebastina, Diazepam, Salbutamol sulfato	1	3,0	Propanolol, Benzodiazepina, Mirtazapina, Trazodona, Lorazepam	1	3,8
Bifosfonatos, Vitamina D	1	3,0	Total	26	100,0
Bifosfonatos, Paracetamol, Dexketoprofeno	1	3,0			
Ibuprofeno, Paracetamol, Alprazolam	1	3,0			
Total	33	100,0			

En segundo lugar, hemos clasificado a los pacientes en función del número de medicamentos que toman diariamente, *Tabla 71*, distribuyendo a los pacientes en tres grupos, aquellos que no toman, los que toman de 1-3, y los polimedicados, toman 4 o más fármacos, *Tabla 72*.

Tabla 71: distribución de Los pacientes en relación al número de fármacos concomitantes.

Perfil metabolizador	Nº de fármacos	N	%
Frecuente	0	16	48,5
	1	2	6,1
	2	7	21,2
	3	4	12,1
	≥4	4	12,1
	Total	33	100,0
Menos frecuente	0	11	42,3
	1	1	3,8
	2	10	38,5
	3	1	3,8
	≥4	1	11,4
	Total	26	100,0

Como podemos observar en la *Tabla 71*, más del 20% de los pacientes tomaban tratamientos concomitantes, mayoritariamente recibían 2 o más fármacos, habiendo una distribución mayor en el grupo de metabolizador menos frecuente.

En la *Tabla 72* se refleja la distribución de los pacientes en relación con el número de fármacos que toman, además del tratamiento específico de su enfermedad, y lo correlacionamos con el fenotipo de metabolizador y la respuesta al tratamiento de su enfermedad. En el grupo de pacientes que no recibe ningún fármaco adicional, el porcentaje de respuestas es del 18,2% frente al 54,5% de los pacientes que tienen tratamiento concomitante. Estas diferencias tienen significado estadístico ($p=0,001$).

Tabla 72: distribución de Los grupos de pacientes en relación al alcance de La respuesta al tratamiento en función de La medicación concomitante.

Nº de fármacos	Respuesta al tratamiento		Perfil metabolizador		Total
			Frecuente	Menos frecuente	
0	Alcanza OT	N %	12 57,1%	5 23,8%	17 81,0%
	No alcanza OT	N %	2 9,5%	2 9,5%	4 19,0%
1-3	Alcanza OT	N %	5 23,8%	3 14,3%	8 38,1%
	No alcanza OT	N %	6 28,6%	7 33,3%	13 61,9%
Polimedicados	Alcanza OT	N %	2 33,3%	2 33,3%	4 66,7%
	No alcanza OT	N %	1 16,7%	1 16,7%	2 33,3%

En la *Tabla 73*, se resume la relación entre los pacientes que toman algún tipo de fármaco con la aparición de efectos adversos. Como puede observarse en el grupo de pacientes que no toman ninguna medicación, la incidencia de efectos adversos es del 3,3% frente a los que toman medicación, donde la incidencia de efectos adversos es del 14,8%. La diferencia entre ambos grupos resultó estadísticamente significativa ($p=0,003$).

Tabla 73: distribución de Los pacientes en relación con La medicación concomitante y La presencia de efectos adversos.

Efectos Adversos		Medicación concomitante		Total
		Sí	No	
Sí	N	9	2	11
	%	14,8%	3,3%	18,0%
No	N	24	26	50
	%	39,3%	42,6%	82,0%
Total	N	33	28	61
	%	54,1%	45,9%	100,0%

5.5.4. Perfil metabolizador y efectos adversos:

Considerando el total de la serie y la distribución del perfil metabolizador en relación con la aparición de efectos adversos está reflejada en la *Tabla 74*. Hay que destacar que, en el perfil metabolizador frecuente, solamente el 17,6% de los pacientes referían efectos adversos en general de grado leve o moderado. En el grupo con perfil metabolizador menos frecuente, el 23,1% presentaron efectos adversos de grado leve o moderado. Cabe destacar el caso de un paciente que estaba en tratamiento con eliglustat y al que se le tuvo que suspender temporalmente el tratamiento por presentar un episodio de gastroenteritis, paciente 14. Las diferencias entre ambos grupos de metabolizador y aparición de efectos adversos resultaron significativas ($p=0,002$).

Tabla 74: distribución del perfil del metabolizador y efectos adversos.

Perfil del metabolizador- efectos adversos		N	%
Frecuente	No	28	82,4
	Gastroenteritis	3	8,8
	Temblor, epigastralgia	1	2,9
	Fiebre	1	2,9
	Neuropatía periférica	1	2,9
	Total	34	100,0
	Menos frecuente	No	20
Fiebre		2	7,7
Reacción alérgica: angioedema		2	7,7
Gastroenteritis		1	3,8
Cefalea y pérdida de estabilidad		1	3,8
Total		26	100,0

5.6. ANÁLISIS DE OTROS FACTORES AMBIENTALES:

5.6.1. Dieta:

Teniendo en cuenta que algunos alimentos también utilizan la vía metabólica del citocromo, realizamos una encuesta para conocer los hábitos alimentarios de los pacientes incluidos en el estudio descritos en la *Tabla 75* y *Figura 13*.

Tabla 75: tipos de dieta.

Tipo de dieta	N	%
Normal (variada, mediterránea)	36	59,0
Libre de naranja amarga, pomelo y granada	17*	26,3
Pobre en HC	9	14,7
Total	61	100,0

*2 pacientes seguían dieta vegetariana o vegana.

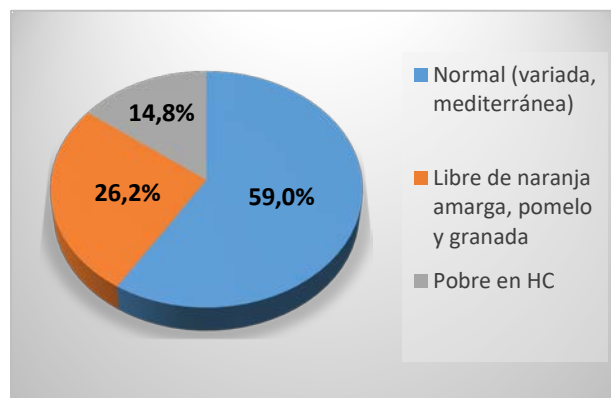


Figura 13: distribución de los tipos de dieta.

5.6.1.1. Perfil metabolizador y dieta:

La distribución del perfil metabolizador en relación con la dieta está reflejada en la *Tabla 76*. La distribución de los pacientes en relación con su dieta es similar en ambos perfiles de metabolizador.

Siguiendo las recomendaciones establecidas para los tratamientos que utilizan las vías del *CYP2D6* y *CYP3A4*, así como *ABCB1* a los pacientes se les aconsejaba excluir de su dieta alimentos como el pomelo, naranja amarga, granada, carambola y otros complementos dietéticos botánicos como la hierba de San Juan. Por tanto, los pacientes en tratamiento con eliglustat no consumían estos productos. El análisis de la respuesta al tratamiento en relación con la dieta ha mostrado diferencias significativas en la respuesta al tratamiento de los pacientes que siguen esta dieta, presenta significación estadística ($p=0,002$). No se han detectado diferencias significativas entre los sujetos que siguen una dieta normal o pobre en HC ($p=0,130$).

Tabla 76: distribución del perfil del metabolizador y La dieta.

Perfil del metabolizador-Dieta		N	%
Frecuente	Normal	15	51,7
	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	11	37,9
	Pobre en HC	3	10,3
	Total	29	100
Menos frecuente	Normal	10	47,6
	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	7	33,3
	Pobre en HC	4	19
	Total	21	100

5.6.2. Comorbilidades asociadas:

En las tablas *Tabla 77 a* y *Tabla 77 b* y en la *Figura 14* se detallan las frecuencias de comorbilidades asociadas en la serie de pacientes analizados. El 31,1% de los pacientes no presentaba ningún tipo de enfermedad asociada a la EG. El porcentaje más elevado se corresponde con patologías que afectan al sistema musculoesquelético (prótesis articular, discopatías, osteopenia y fracturas) seguido de colelitiasis-colecistectomía, complicaciones que son más frecuentes entre los pacientes con EG, seguido de infecciones de repetición, HTA y cáncer.

Tabla 77 a: distribución de las comorbilidades en la serie de pacientes.

Comorbilidades	N	%
Ninguna	19	31,1
Prótesis articular	10	16,4
Discopatía	9	14,7
Colecistectomía	9	14,7
Infecciones de repetición	7	11,5
HTA	6	9,8
Osteopenia	5	8,2
Cáncer	5	8,2
Diabetes	4	6,5
Depresión	3	4,9
Fractura	3	4,9
Alergia	3	4,9
Cirrosis hepática	3	4,9
Epistaxis	2	3,3
Intolerancia a lactosa	2	3,3
Quiste de ovario	2	3,3
Neuropatía periférica	2	3,3
Déficit de factores coagulación	2	3,3
Hipotiroidismo	2	3,3
Fibroadenoma mama	1	1,6
Siringomielia	1	1,6
Colesteatoma	1	1,6
Migrañas	1	1,6

Tabla 77 b: distribución de Las comorbilidades en La serie de pacientes.

Comorbilidades	N	%
Déficit de B12	1	1,6
Pubertad precoz	1	1,6
Enfermedad de Parkinson	1	1,6
Glaucoma	1	1,6
LMC*	1	1,6
Herida abdominal por asta de toro	1	1,6
Insuficiencia renal	1	1,6
Alcoholismo	1	1,6
Dislipemia	1	1,6
Tiroiditis linfocitaria	1	1,6
Sacroileitis	1	1,6

*LMC: leucemia mieloide crónica.

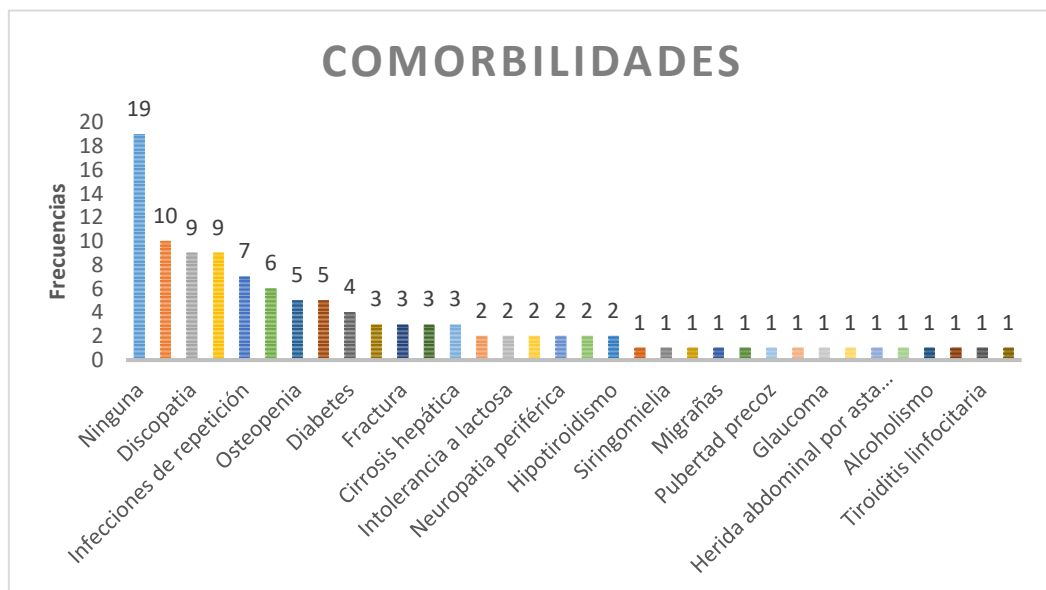


Figura 14: distribución de Las frecuencias de Las comorbilidades de Los pacientes de estudio.

En la Tabla 79, se recoge la distribución de las comorbilidades según el perfil metabolizador. En ella podemos observar que hay comorbilidades similares en ambos grupos y con porcentaje similar siendo la colelitiasis/colecectomía, la HTA, el cáncer, las infecciones y las enfermedades óseas las más frecuentes en ambos grupos.

Tabla 78: distribución de Las comorbilidades según el perfil metabolizador.

Perfil del metabolizador							
Frecuente				Menos frecuente			
Comorbilidades		N	%	Comorbilidades		N	%
No		11	17,7	No		6	14,0
Colelitiasis/colecistectomía		6	9,7	Colelitiasis/colecistectomía		5	11,6
HTA		4	6,5	HTA		3	7,0
Diabetes		2	3,2	Infecciones		3	7,0
Infecciones		3	4,8	Cáncer		3	7,0
Cáncer		4	6,5	Enfermedad ósea:	fractura	1	2,3
Alergias		3	4,8		prótesis	4	9,3
Enfermedad ósea:	fractura	1	1,6		osteopenia	3	7,0
	prótesis	4	6,5		discopatía	5	11,6
	osteopenia	2	3,2	Otros		10	23,3
	discopatía	1	1,6	Total		43	100,0
Hepatopatías		4	6,5				
EP		2	3,2				
Otros		15	24,2				
Total		62	100,0				

5.7. CORRELACIÓN MÚLTIPLE:

Para conocer el peso de cada una de las variables incluídas en el análisis sobre la respuesta al tratamiento se ha realizado un análisis de regresión múltiple bivariada para predecir el comportamiento de las siguientes variables: edad, sexo, citocromos, transportador, tratamiento, biomarcadores, respuesta al tratamiento, medicación concomitante y efectos adversos. También se ha realizado una correlación parcial en relación con la respuesta al tratamiento. El grado de correlación entre las variables se ha clasificado: entre 0-0,25 no existe correlación; 0,25-0,5 correlación débil, coloreado en rosa; 0,5-0,75, correlación moderada, coloreada en amarillo y >0,75, correlación fuerte, coloreada en verde, tablas: *Tabla 80* y *Tabla 81*.

Tabla 79: coeficientes de correlación de Pearson entre Las variables del estudio (test de Pearson).

	Sexo	Edad	CYP2D6	CYP3A4*1B	CYP3A4*22	ABCB1 (1045642)	ABCB1 (2032582)	ABCB1 (1128503)	Tratamiento	QT	CCL18/PARC	LysoGb1	Respuesta al tratamiento	Medicación concomitante	Efectos adversos
Sexo		,075	-,183	-,027	,209	-,062	,036	,135	,075	-,015	-0,3	-0,402	,110	,115	,004
Edad			-,098	,129	,075	,218	0,26	,241	0,255	0,267	0,328	-,060	0,285	0,299	,117
CYP2D6				-,129	-,089	,178	,209	,185	-,192	-0,354	-0,273	-,078	-,128	,110	,129
CYP3A4*1B					-,075	,040	,056	-,126	,106	,046	,099	,256	,095	,005	0,275
CYP3A4*22						,027	-,023	,143	,177	,060	-,048	,039	,222	,004	,091
ABCB1 (1045642)							0,755	0,493	-,011	-,082	-,020	-,112	-,062	,081	,056
ABCB1 (2032582)								0,546	,010	-,210	-,204	-,141	,001	,180	,205
ABCB1 (1128503)									,057	,021	-,189	-,130	,004	,194	-,200
Tratamiento										0,395	,095	,094	0,526	-,096	,013
QT											0,607	0,695	0,397	-,064	-,124
CCL18/PARC												0,324	,208	-,130	-,085
LysoGb1													,027	-,222	-,042
Respuesta al tratamiento														,103	,009
Medicación concomitante															,176
Efectos adversos															

En la *Tabla 80*, aplicando la correlación de Pearson se observa que existe una correlación moderada entre los tres biomarcadores y la respuesta al tratamiento. La correlación es débil entre la edad, respuesta al tratamiento y medicación concomitante, así como con los biomarcadores QT y CCL18/PARC y con la actividad del SNP 2 (rs2032582) del transportador. También existe correlación débil entre *CYP3A4*1B* y efectos adversos y también con el biomarcador LysoGb1. Entre los diferentes biomarcadores se observa una correlación débil entre CCL18/PARC y LysoGb1.

La correlación observada entre la actividad de los SNP's rs2032582 y rs1128503 del transportador *ABCB1* es moderada y fuerte para los SNP's rs1045642 y rs2032582 lo que se justifica porque se heredan en asociación.

Tabla 80: tabla de correlación parcial en relación con la respuesta al tratamiento.

		Sexo	Edad	CYP2D6	CYP3A4*1B	CYP3A4*22	ABCB1 (rs1045642)	ABCB1 (rs2032582)	ABCB1 (rs1128503)	Tratamiento	QT	CCL18/PARC	LysoGb1	Medicación concomitante	Efectos adversos	
Respuesta al tratamiento	Sexo		,045	-,139	-,042	,189	-,055	,037	,171	-,009	-,076	-,333	-,331	,133	,002	
	Edad			-,052	,099	,007	,253	,240	,245	,250	,266	,280	-,111	,282	,108	
	CYP2D6				-,113	-,055	,172	,211	,153	-,136	-,327	-,282	-,044	,109	,143	
	CYP3A4*1B					-,102	,047	,056	-,119	,072	,004	,094	,250	-,005	,272	
	CYP3A4*22						,043	-,024	,159	,074	-,036	-,133	-,033	-,018	,088	
	ABCB1 (rs1045642)							,757	,498	,025	-,061	-,014	-,098	,088	,059	
	ABCB1 (rs2032582)								,546	,011	-,229	-,216	-,100	,181	,205	
	ABCB1 (rs1128503)									,070	,039	-,202	-,149	,190	-,191	
	Tratamiento											,254	-,015	,001	-,159	,020
	QT												,593	,549	-,113	-,146
	CCL18/PARC													,295	-,127	-,076
	LysoGb1														-,201	-,004
	Medicación concomitante															,175
Efectos adversos																

Cuando hemos aplicado el estudio bivariante para analizar la respuesta al tratamiento los resultados han sido similares, *Tabla 81*.

5.8. HAPLOTIPO TTT DEL GEN *ABCB1*:

En relación al genotipo TTT para el haplotipo del *ABCB1*, cabe destacar la presencia de cuatro pacientes con el mismo. Sólo uno de ellos estaba en tratamiento con eliglustat, *Tabla 82*. Dada la repercusión de este genotipo en el transporte del fármaco es importante analizar de manera individualizada la situación de este paciente.

El paciente 53, está en tratamiento con eliglustat. Sin embargo, en él no se ha obtenido una respuesta objetiva, persistiendo esplenomegalia, trombocitopenia y anemia a pesar de tener un genotipo de *GBA*, en homocigosis para N370S, que habitualmente produce una enfermedad de grado leve.

Tabla 81: características generales de los pacientes con haplotipo TTT del gen ABCB1.

nº registro	CYP2D6	Tipo	CYP3A4		Sexo	Edad	Genotipo GBA	Esplenectomía	Otras enfermedades	Tratamiento	Tiempo en años	Efectos adversos	Medicación concomitante	Respuesta
			c.-392 G>A (1B) rs2740574	c.15389 T>C (22) rs35599367										
21	*1*2	MR	AA	CC	M	65	N370S/N370S	No	HTA	Miglustat	21	No	No	Alcanza OT
24	*4*41	MI	AA	CC	M	58	N370S/G195W	Sí	Hepatitis C y hepatopatía crónica, síndrome del túnel carpiano, osteopenia	Imiglucerasa	20	Fiebre	No	No alcanza OT
53	*1*17	MR	AA	CC	V	56	N370S/N370S	No	Tuberculosis, alcoholismo, epistaxis	Eliglustat	3	No	Symbicort forte, Vitamina D, Ácido tranexámico, Omeprazol, Vitamina B12, Ácido Fólico, Ranitidina, Prednisona	No alcanza OT
60	*1*4	MR	AA	CC	M	68	N370S/N370S	No	Prótesis de rodilla, depresión	Velaglucerasa	19	No	Propranolol, Benzodiazepina, Mirtazapina, Trazodona, Lorazepam	Alcanza OT

6. DISCUSIÓN

Las enfermedades de depósito lisosomal son un grupo de más de 60 entidades de origen hereditario por variantes en los genes que regulan el metabolismo de los glucoesfingolípidos. Entre ellas, una de la más frecuente es la enfermedad de Gaucher causada por una deficiencia en la actividad de la enzima glucocerebrosidasa ácida, (32-56). Es la enfermedad de depósito lisosomal sobre la que más se ha investigado, la que ha servido de modelo para otras del grupo de las esfingolipidosis, la que dispone de mejores biomarcadores y de mayores opciones terapéuticas, (129-135), (151,152), (154-156), (159,547).

En la actualidad hay disponibles distintos tratamientos: 3 enzimas sustitutivas y 2 inhibidores de sustrato de administración oral. La última incorporación ha sido el inhibidor de sustrato eliglustat, autorizado por la Agencia Europea del Medicamento para su comercialización en enero de 2015, (191). Es una pequeña molécula análoga a la ceramida y que se metaboliza por la vía del citocromo P450 (225), mayoritariamente por *CYP2D6* y en menor medida por *CYP3A4*. Para su prescripción es indispensable conocer, antes de indicarlo, el perfil metabolizador del *CYP2D6* en cada paciente. Esto pretende mejorar los resultados terapéuticos con la menor toxicidad, tal y como se indica en la ficha técnica del fármaco. No está recomendado para pacientes con fenotipo ultrarrápido y se debe ajustar la dosis en aquellos con fenotipo metabolizador lento para el *CYP2D6*, con el objetivo de analizar de forma concreta las características individuales que permitan o ayuden a aplicar una medicina personalizada de precisión a estos pacientes, (191).

Ninguno de estos tipos de tratamiento es curativo, aunque resultan muy útiles para controlar los síntomas de la enfermedad y prevenir complicaciones. Otras opciones de tratamiento utilizadas o en desarrollo con objetivo curativo son las terapias con células progenitoras como el TCH, que es un tratamiento que ofrece el potencial de una cura permanente. Sin embargo, no hay ensayos clínicos que hayan evaluado la seguridad y eficacia de este tratamiento en comparación con otros tratamientos más conservadores, como los referidos anteriormente, de uso hoy en día, (245). El TCH es un procedimiento de alto riesgo con posibles complicaciones de morbi-mortalidad que limitan su aplicación y que requiere, además, disponer de donante histocompatible. Los estudios que recopilan la experiencia del TCH en enfermedad de Gaucher son antiguos, siendo la primera vez que se realizó en 1984 por Rapoport et al, con una elevada tasa de mortalidad debido a las complicaciones de la intervención, pero mostraban una regresión en la enfermedad, (547). Desde entonces muchos pacientes se han sometido a este tipo de trasplante con más seguridad,

(548,549,550,551,552,553,554). Los recientes avances tecnológicos en los procedimientos de trasplante de células progenitoras han permitido ampliar las fuentes de obtención de células madre y se han reducido los riesgos asociados al procedimiento. Por lo tanto, se deben reevaluar los riesgos y beneficios del TCH en comparación con las opciones más conservadoras, aunque no curativas, como la terapia de reemplazo enzimático y la terapia de reducción de sustrato para tratar a las personas con enfermedad de Gaucher. Otra opción con objetivo curativo es la terapia génica que actualmente está en desarrollo en ensayos clínicos fase 3, (555).

Otro aspecto a tener en cuenta en enfermedades de baja frecuencia como ocurre en la enfermedad de Gaucher, es su amplia variabilidad clínica y la dificultad para obtener datos agregados. Es de especial interés, disponer de técnicas sencillas que permitan identificar de forma global las características individuales de los pacientes para definir aspectos tales como el perfil metabolizador que permite ajustar de forma personalizada tratamientos y combinaciones seguras y eficaces, (556). En este sentido, técnicas de secuenciación masiva de nueva generación (*next generation sequencing*) se están introduciendo con gran rapidez en el entorno clínico para salvar esta dificultad. Sin embargo, estamos actualmente lejos de facilitar esta herramienta al global de la población.

Es un hecho que el envejecimiento poblacional y la mayor incidencia de enfermedades de curso crónico en sujetos mayores de 65 años, condicionan un mayor consumo de fármacos en este grupo etario. Este mayor consumo de fármacos y complementos dietéticos botánicos, propicia y crea incertidumbre en relación a las posibles interferencias que puedan disminuir la eficacia o incrementar la resistencia a los tratamientos. Todo esto pone en presente la ventaja de disponer una información individual del perfil metabolizador de la vía más frecuente (citocromo P450) utilizada por fármacos, alimentos y otros complementos dietéticos para contribuir de forma activa a la práctica de medicina personalizada y de precisión. Además, permitiría un ajuste en los costes sanitarios.

Es recomendable la aplicación de la farmacogenética a pacientes con enfermedades crónicas que requieren terapias prolongadas y siendo más efectivo en pacientes con un único tratamiento. El uso de la farmacogenética en pacientes polimedcados resulta más complejo debido a la existencia de la interacción entre fármacos que puede complicar su interpretación. Es importante y deseable conocer el perfil molecular individual como parte de las pruebas rutinarias de

laboratorio, para tener más información que permita adaptar las terapias y seleccionar los medicamentos y dosis en cada paciente. De hecho, ya existen algunas iniciativas que ofrecen el estudio del perfil farmacogenético individualizado para que esta información facilite a los profesionales de la medicina, la prescripción de fármacos más adecuada a las características del paciente, (556,557). Los datos se determinan en función de los resultados de un sencillo test genético, obtenido a partir de sangre o epitelio bucal del individuo. A través de esta prueba se analizan los genes implicados en el metabolismo de los fármacos y se elabora una lista de indicaciones y recomendaciones con respecto a los fármacos más aconsejables para cada paciente, (556,557).

La discusión de los resultados obtenidos en este estudio se va a realizar de forma ordenada de acuerdo a los objetivos planteados:

6.1. Objetivo I: analizar el genotipo de *CYP2D6*, *CYP3A4* y *ABCB1* en una cohorte de pacientes diagnosticados de enfermedad de Gaucher para establecer el perfil metabolizador.

La mayoría de los fármacos se metabolizan a través del complejo de la vía del citocromo P450 constituido por 18 familias. Esta vía también es utilizada por los alimentos de la dieta y los complementos dietéticos. Las vías más comunes son las del *CYP2D6*, (558) que utilizan el 25% de los fármacos, *CYP3A4*, que la utilizan más del 50%, (559) y los transportadores *ABCB1*, (292).

Aunque este hecho es bien conocido habitualmente no se tiene en cuenta en las prescripciones en general, lo cual condiciona eficacia y posibles interferencias entre fármacos, así como efectos adversos. Salvo en tratamientos muy concretos, como es el caso de los inhibidores de tirosinkinasa, (560), en algunas enfermedades hematológicas en las que se recomiendan restricciones alimentarias y consultar siempre las interferencias con nuevas prescripciones. En el campo de las enfermedades lisosomales, eliglustat, es el primer fármaco que, para su prescripción, se precisa conocer el fenotipo metabolizador del *CYP2D6*, y es fundamental considerarlo para la asociación de otras terapias, (191).

En este estudio hemos evaluado el perfil individual del genotipo de los factores que intervienen de forma predominante en las vías del citocromo en una cohorte de 61 pacientes afectados de enfermedad de Gaucher. Estos padecen una enfermedad crónica que precisa un tratamiento de por vida, y no están libres de padecer

enfermedades concomitantes frecuentes como diabetes, hipertensión, estados de ansiedad, depresión, además de complicaciones osteomusculares que habitualmente padecen. En esta cohorte 17 pacientes estaban tratados con el inhibidor de sustrato eliglustat, siendo su dosis dependiente del perfil metabolizador del *CYP2D6* y del ajuste de los tratamientos concomitantes que puedan ir precisando, (191).

El fenotipo metabolizador más frecuente encontrado en esta cohorte de pacientes es el de rápido para las dos isoformas del citocromo, *CYP2D6* y *CYP3A4*1B* y *22 y de actividad normal para los tres SNP's del gen *ABCB1*. Estas características no aparecen correlacionadas con, el sexo ni con las variantes en el gen de la *GBA* de los pacientes, pero sí existe correlación entre la edad, los 3 SNP's de *ABCB1* y la aparición de efectos adversos.

En relación a las frecuencias de los genotipos de las isoformas obtenidas en este estudio: apartado 5.3.1, tablas *Tabla 46*, *Tabla 47*, *Tabla 48* y *Tabla 49*, así como las del gen *ABCB1*: *Tabla 51*, *Tabla 52* y *Tabla 53*, donde se refleja la comparación de nuestros resultados con los referidos en las poblaciones ibérica y europea. Las referencias son: para *CYP3A4*1B* (545), *CYP3A4*22* (546) y para *ABCB1* (452,453,454).

CYP2D6: la información de los valores de la población europea se ha obtenido del protocolo xTAG® *CYP2D6* kit v3 (2016), los valores de la población ibérica (base de datos) proviene de Naranjo ME et al. (561), y los valores de la cohorte de estudio se han obtenido en el procedimiento experimental. Tanto las frecuencias de los genotipos como las frecuencias alélicas de este gen para la población europea, (316,561), demuestra mayor prevalencia en los alelos *1 y *4 en la cohorte de estudio frente a la población europea, lo que coincide con el estudio realizado por López de Frutos et al. (530), en 109 pacientes españoles con enfermedad de Gaucher tipo 1 publicado recientemente. La comparación con los datos publicados en la población ibérica también revela incrementos significativos en los alelos *1, *2, y *4, lo cual tiene especial interés puesto que el alelo *4 induce una actividad nula, excepto cuando está asociado con los alelos *9, *10, *17, *29 y *41 que confieren actividad intermedia o con el alelo *35 que le confiere metabolismo rápido, lo que ocurría en 7 de los pacientes estudiados (11,5%). En este estudio, 3 pacientes presentaban perfil metabolizador lento con la combinación de alelos *3*4 [paciente 19], *4*5 [paciente 26] y *4*4 [paciente 43] respectivamente. Dos de estos pacientes, [paciente 19] y [paciente 43], están tratados con eliglustat, mientras que el otro paciente, [paciente 26] está en tratamiento con

imiglucerasa. El paciente 19 recibe la dosis de 84 mg/12h, que es la dosis recomendada en la ficha técnica para este tipo de metabolizador, y el paciente 43 recibe dosis de 84 mg/48h y recibe esta dosis por presentar efectos adversos al tratamiento. El paciente 19, es metabolizador normal del *CYP3A4*, pero deficiente para los SNPs rs1045642 y rs2032582 del gen *ABCB1*. Sólo hay un paciente con fenotipo ultrarrápido (*9*41) [paciente 13] y, por tanto, no está indicado el tratamiento con eliglustat.

*CYP3A4*1B* (rs2740574): este citocromo es de especial importancia ya que más del 50% de los fármacos que se utilizan habitualmente en clínica, se metabolizan por esta vía, (351). En este estudio más del 90% de los sujetos analizados tienen un fenotipo metabolizador rápido para este gen. La prevalencia de este genotipo es similar en población ibérica y europea (545). Existen controversias sobre el efecto que ejerce el alelo promotor *CYP3A4*1B* sobre la expresión de la proteína. Posiblemente existan polimorfismos reguladores comunes para *CYP3A4*, (359).

*CYP3A4*22* (rs35599367): estudios recientes han identificado un polimorfismo regulador relativamente común designado como *CYP3A4*22* con efectos robustos en la expresión hepática de *CYP3A4*, (359). La frecuencia del genotipo de metabolizador rápido es superior al 97% en los pacientes del estudio, porcentaje que resulta similar al referido en las poblaciones ibérica y europea, (546).

ABCB1: en cuanto al genotipado de los transportadores de los SNP's de *ABCB1* (rs1045642, rs2032582 y rs1128503) observamos que existe correlación entre ellos, lo que indicaría que se heredan de forma conjunta constituyendo un haplotipo y que la frecuencia encontrada en nuestra cohorte en los tres SNPs es similar a la de las poblaciones ibérica y europea (452,453,454).

El haplotipo más frecuente encontrado en nuestro estudio ha sido el GCC (72,9%), este haplotipo también se ha considerado como el más frecuente en diversas poblaciones africanas, chinas, indoeuropeas y caucásicas (294) y puede afectar a la disponibilidad de diversas drogas de uso clínico.

6.2. Objetivo II: Determinar el grado de respuesta al tratamiento en función del perfil metabolizador y la variación en los biomarcadores de seguimiento.

Los perfiles metabolizador frecuente y menos frecuente en nuestra cohorte se han analizado con respecto a las variables: edad y género, genotipos de la *GBA*

y *CHIT1*, gen de la lactasa, biomarcadores, tipo de tratamiento, distribución de los genotipos de citocromos analizados, dieta, comorbilidades y medicación concomitante para conocer la influencia de cada uno de ellos en la respuesta al tratamiento y la correlación entre ellos. Por último, se ha analizado por separado a los pacientes que recibían eliglustat para el tratamiento de la enfermedad.

El perfil metabolizador no guarda relación con la edad, género ni con los genotipos de la *GBA* y *CHIT1*, tampoco con los biomarcadores, el tipo de tratamiento y la persistencia de tolerancia a la lactosa.

En el análisis global de la respuesta objetiva a los diferentes tratamientos en toda la serie, hemos observado un porcentaje superior de respuestas objetivas en el grupo de perfil metabolizador frecuente (69% vs 52,4%), diferencia que resultó estadísticamente significativa ($p=0,001$), *Tabla 65*. Estos datos confirman que el tener un genotipo metabolizador normal para los genes estudiados, es compatible con la obtención de respuestas objetivas al tratamiento.

Por el contrario, si consideramos únicamente el subgrupo de pacientes en tratamiento con eliglustat [17], en los cuales el fenotipo del *CYP2D6* es mandatorio para establecer la indicación y la posología del fármaco (según la ficha técnica) al clasificarlos según el perfil metabolizador, observamos que 10 de ellos tienen el perfil metabolizador que es más frecuente (10 vs 7), *Tabla 66*. Sin embargo, el porcentaje de respuestas objetivas obtenidas es similar en ambos tipos (70% vs 71,4%), lo que indica que el perfil metabolizador no está influyendo en la respuesta. En cuanto a la influencia del perfil metabolizador sobre los efectos adversos, 2 pacientes del grupo de metabolizador menos frecuente, referían cefalea como efecto adverso [paciente 19, metabolizador lento para *CYP2D6*, rápido para *CYP3A4* y deficiente para los SNPs rs1045642 y 2032582 del gen *ABCB1*] y [paciente 27, metabolizador intermedio para *CYP2D6*, rápido para *CYP3A4* y normal para los 3 SNPs del gen *ABCB1*]. Este efecto adverso puede considerarse como de escasa relevancia. La cefalea aparece como efecto adverso al iniciar los tratamientos con eliglustat, en el que hay una clara relación causa-efecto. Este efecto adverso aparece recogido tanto en los ensayos clínicos como en la práctica clínica habitual, (562). Estos pacientes precisaban tomar analgésicos como paracetamol y fentanilo, los cuales se metabolizan por la vía del *CYP3A4*. Por lo tanto, estos fármacos podrían interferir en la actividad de la *CYP3A4* en caso de metabolizar el eliglustat.

Tanto los alimentos como los suplementos dietéticos pueden interferir con la vía del citocromo pudiendo activarlo, inhibirlo o no ejercer ningún efecto. En nuestro estudio hemos encontrado relación significativa ($p=0,022$) entre respuesta al tratamiento y dieta libre de alimentos que utilizan la vía del citocromo. Esto se justifica porque en las recomendaciones dietéticas que se realizan a los pacientes en tratamiento con eliglustat se les indica que eliminen de la dieta productos como el pomelo o la granada, alimentos conocidos por utilizar la vía del *CYP2D6*, (563).

En esta serie se constata que más del 54,5% de los pacientes tomaban otros tratamientos además del específico de su enfermedad, este porcentaje es algo superior al registrado en la población española en general (42% de los mayores de 18 años toman medicamentos con mucha o moderada frecuencia), según la encuesta realizada por el *Win World Survey* (WWS) en 2019, (564). Se conoce también que los mayores de 65 años son los sujetos más polimedicados, toman más de 5 medicamentos diferentes diarios, y en nuestro estudio, los pacientes polimedicados tienen una edad media más baja, 50,4 años con extremos de 40 y 62 años.

Analizando los 5 pacientes [14, 39, 45, 49 y 53] que recibían 4 ó más fármacos diarios además del tratamiento específico de su enfermedad, llama la atención que 4 son mujeres [14, 39, 45 y 49] con un fenotipo metabolizador rápido para *CYP2D6* y *CYP3A4* y con actividad normal para el transportador *ABCB1*; la paciente 49 estaba previamente esplenectomizada y padece una insuficiencia renal de grado leve-moderado por consumo excesivo de analgésicos. El otro paciente, [53], se explica a continuación del siguiente párrafo y con más detalle en el apartado 6.4 de esta discusión.

El genotipo del *GBA*, es homocigoto para N370S [paciente 14], homocigoto para R496H [paciente 45], heterocigoto N370S/L444P [paciente 39] y heterocigoto N370S/W36X [paciente 49]. El paciente 53, varón, tiene un fenotipo metabolizador rápido para *CYP2D6* y *CYP3A4* y haplotipo TTT para *ABCB1*. Es homocigoto N370S para el genotipo del *GBA*, no está esplenectomizado y no responde ni al tratamiento enzimático ni al de reducción de sustrato. Este paciente se comenta también en el último apartado junto con los restantes pacientes de haplotipo TTT.

Considerando los biomarcadores de la enfermedad (actividad quitotriosidasa, CCL18/PARC y glucosilesfingosina) y el perfil metabolizador, se ha encontrado relación significativa para la actividad quitotriosidasa ($p=0,006$) y para la

concentración de glucoesfingosina ($p=0,045$). El hecho de no existir ningún trabajo similar, no permite comparar estos resultados con ninguna otra referencia bibliográfica.

El estudio de correlación, muestra una correlación débil entre la edad, la actividad del transportador en sus tres SNP's, la concentración del biomarcador CCL18/PARC y la medicación concomitante. También se observa correlación débil entre *CYP3A4*1B* y los biomarcadores quitotriosidasa y glucosilesfingosina. Entre los diferentes biomarcadores se observa una correlación débil entre quitotriosidasa y CCL18/PARC y entre CCL18/PARC y la respuesta al tratamiento ya que cuando el paciente alcanza los objetivos terapéuticos se produce un descenso de la concentración del biomarcador.

La correlación observada entre la actividad de los SNP's rs2032582 y rs1128503 del transportador *ABCB1* es moderada y fuerte para los SNP's rs1045642 y rs2032582 lo que se justifica porque se heredan en asociación como un haplotipo; la correlación entre los biomarcadores quitotriosidasa y glucosilesfingosina también es moderada ya que ambos están relacionados con la intensidad de la enfermedad.

De este estudio del perfil metabolizador, se puede deducir que un paciente con fenotipo metabolizador rápido para *CYP2D6* necesitará mayor dosis del fármaco que aquellos que tengan un metabolismo intermedio o lento. Lo mismo sucede para el *CYP3A4*1B* y *CYP3A4*22*. En cuanto a *ABCB1*, un paciente que tenga una actividad normal del transportador, genotipo *wild type* para para los tres SNP's, tendrá menos efectos adversos que aquella que la presente para dos, uno o ningún SNP. En el estudio de correlación múltiple se aprecia una correlación de grado leve entre *CYP3A4*1B* y la presencia de efectos adversos.

El análisis de la influencia de las comorbilidades en función del perfil metabolizador y la respuesta al tratamiento no evidencia correlación entre estas variables.

Por último, en el análisis de las variables consideradas en el grupo de los pacientes en tratamiento con eliglustat y respuesta al tratamiento, se observa correlación de grado leve entre la respuesta al tratamiento y medicación concomitante. Lo que puede indicar que estos fármacos pueden interferir en el metabolismo del eliglustat.

6.3. Objetivo III: Evaluar relación entre el genotipo *CYP2D6*, *CYP3A4* y *ABCB1* y la aparición de efectos adversos al tratamiento.

Se puede observar en este estudio, que el perfil metabolizador más frecuente es rápido para los dos tipos de citocromo, *CYP2D6* y *CYP3A4*1B* y *22 y de actividad normal para los tres SNP's del gen *ABCB1*. Como ya hemos comentado en el objetivo anterior el porcentaje de pacientes que alcanzan respuesta objetiva en el grupo de perfil metabolizador frecuente es significativamente superior ($p=0,001$) frente al grupo de perfil metabolizador menos frecuente. Esto demuestra la importancia que podría tener el conocer el perfil metabolizador, como un dato clínico más, que permita entender o justificar un posible fallo terapéutico del tratamiento.

El porcentaje de los pacientes con efectos adversos en el grupo de metabolizador frecuente (17,6%), es inferior al del grupo de metabolizador menos frecuente (23,1%), diferencia que resulta estadísticamente significativa ($p=0,002$), aunque todos los efectos adversos fueron de grado leve o moderado. Un paciente en tratamiento con eliglustat tuvo que detener temporalmente el tratamiento por presentar un episodio grave de efectos adversos, [paciente 14]. Las características de esta paciente son metabolizador rápido para *CYP2D6* y *CYP3A4* y con actividad normal para el transportador *ABCB1*. Esta paciente presenta dolor óseo crónico y episodios ansioso-depresivos por lo que tomaba además regularmente paracetamol, citalopram, ibuprofeno y estrógenos. Los dos primeros son sustratos del *CYP3A4* y los estrógenos son potenciadores del mismo. Al ser todos estos fármacos metabolizados por esta vía, al igual que eliglustat, podrían interferir en el metabolismo del mismo justificando así la aparición de estos efectos adversos que desaparecieron al suprimir el fármaco. El ibuprofeno no interfiere con la vía del *CYP3A4* ya que se metaboliza por otras isoformas de la familia P450 (*CYP2C8* y *CYP2C9*).

También para la medicación concomitante, aquellos pacientes que en su vida diaria tienen que tomar otros fármacos presentan una incidencia mayor de efectos adversos, 14,8%, frente al 42,6 % de los pacientes que no precisan medicación concomitante, diferencia con significación estadística ($p=0,003$). Esto puede deberse a que el tomar más de un tratamiento aumenta la posibilidad de aparición de efectos adversos, ya sea por un fármaco en sí o por la interacción entre ellos. Si profundizamos en las características clínicas de estos pacientes podemos precisar que los 2 pacientes que no toman medicación concomitante se corresponden con los pacientes 24 y 48. El paciente 24, es una mujer de 58 años que experimenta fiebre en cada infusión de enzima. El paciente 48, es varón de

63 años que experimenta episodios de gastroenteritis como efecto adverso tras la infusión de la enzima. Entre los pacientes que experimentan efectos adversos y reciben medicación concomitante la mayoría de los efectos adversos están relacionados con el tratamiento de su enfermedad de Gaucher [paciente 2: angioedema provocado por la infusión de enzima; pacientes 7 y 14: presentaban trastornos gastrointestinales relacionados con la infusión de enzima y el paciente 11 con el tratamiento con miglustat; pacientes 19 y 27: aquejaban cefalea pero ambos estaban en tratamiento con eliglustat; pacientes 28 y 58: experimentaban fiebre con la infusión de enzima y por último el paciente 42 padecía de diabetes y neoplasia renal y presentaba neuropatía periférica]. Estos efectos adversos no se potenciaron, sin embargo, con la medicación adicional que recibían por otras causas.

El análisis de los efectos adversos de eliglustat está basado en cuatro ensayos clínicos completos que incluyeron 393 pacientes con enfermedad de Gaucher tipo 1, lo que representa 1400 pacientes-año de exposición a eliglustat con una duración media del tratamiento de 3,6 años (máximo: 9,3 años), (562). Se describen en este análisis 14 eventos adversos en relación con el tratamiento con eliglustat en al menos el 2% de los pacientes: dispepsia (5,9%), dolor de cabeza (5,3%), dolor epigástrico (5,1%), mareos (5,1%), diarrea (4,6%), náuseas (4,6%), artralgia (3,6%), estreñimiento (3,3%), dolor abdominal (2,8%), reflujo gastroesofágico (2,8%), fatiga (2,8%), palpitaciones (2,8%), distensión abdominal (2,5%) y gastritis (2,3%). En general, el 72% de estos eventos relacionados con el tratamiento se evaluaron como leves, 24% moderados y 4% graves. En nuestro estudio solamente dos pacientes referían cefalea y ningún paciente presentó efectos adversos cardiacos, ni episodios graves.

Por otra parte, el estudio de correlación múltiple muestra una correlación fuerte entre la edad y los efectos adversos, lo que puede justificarse en que los pacientes con mayor edad son los que tienen más comorbilidades y mayor número de tratamientos concomitantes.

Las interacciones alimento-gen pueden ser un reto terapéutico. El pomelo y otros zumos de frutas han sido identificados por alterar la eliminación de los medicamentos. Por un lado, puede producirse una biodisponibilidad reducida oral de los fármacos hidrofílicos, que requieren transporte por absorción intestinal mediante la inhibición de la acción de ciertos polipéptidos transportadores de aniones orgánicos, (565,566). Por otro lado, la biodisponibilidad oral aumentada de los medicamentos puede pasar con los fármacos lipofílicos que normalmente experimentan un metabolismo intestinal sustancial a través de la

inhibición del *CYP3A4*. Las interferencias entre dieta y complementos dietéticos botánicos han sido analizadas, con el fin de obtener una mayor eficacia con la menor toxicidad posible.

En este estudio hemos encontrado diferencias significativas en relación a la respuesta al tratamiento, ni en la aparición de efectos adversos en aquellos sujetos que siguen una dieta mediterránea o pobre en hidratos de carbono. Por el contrario, los pacientes en tratamiento con eliglustat que excluyen de su dieta, obligadamente, alimentos que siguen la vía del citocromo, al analizar la respuesta se obtiene significación estadística ($p=0,0022$), por lo tanto, esto justifica a los pacientes el no tomar este tipo de alimentos. Hay muchos otros factores que están influyendo en las interacciones con los alimentos como la epigenética y otros genes modificadores, las cuales están fuera del alcance de este estudio, (455). Con el tiempo sería interesante valorar su estudio y análisis.

6.4. Objetivo IV: Analizar si la relación genotipo-fenotipo del perfil del citocromo y del transportador en los pacientes con EG en tratamiento con el inhibidor de sustrato eliglustat podría ayudar a aplicar una medicina personalizada de precisión.

En este ambicioso objetivo, la idea es intentar establecer un modelo predictivo analizando los pacientes con fenotipo particular metabolizador, para considerar en ellos de manera personalizada cuál puede ser su aproximación terapéutica más idónea.

La paciente 13 tiene un fenotipo de *CYP2D6* [*9*41], por tanto, metabolizador ultrarrápido, su *CYP3A4* (AA para el alelo *1 y CC para el alelo *22), es de fenotipo metabolizador rápido, y presenta actividad normal para el transportador *ABCB1* (haplotipo CGC). Se trata de una mujer de 83 años de edad, diagnosticada a los 46 años de enfermedad de Gaucher tipo 1 (genotipo N370S+c.1214delGC) por hemorragias persistentes, esplenomegalia y trombocitopenia. Esplenectomizada a los 57 años de edad (antes de la comercialización del tratamiento de reemplazo enzimático) y no ha recibido nunca otro tratamiento específico para su enfermedad. Presenta comorbilidades como HTA, hepatitis C, hipoacusia por colesteatoma y depresión. Como tratamientos concomitantes toma Eprosartan y Litio, este último es inhibidor del *CYP3A4*. Según su genotipo el tratamiento idóneo para esta paciente sería

el de reemplazo enzimático, nunca podría recibir eliglustat ya que nunca alcanzaría objetivos terapéuticos

Entre los pacientes con fenotipo de metabolizador lento del *CYP2D6*, se encuentran 3 pacientes [19 [*3*4], 26 [*4*5] y 43 [*4*4]]. En este apartado vamos a referirnos a los pacientes 19 y 43 que están actualmente en tratamiento oral con el inhibidor de sustrato eliglustat. El paciente 19, es un varón de 56 años de edad, diagnosticado a los 35 años de enfermedad de Gaucher tipo 1 (N370S+L444P), en el curso del estudio hematológico realizado por esplenomegalia de origen desconocido. Inició inmediatamente, tratamiento de reemplazo enzimático que ha mantenido durante 19 años, hasta mayo de 2018 que se modifica al tratamiento con eliglustat. Por ser metabolizador lento la dosis indicada inicialmente fue de 84 mg/24 h. De forma inmediata comienza a referir efectos adversos como cefalea gravativa, aturdimiento, alucinaciones y pérdidas de estabilidad, lo que obligó a interrumpir el tratamiento. Asimismo, se queja de sequedad de piel y mucosas, lo que le origina descamación cutánea y estreñimiento. Revisamos su perfil metabolizador de *CYP3A4* y se corresponde con fenotipo rápido (AA para el alelo *1 y CC para el alelo *22) y con actividad deficiente para los SNPs rs1045642 y 2032582 del gen *ABCB1*. Con esta información no éramos capaces de interpretar la influencia del fenotipo de metabolizador sobre la aparición de los efectos adversos tan limitantes para la actividad diaria. Optamos por aplicar el score definido por Gaedigk et al., (567), que analiza el peso de cada alelo en la funcionalidad de *CYP2D6*. En este caso y siguiendo este modelo, el score en este paciente es 0, es decir tiene dos alelos con actividad muy reducida por tanto se trata de un paciente que clasificamos como lento-plus. En consecuencia, se reintrodujo el fármaco a dosis de 84 mg/48h siendo la tolerancia normal, desapareciendo los efectos adversos. También podría influir la toma de analgésicos (Paracetamol) que es sustrato de *CYP3A4* y que precisa tomar a diario por su dolor lumbar secundario a discopatía. En relación con la respuesta al tratamiento se encuentra en respuesta objetiva estable.

El paciente 43 es un varón de 59 años de edad, diagnosticado a los 11 años, en un país con escasos recursos económicos, de enfermedad de Gaucher tipo 1 (N370S+c.1207InsA). Esplenectomizado a los 21 años, se traslada a vivir a España en 2008 y presenta enfermedad ósea avanzada (múltiple artropatía degenerativa en todas las grandes articulaciones de carácter secundario a múltiples fenómenos de osteonecrosis por su enfermedad). Inicia tratamiento de reemplazo enzimático en abril 2008 que se mantiene durante 4 años. A continuación, pasa a recibir tratamiento oral con eliglustat, por no haber

alcanzado objetivos terapéuticos en la enfermedad ósea, inicialmente dentro de un estudio clínico y desde 2015, en práctica clínica habitual recibiendo dosis de 84 mg/24h al ser metabolizador lento de *CYP2D6* [*4*4]. Su fenotipo de *CYP3A4* es lento (AG para el alelo *1 y CC para el alelo *22) y con actividad deficiente para los SNPs rs1045642 y rs1128503 del gen *ABCB1*. En este caso la tolerancia al tratamiento con eliglustat es buena, no presentando efectos adversos, a pesar de que el paciente precisa tomar a diario Dexketoprofeno y Paracetamol ambos sustratos de *CYP3A4* y el primero inhibidor de *CYP2D6*. En relación con la respuesta al tratamiento se encuentra en respuesta objetiva estable. En el caso del paciente 43, cuyo fenotipo es lento para *CYP2D6*, al recibir dosis reducida al 50% el genotipo de *CYP3A4* no influye en su eficacia y tolerancia. Probablemente existen otros factores que condicionan la tolerancia que se escapan de este estudio.

En relación a los pacientes con genotipo del *CYP3A4* asociado a una disminución de la actividad de esta enzima, los pacientes con genotipo AG para *CYP3A4*1B* [11, 18, 28, 40, 43] y los pacientes con genotipo CT para *CYP3A4*22* [2, 9, 20] tendrán disminuida su función.

La variante *CYP3A4*1B* tiene un impacto más débil que *CYP3A4*22*, que actualmente se considera más relevante ya que disminuye en un 50% la expresión de ARNm (351). En el caso de los pacientes tratados con eliglustat que tienen este genotipo, como esta vía es secundaria en el metabolismo del fármaco, al tener genotipo de *CYP2D6* normal no afectaría a la eficacia y tolerancia del fármaco.

En relación a la influencia del transportador *ABCB1*, analizamos los casos que en su perfil metabolizador carecen de actividad debido a que presentan el haplotipo TTT, el cual anula la funcionalidad de la proteína. Los pacientes con este haplotipo son [21, 24, 53 y 60], ver página 191.

El paciente 21 en tratamiento con miglustat no presenta efectos adversos y alcanza objetivos terapéuticos con el mismo. De momento no se considera ningún cambio en el tratamiento. El dato del haplotipo TTT tendría que tenerse en cuenta en caso de decidir un cambio en la terapia de este paciente.

El paciente 53, se trata de un varón de 56 años diagnosticado de enfermedad de Gaucher tipo 1 (N370S+N370S) con antecedente de TBC pulmonar multirresistente de 17 años de evolución. El diagnóstico se realiza por presentar anemia grave (Hb: 4,5 g/dL), sangrado nasal persistente e identificarse trombocitopenia

($14,0 \times 10^9/L$) con hepatoesplenomegalia y lesiones focales intra esplénicas, pero sin dilatación del árbol portal. Inicia tratamiento de reemplazo enzimático en mayo de 2015, sin obtener respuesta hematológica ni visceral. Tras dos años de tratamiento, en mayo 2017, pasa a tratamiento con eliglustat a dosis de 84 mg/12h con buena tolerancia y sin embargo no se ha obtenido una respuesta objetiva, persistiendo esplenomegalia, trombocitopenia y anemia. Se analiza que tiene un genotipo de *GBA* en homocigosis para N370S, que habitualmente produce una enfermedad de grado leve, para la que muchos pacientes con este genotipo de *GBA* no precisan tratamiento. El fenotipo de *CYP2D6* es de metabolizador normal (*1*17) pero con un score de 1,5 que corresponde a actividad algo más reducida, su fenotipo de *CYP3A4* es normal y presenta nula actividad del transportador. Entre los fármacos habituales toma Prednisona y Budesonida/formoterol que interactúan con la vía del *CYP3A4* y Ranitidina que es inhibidor de *CYP2D6*, este último se le ha retirado. Los esteroides son inductores de *CYP3A4*, y también son inductores de la glicoproteína-p, así que, aunque su genotipo sea TTT, en cierto modo quizá pueda contrarrestar el efecto, haciendo que se expulse menos fármaco y pasará más del mismo a la sangre, pudiendo esto estar relacionado con la aparición de efectos adversos, con lo que podría ser una de las causas a no alcanzar los objetivos terapéuticos y a la aparición de efectos adversos.

El paciente 24 es una mujer de 58 años, diagnosticada a los 14 años de enfermedad de Gaucher tipo 1 (N370S+G195W) por hemorragias y esplenomegalia. Esplenectomizada a los 23 años. En tratamiento de reemplazo enzimático durante 18 años no ha alcanzado respuesta objetiva presentando osteopenia y fracturas. Tiene un fenotipo intermedio para *CYP2D6* (*4*41) que se corresponde con un score de 0,5 que es una actividad reducida. El fenotipo de *CYP3A4* es normal. Podríamos especular si el paciente 24 se beneficiaría de un cambio de tratamiento a eliglustat ya que no ha alcanzado objetivos terapéuticos después de 20 años de tratamiento con reemplazo enzimático.

La paciente 60, es una mujer de 68 años diagnosticada a los 40 años de enfermedad de Gaucher tipo 1 (N370S+N370S) con antecedentes de síndrome ansioso depresivo en tratamiento desde los 30 años. Su principal sintomatología es secundaria a la afectación ósea ya que presentaba infiltración extensa de médula ósea y artropatía degenerativa en rodilla que ha requerido un recambio articular. En tratamiento de reemplazo enzimático durante 18 años, ha alcanzado objetivos terapéuticos y mantiene situación de estabilidad de la enfermedad de Gaucher; sin embargo, el cuadro ansioso-depresivo requiere tratamiento constante con

fármacos que interactúan con *CYP2D6* y *CYP3A4* (Diazepan, Mirtazapina, Lorazepan, Propranolol y Trazodona). En caso de plantearse modificación del tratamiento a eliglustat habría que tener en cuenta toda esta información junto con el genotipo metabolizador de este paciente.

Con los resultados observados una propuesta práctica sería la incorporación de una herramienta en la que se incluya la información farmacogenética de los citocromos y los transportadores para facilitar la realización de un test individual en cada paciente que vaya a tener tratamientos de forma crónica.

Ya se han realizado algunas aproximaciones en este sentido, integrando el perfil metabolizador del citocromo para aplicar a los diferentes fármacos (556,557). Este conocimiento individualizado resulta de gran importancia para una medicina de precisión para compartir información con todos los profesionales que tratan a un paciente determinado, con el fin de realizar una prescripción de fármacos adecuada. El perfil individual se puede establecer a partir de sangre periférica o del epitelio bucal con el fin de aplicar un test único para analizar los genes implicados en el metabolismo de los fármacos y elaborar una lista de los medicamentos más aconsejables en cada sujeto. No existen hasta el momento estudios farmacogenéticos del eliglustat, lo que hace que este estudio sea un inicio en este campo. Los resultados obtenidos, confirman la necesidad de realizar más estudios en este campo que permitan aplicar una medicina personalizada de precisión en el los pacientes con EG en tratamiento con eliglustat.

7.FORTALEZAS Y DEBILIDADES

Pueden considerarse como puntos fuertes de este estudio el haber analizado el perfil metabolizador individual tanto de las dos isoformas más importantes del citocromo P450 como del transportador P-gp y correlacionarlo con el historial clínico, lo que facilita apostar por la aplicación de una medicina más personalizada ajustando de manera más eficiente la dosis del fármaco. El otro punto fuerte sería el haber profundizado en el conocimiento de la dieta y consumo de complementos dietéticos botánicos, lo que nos ha permitido llegar a una aproximación de las interacciones que se producen entre el alimento y los fármacos y, como consecuencia, establecer las recomendaciones pertinentes para variar la dieta de forma que no interfiera con el correcto metabolismo del fármaco.

Como debilidades de este estudio sería el limitado número de casos que viene considerado por el hecho de tratarse de un estudio realizado en una enfermedad de baja frecuencia. Por otra parte, la diversidad de las manifestaciones clínicas y la incompleta correlación genotipo-fenotipo en el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher dificultan disponer de una muestra homogénea de pacientes. En este sentido los resultados no pueden generalizarse y por lo tanto imprime mayor importancia para la aplicación de una medicina personalizada de precisión.

En mi opinión, tendría interés el conocer la expresión de las proteínas involucradas en el metabolismo de eliglustat, lo que podría ser de ayuda para establecer interacciones más concretas. Por lo tanto, sería interesante tener en cuenta esta consideración para futuros estudios.

8. CONCLUSIONES

1. Las variantes genéticas de las isoformas de los citocromos analizados en los pacientes afectados por la enfermedad de Gaucher en este estudio, son similares globalmente a las referidas en la población general española y europea. Sin embargo, se detecta una mayor proporción de los alelos *1, *2 y *4 de *CYP2D6* y el genotipo GT del SNP (rs2032582) del transportador *ABCB1*.
2. El perfil metabolizador más frecuente en los pacientes estudiados es rápido para las dos isoformas de citocromo, *CYP2D6* y *CYP3A4*1B* y *22 y de actividad normal para los tres SNP's del gen *ABCB1*.
3. El perfil metabolizador no guarda relación con la edad y género ni con los genotipos de la *GBA* y *CHIT1*, ni con la variante de tolerancia a la lactosa. Tampoco con el tipo de tratamiento.
4. El análisis del grado de correlación entre las variables del estudio, detecta una correlación de grado débil (0,25-0,50) entre *CYP3A4*1B* con la concentración de glucosilesfingosina y con la aparición de efectos adversos.
5. El perfil metabolizador menos frecuente muestra una relación estadísticamente significativa con la concentración de los biomarcadores: actividad quitotriosidasa ($p=0,006$) y concentración de glucosilesfingosina ($p=0,045$)
6. El grupo de pacientes con perfil metabolizador frecuente (rápido para *CYP2D6* y *CYP3A4* y actividad normal para los tres SNPs de *ABCB1*), presenta un mayor porcentaje de respuestas objetivas, ($p=0,001$), independientemente del tipo de tratamiento y un porcentaje menor de efectos adversos 17,6% vs 23,1% ($p=0,002$).
7. El análisis multivariante muestra una relación significativa entre la edad y la medicación concomitante coincidiendo, especialmente, con los pacientes polimedicados. En relación con la dieta, no hemos encontrado influencia en la respuesta o en la aparición de efectos adversos.
8. Este estudio destaca la importancia del análisis del perfil del citocromo en pacientes afectados de la enfermedad de Gaucher para aplicar una terapia personalizada, ya que la variabilidad clínica y genotípica es muy amplia. Esta conclusión sería aplicable a otras enfermedades crónicas que precisen polimedicación.

9. Sería deseable el disponer de una herramienta compacta de fácil uso y económica que facilite la determinación conjunta de los genes de estudio como perfil individual para cada paciente, con el fin de ajustar los tratamientos y minimizar los efectos adversos.

9. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Vellodi A. Lysosomal storage disorders (review). *Br J Haematol.* 2005; 128: p. 413-431.
2. Devlin TM. *Bioquímica.* 4th ed. Barcelona: Reverté; 2004.
3. Dandana A, Ben Khelifa S, Chaded H, Miled A, Ferchichi S. Gaucher Disease: Clinical, Biological and Therapeutic Aspects. *Pathobiology.* 2016; 83: p. 13-23.
4. Rua Elorduy MJ. Enfermedades metabólicas lisosomales. Manifestaciones osteoarticulares. *Protoc diagn ter pediatr.* 2014; 1: p. 231-239.
5. Giese AK, Mascher H, Grittner U, Eichler S, Kramp G, Lukas J, et al. A novel, highly sensitive and specific biomarker for Niemann-Pick type C1 disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Jun 17; 10: p. 78.
6. Camarena C, Aldamiz-Echevarría LJ, Polo B, Miguel A, Romero B, García I, Cebolla JJ, Ros E. Actualización en deficiencia de lipasa ácida lisosomal: diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes. *Med clin.* 2017 Mayo; 148(9): p. 387-434.
7. Orphanet / INSERM US14. Orphanet Web Site. [Online].; 2020 [cited 2019 Mayo]. Available from: <https://www.orpha.net>.
8. Niemann A. Ein unbekanntes krankheitsbild. *Jahrb Kinderheilkd.* 1914; 79(1).
9. Pick L. Der Morbus Gaucher und die ihm ähnlichen Erkrankungen. *Erg.inn.Med.* 1926; 29: p. 519.
10. Crocker AC, Farber S. Niemann-Pick disease: a review of eighteen patients. *Medicine.* 1958; 37(1): p. 1.
11. University of Pennsylvania Web Site. [Online].; 2019 [cited 2019 Mayo]. Available from: <https://www.vet.upenn.edu>.
12. Vanier MT. Chapter 176 - Niemann-Pick diseases. In *Handbook of Clinical Neurology.*: Elsevier p. 1717-1721.
13. Zampieri S, Filocamo M, Pianta A, Lualdi S, Gort L, Coll MJ, et al. SMPD1 Mutation Update: Database and Comprehensive Analysis of Published and Novel Variants. *Hum Mutat.* 2015.
14. Pavlů-Pereira H, Asfaw B, Poupčtová H, Ledvinova J, Sikora J, Vanier M, et al. Acid sphingomyelinase deficiency. Phenotype variability with prevalence of intermediate phenotype in a series of twenty-five Czech and Slovak patients. A multi-approach study. *J Inherit Metab Dis.* 2005; 28(2): p. 203-227.
15. Ensembl Web Site. [Online].; 2000 [cited 2019 Mayo]. Available from: <http://www.ensembl.org/index.html>.

16. Bounford KM, Gissen P. Genetic and laboratory diagnostic approach in Niemann Pick disease type C. *J Neurol*. 2014; 261(2): p. 569-575.
17. Rauniyar N, Subramanian K, Lavallee-Adam M, Martinez-Bartolome S, Balch WE, Yates JR,3rd. Quantitative Proteomics of Human Fibroblasts with I1061T Mutation in Niemann-Pick C1 (NPC1) Protein Provides Insights into the Disease Pathogenesis. *Mol Cell Proteomics*. 2015 Jul; 14(7): p. 1734-1749.
18. Dvorakova L, Sikora J, Hrebicek M, Hulkova H, Bouckova M, Stolnaja L, et al. Subclinical course of adult visceral Niemann-Pick type C1 disease. A rare or underdiagnosed disorder? *J Inherit Metab Dis*. 2006; 29(4): p. 591.
19. NIH, EMBL-EBI, SIB, PIR. UniProt. [Online].; 2002 [cited 2019b May. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P04062#structure>.
20. Millat G, Chikh K, Naureckiene S, Sleat DE, Fensom AH, Higaki K, et al. Niemann-Pick disease type C: spectrum of HE1 mutations and genotype/phenotype correlations in the NPC2 group. *The American Journal of Human Genetics*. 2001; 69(5): p. 1013-1021.
21. Greer W, Riddell D, Murty S, Gillan T, Girouard G, Sparrow S, et al. Linkage disequilibrium mapping of the Nova Scotia variant of Niemann-Pick disease. *Clin Genet*. 1999; 55(4): p. 248-255.
22. Hsu TR, Niu DM. Fabry disease: Review and experience during newborn screening. *Trends Cardiovasc Med*. 2018 May; 28(4): p. 274-281.
23. Nance CS, Klein CJ, Banikazemi M, Dikman SH, Phelps RG, McArthur JC, Rodriguez M, Desnick RJ. Later-Onset Fabry Disease An Adult Variant Presenting With the Cramp-Fasciculation Syndrome. *Arch Neurol*. 2006 Mar; 63(3): p. 453-457.
24. Torra R, Ballarín J. La Enfermedad de Fabry. *Nefrol*. 2003; 23(1): p. 84-89.
25. Schiffmann R. Fabry disease. *Pharmacol Ther*. 2009; 122(1): p. 65-77.
26. Nakao S, Kodama C, Takenaka T, Tanaka A, Yasumoto Y, Yoshida A, Kanzaki T, Enriquez AL, Eng CM, Tanaka H, Tei C, Desnick RJ. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kidney Int*. 2003 Sep; 64(3): p. 801-807.
27. Wang RY, Lelis A, Mirocha J, Wilcox WR. Heterozygous Fabry women are not just carriers, but have a significant burden of disease and impaired quality of life. *Genet Med*. 2007 Jan; 9(1): p. 34-45.
28. Tuttolomondo A, Simonetta I, Miceli S, Pinto A, Licata G. Anderson-Fabry disease: a multiorgan disease. *Curr Pharm Des*. 2013; 19(33): p. 5974-5996.
29. Hospital general Universitario de Valencia Web site. [Online].; 2019 [cited 2019 May. Available from: <http://pacienterenal.general-valencia.san.gva.es>.

30. Genetic Services Project. Newbornscreening.info Web site. [Online].; 2004 [cited 2019 May. Available from: <http://www.newbornscreening.info>.
31. Duro G, Zizzo C, Cammarata G, Burlina A, Polo G et al. Mutations in the GLA Gene and LysoGb3: Is It Really Anderson-Fabry Disease? *Int J Mol Sci.* 2018 Dec; 19(12): p. 3726.
32. Alarcia R, Alfonso P, Andrade M, Andrés A, Ara JR et al. La afectación neurológica en la enfermedad de Gaucher Pilar G, Alicia C, Luis CJ, editors. Madrid: Arán Ediciones SL; 2016.
33. Gaucher PCE. De l'epithélioma primitif de la rate: hypertrophie idiopathique de la rate sans leucémie Paris; 1882.
34. Cox-Brinkman J, van Breemen MJ, van Maldegem BT, Bour L, Donker WE, Hollak CE, Wijburg FA, Aerts JM. Potential efficacy of enzyme replacement and substrate reduction therapy in three siblings with Gaucher disease type III. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Dic; 31(6): p. 745-752.
35. Brill NE, Mandlebaum FS, Libman E. Primary splenomegaly-Gaucher type. Report on one of few cases occurring in a single generation of one family. *Am J Med Sci.* 1905; 129(491-503).
36. Marchand F. Über sogenannte idiopathische splenomegalie (typus Gaucher). *Münch Med Wochenschr.* 1907; 54: p. 1102.
37. Mandelbaum F and Downey H. The histopathology and biology of Gaucher's disease (large-cell splenomegaly). *Folia Haemat.* 1916; 20: p. 139-154.
38. Aghion E. La malade de Gaucher dans l'enfance. Thèse Paris: Faculté de Médecine; 1934.
39. Oberling C and Woringer P. La maladie de Gaucher chez la nourrisson. *Rev Franc de Pediat.* 1927; 3: p. 475-532.
40. Brady RO. Gaucher's disease: past, present and future. *Bailleres Clin Haematol.* 1997 Dec; 10(4): p. 621-634.
41. Groen JJ. Gaucher's Disease. Hereditary Transmission and racial distribution. *Arch Intern Med.* 1964 Apr; 113: p. 543-549.
42. Hsia DY, Naylor J, Bigler JA. Gaucher's disease; report of two cases in father and son and review of the literature. *N Engl J Med.* 1959 Jul 23; 261(4): p. 164-169.
43. Fried K. Population study of chronic Gaucher's disease. *Isr J Med Sci.* 1973 Sep-Oct; 9(9): p. 1396-1398.
44. Brady RO, Kanfer JN, Shapiro D. Metabolism of glucocerebrosides. II evidence of an enzymatic deficiency in Gaucher disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 1965 Jan 18; 18: p. 221-225.
45. Weinreb NJ, Brady RO, Tappel AL. The lysosomal localization of sphingolipid hydrolases. *Biochim Biophys Acta.* 1968 Apr 24; 159(1): p. 141-146.

46. Ho MW, O'Brien JS. Gaucher's disease: deficiency of 'acid' -glucosidase and reconstitution of enzyme activity in vitro. Proc Natl Acad Sci USA. 1971 Nov; 68(11): p. 2810-2813.
47. Brady RO, Pentchev PG, Gal AE, Hibbert SR, Dekaban AS. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified glucocerebrosidase in Gaucher's disease. N Engl J Med. 1974 Nov 7; 291(19): p. 989-993.
48. De Duve C. From cytochromes to lysosomes. Fed Proc. 1964 Sep-Oct; 23: p. 1045-1049.
49. Beutler E, Dale GL, Guinto DE, Kuhl W. Enzyme replacement therapy in Gaucher's disease: preliminary clinical trial of a new enzyme preparation. Proc Natl Acad Sci USA. 1977 Oct; 74(10): p. 4620-4623.
50. Baldellou A, Fernández de la Puebla R, Matía M, Olivera S, Pérez Calvo JI, Torralba MA, Villarubia J. Actualización en Enfermedad de Gaucher JI PC, editor. Madrid: Saned, Sanidad y Ediciones S.L; 2008.
51. Shafit-Zagardo B, Devine EA, Smith M, Arredondo-Vega F, Desnick RJ. Assignment of the gene for acid beta-glucosidase to human chromosome 1. Am J Hum Genet. 1981 Jul; 33(4): p. 564-575.
52. Ginns EI, Choudary PV, Martin BM, Winfield S, Stubblefield B, Mayor J, Merkle-Lehman D, Murray GJ, Bowers LA, Barranger JA. Isolation of cDNA clones for human beta-glucocerebrosidase using the lambda gt11 expression system. Biochem Biophys Res Commun. 1984 Sep 17; 123(2): p. 574-580.
53. Sorge J, West C, Westwood B, Beutler E. Molecular cloning and nucleotide sequence of human glucocerebrosidase cDNA. Proc Natl Acad Sci USA. 1985 Nov; 82(21): p. 7289-7293.
54. Tsuji S, Choudary PV, Martin BM, Winfield S, Barranger JA, Ginns EI. Nucleotide sequence of cDNA containing the complete coding sequence for human lysosomal glucocerebrosidase. J Biol Chem. 1986 Jan 5; 261(1): p. 50-53.
55. Horowitz M, Wilder S, Horowitz Z, Reiner O, Gelbart T, Beutler E. The human glucocerebrosidase gene and pseudogene: structure and evolution. Genomics. 1989 Jan; 4(1): p. 87-96.
56. Tsuji S, Choudary PV, Martin BM, Stubblefield BK, Mayor JA, Barranger JA, Ginns EI. A mutation in the human glucocerebrosidase gene in neuronopathic Gaucher's disease. N Eng J Med. 1987 Mar 5; 316(10): p. 570-575.
57. Barton NW, Brady RO, Dambrosia JM, Di Bisceglie AM, Doppelt SH, Hill SC, Mankin HJ, Murray GJ, Parker RI, Argoff CE, et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency--macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. N Engl J Med. 1991 May 23; 324(21): p. 1464-1470.
58. Grabowski GA, Barton NW, Pastores G, Dambrosia JM, Banerjee TK, McKee MA, Parker C, Schiffmann R, Hill SC, Brady RO. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease: comparative efficacy of mannose-terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. Ann Intern Med. 1995 Jan 1; 122(1): p. 33-39.

59. Maas M, Hollak CE, Akkerman EM, Aerts JM, Stoker J, Den Heeten GJ. Quantification of skeletal involvement in adults with type I Gaucher's disease: fat fraction measured by Dixon quantitative chemical shift imaging as a valid parameter. *AJR Am J Roentgenol*. 2002 Oct; 179(4): p. 961-965.
60. Damiano AM, Pastores GM, Ware JE Jr. The health-related quality of life of adults with Gaucher's disease receiving enzyme replacement therapy: results from a retrospective study. *Qual Life Res*. 1998 Jul; 7(5): p. 373-386.
61. Hayes RP, Grinzaid KA, Duffey EB, Elsas LJ 2nd. The impact of Gaucher disease and its treatment on quality of life. *Qual Life Res*. 1998 Aug; 7(6): p. 521-534.
62. Giraldo P, Solano V, Pérez-Calvo JI, Giralt M, Rubio-Félix D. Quality of life related to type 1 Gaucher disease: Spanish experience. *Qual Life Res*. 2005 Mar; 14(2): p. 453-462.
63. Weinreb N, Barranger J, Packman S, Prakash-Cheng A, Rosenbloom B, Sims K, Angell J, Skrinar A, Pastores GM. Imiglucerase (Cerezyme) improves quality of life in patients with skeletal manifestations of Gaucher disease. *Clin Genet*. 2007 Jun; 71(6): p. 576-588.
64. Cox T, Lachmann R, Hollak C, Aerts J, van Weely S, Hrebíček M, Platt F, Butters T, Dwek R, Moyses C, Gow I, Elstein D, Zimran A. Novel oral treatment of Gaucher's disease with N-butyldeoxynojirimycin (OGT 918) to decrease substrate biosynthesis. *Lancet*. 2000 Apr 29; 355(9214): p. 1481-1485.
65. Zimran A, Altarescu G, Philips M, Attias D, Jmoudiak M, Deeb M, Wang N, Bhirangi K, Cohn GM, Elstein D. Phase 1/2 and extension study of velaglucerase alfa replacement therapy in adults with type 1 Gaucher disease: 48-month experience. *Blood*. 2010 Jun 10; 115(23): p. 4651-4656.
66. Zimran A, Brill-Almon E, Chertkoff R, Petakov M, Blanco-Favela F, Muñoz ET, Solorio-Meza SE, Amato D, Duran G, Giona F, Heitner R, Rosenbaum H, Giraldo P, Mehta A, Park G, Phillips M, Elstein D, Altarescu G, Szleifer M, Hashmueli S, Aviezer D. Pivotal trial with plant cell-expressed recombinant glucocerebrosidase, taliglucerase alfa, a novel enzyme replacement therapy for Gaucher disease. *Blood*. 2011 Nov 24; 118(22): p. 5767-5773.
67. Dr. Yoseph Shaaltiel. Protalix Biotherapeutics. [Online].; 1993 [cited 2019 Junio. Available from: <http://www.protalix.com>.
68. Lukina E, Watman N, Arreguin EA, Banikazemi M, Dragosky M, Iastrebner M, Rosenbaum H, Phillips M, Pastores GM, Rosenthal DI, Kaper M, Singh T, Puga AC, Bonate PL, Peterschmitt MJ. A phase 2 study of eliglustat tartrate (Genz-112638), an oral substrate reduction therapy for Gaucher disease type 1. *Blood*. 2010 Aug 12; 116(6): p. 893-899.
69. Dunbar CE, High KA, Joung JK, Kohn DB, Ozawa K, Sadelain M. Gene therapy comes of age. *Science*. 2018 Jan 12; 359(6372): p. eaan4672.

70. Beutler E. Gaucher disease. *Blood Rev.* 1988 Mar; 2(1): p. 59-70.
71. Pérez-Calvo J, Bernal M, Giraldo P, Torralba MA, Civeira F, Giralt M, Pocovi M. Co-morbidity in Gaucher's disease results of a nationwide enquiry in Spain. *Eur J Med Res.* 2000 Jun 20; 5(6): p. 231-235.
72. Cox TM, Schofield JP. Gaucher's disease: clinical features and natural history. *Baillieres Clin Haematol.* 1997 Dec; 10(4): p. 657-689.
73. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA.* 1999 Jan 20; 281(3): p. 249-254.
74. Stenson et al. The Human Gene Mutation Database (HGMD®) Web site. [Online].; 2003 [cited 2019 Jun. Available from: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>.
75. Christomanou H, Aignesberger A, Linke RP. Immunochemical characterization of two activator proteins stimulating enzymic sphingomyelin degradation in vitro. Absence of one of them in a human Gaucher disease variant. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1896 Sep; 367(9): p. 879-890.
76. O'Brien JS, Kishimoto Y. Saposin proteins: structure, function, and role in human lysosomal storage disorders. *FASEB J.* 1991 Mar; 5(3): p. 301-308.
77. Giraldo P, Giralt M, Pérez-Calvo J, Pocovi M. Enfermedades lisosomales y enfermedad de Gaucher. 2nd ed. Pilar G, M G, Ignacio PCJ, Miguel P, editors. Zaragoza; 2003.
78. Diaz-Font A, Cormand B, Santamaria R, Vilageliu L, Grinberg D, Chabás A. A mutation within the saposin D domain in a Gaucher disease patient with normal glucocerebrosidase activity. *Hum Genet.* 2005 Jul; 117(2-3): p. 275-277.
79. Tamargo RJ, Velayati A, Goldin E, Sidransky E. The role of saposin C in Gaucher disease. *Mol Genet Metab.* 2012 Jul; 106(3): p. 257-263.
80. Liou B, Zhang W, Fannin V, Quinn B, Ran H, Xu K, Setchell KDR, Witte D, Grabowski GA, Sun Y. Combination of acid β -glucosidase mutation and Saposin C deficiency in mice reveals Gba1 mutation dependent and tissue-specific disease phenotype. *Sci Rep.* 2019 Apr 3; 9(1): p. 5571.
81. Vilageliu L, Grinberg D. Involvement of Gaucher Disease Mutations in Parkinson Disease. *Curr Protein Pept Sci.* 2017; 18(7): p. 758-764.
82. Zimran A, Gelbart T, Westwood B, Grabowski GA, Beutler E. High frequency of the Gaucher disease mutation at nucleotide 1226 among Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet.* 1991 Oct; 49(4): p. 855-859.
83. Beutler E, Gelbart T, Kuhl W, Sorge J, West C. Identification of the second common Jewish Gaucher disease mutation makes possible population-based screening for the heterozygous state. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991 Dec; 88(23): p. 10544-10547.

84. Cormand B, Vilageliu L, Burguera JM, Balcells S, González-Duarte R, Grinberg D, Chabás A. Gaucher disease in Spanish patients: analysis of eight mutations. *Hum Mutat.* 1995; 5(4): p. 303-309.
85. Sarria AJ, Giraldo P, Perez-Calvo JI, Pocoví M. Detection of three rare (G377S, T134P and 1451delAC), and two novel mutations (G195W and Rec[1263del55;1342G>C]) in Spanish Gaucher disease patients. *Hum Mutat.* 1999; 14(1): p. 88.
86. Giraldo P, Pocoví M, Pérez-Calvo J, Rubio-Félix D, Giralt M. Report of the Spanish Gaucher's disease registry: clinical and genetic characteristics. *Haematologica.* 2000 Aug; 85(8): p. 792-799.
87. Torralba MA, Pérez-Calvo JI, Pastores GM, Cenarro A, Giraldo P, Pocoví M. Identification and characterization of a novel mutation c.1090G>T (G325W) and nine common mutant alleles leading to Gaucher disease in Spanish patients. *Blood Cells Mol Dis.* 2001 Mar-Apr; 27(2): p. 489-495.
88. Alfonso P, Aznarez S, Giralt M, Pocovi M, Giraldo P. Mutation analysis and genotype/phenotype relationships of Gaucher disease patients in Spain. *J Hum Genet.* 2007; 52(5): p. 391-396.
89. García-Rodríguez B, Alfonso P, Mallén M, Pocoví M, Giraldo P. Gaucher disease: a pyrosequencing frequency analysis of the N370S and L444P mutations in the Spanish population. *Clin Genet.* 2012 May; 81(5): p. 495-497.
90. Biegstraaten M, Cox TM, Belmatoug N, Berger MG, Collin-Histed T, Vom Dahl S, Di Rocco M, Fraga C, Giona F, Giraldo P et al. Management goals for type 1 Gaucher disease: An expert consensus document from the European working group on Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2018 Feb; 68: p. 203-208.
91. Biegstraaten M, van Schaik IN, Aerts JM, Hollak CE. 'Non-neuronopathic' Gaucher disease reconsidered. Prevalence of neurological manifestations in a Dutch cohort of type I Gaucher disease patients and a systematic review of the literature. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Jun; 31(3): p. 337-349.
92. Chérin P, Rose C, de Roux-Serratrice C, Tardy D, Dobbelaere D, Grosbois B, Hachulla E, Jaussaud R, Javier RM, Noël E, Clerson P, Hartmann A. The neurological manifestations of Gaucher disease type 1: the French Observatoire on Gaucher disease (FROG). *J Inherit Metab Dis.* 2010 Aug; 33(4): p. 331-338.
93. Halperin A, Elstein D, Zimran A. Are symptoms of peripheral neuropathy more prevalent in patients with Gaucher disease? *Acta Neurol Scand.* 2007 Apr; 115(4): p. 275-278.
94. Pastores GM, Barnett NL, Bathan P, Kolodny EH. A neurological symptom survey of patients with type I Gaucher disease. *J Inherit Metab Dis.* 2003; 26(7): p. 641-645.

95. Capablo JL, Saenz de Cabezón A, Fraile J, Alfonso P, Pocovi M, Giraldo P. Neurological evaluation of patients with Gaucher disease diagnosed as type 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Feb; 79(2): p. 219-222.
96. Biegstraaten M, Mengel E, Maródi L, Petakov M, Niederau C, Giraldo P, Hughes D, Mrsic M, Mehta A, Hollak CE, van Schaik IN. Peripheral neuropathy in adult type 1 Gaucher disease: a 2-year prospective observational study. *Brain*. 2010 Oct; 133(10): p. 2909-2919.
97. Gielchinsky Y, Elstein D, Green R, Miller JW, Elstein Y, Algur N, Lahad A, Shinar E, Abrahamov A, Zimran A. High prevalence of low serum vitamin B12 in a multi-ethnic Israeli population. *Br J Haematol*. 2001 Dec; 115(3): p. 707-709.
98. de Fost M, Out TA, de Wilde FA, Tjin EP, Pals ST, van Oers MH, Boot RG, Aerts JF, Maas M, Vom Dahl S, Hollak CE. Immunoglobulin and free light chain abnormalities in Gaucher disease type I: data from an adult cohort of 63 patients and review of the literature. *Ann Hematol*. 2008 Jun; 87(6): p. 439-449.
99. Silberman J, Lonial S. Review of peripheral neuropathy in plasma cell disorders. *Hematol Oncol*. 2008 Jun; 26(2): p. 55-65.
100. Aerts JM, Hollak CE. Plasma and metabolic abnormalities in Gaucher's disease. *Baillieres Clin Haematol*. 1997 Dec; 10(4): p. 691-709.
101. Soffer D, Yamanaka T, Wenger DA, Suzuki K, Suzuki K. Central nervous system involvement in adult-onset Gaucher's disease. *Acta Neuropathol*. 1980; 49(1): p. 1-6.
102. Carbajal RL, Gómez GF, Mora TA, Rodríguez HR, Zarco RJ. Terapia de Reemplazo Enzimático. *Act Pediatr Mex*. 2012; 33(1): p. 9-19.
103. Mankin HJ, Rosental DI, Xavier R. Gaucher Disease: New approaches to an ancient disease. *J Bone Joint Surg Am*. 2001 May; 83(5): p. 748-762.
104. Pastores GM, Barnett NL. Current and emerging therapies for the lysosomal storage disorders. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2005 Nov; 10(4): p. 891-902.
105. Niederau C, Beck M, vom Dahl S, Häussinger D, Mengel E, Wilhelm PL. Gaucher Disease. 2nd ed. Bremen: UNI. MED Verlag AG; 2006-2009.
106. Carbajal RL, Rodríguez HR, Zarco RJ. Errores innatos del metabolismo en el niño: Mc Graw Hill; 2013.
107. Giraldo P, Giralt M, Pérez Calvo JI, Pocovi M. Enfermedad de Gaucher: FEETEG Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher; 2003.
108. Lee NC, Chien YH, Wong SL, Sheen JM. Blood Cells Molecules and Diseases Madrid: Elsevier; 2014.
109. Tajima A, Ohashi T, Hamano S, Higurashi N, Ida H. Gaucher Disease Patient with Myoclonus Epilepsy and a Novel Mutation. Elsevier. 2010; 42(1): p. 65-68.

110. Park JK, Orvisky E, Tayebi N. Myoclonic epilepsy in Gaucher disease: genotype-phenotype insights from a rare patient subgroup. *Pediatr Res.* 2003; 53(3): p. 387-395.
111. Cox TM, Aerts JM, Belmatoug N, Cappellini MD, vom Dahl S, Goldblatt J, Grabowski GA, Hollak CE, Hwu P, Maas M, Martins AM, Mistry PK, Pastores GM, Tylki-Szymanska A, Yee J, Weinreb N. Management of non-neuronopathic gaucher disease with special reference to pregnancy, splenectomy, biphosphonate therapy, use to biomarkers and bone disease monitoring. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Jun; 31(3): p. 319-336.
112. Brunel-Guitton C, Georges-Etienne R, Galipeau J, Alos N, Miron M-C, Therrien R, et al. Enzyme replacement therapy in pediatric patients with Gaucher disease: What should we use as maintenance dosage. *Mol Genet Metab.* 2009 Feb; 96(2): p. 73-76.
113. Abrahamov A, Elstein D, Gross-Tsur V, Farber B, Glaser Y, Hadas-Halpern I, Ronen S, Tafakjdi M, Horowitz M, Zimran A. Gaucher's disease variant characterised by progressive calcification of heart valves and unique genotype. *Lancet.* 1995 Oct 14; 346(8981): p. 1000-1003.
114. Elstein Y, Eisenberg V, Granovsky-Grisaru S, Rabinowitz R, Samueloff A, Zimran A, Elstein D. Pregnancies in Gaucher Disease: A 5 year study. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Feb; 109(2): p. 435-441.
115. Pastores M. Gaucher disease. *GeneReviews.* [Online].; 2019 [cited 2019 Jun. Available from: <http://www.genetests.org/query? dz=gaucher>.
116. Altarescu G, Hill S, Wiggs E, Jeffries N, Kreps C, Parker CC, Brady RO, Barton NW, Schiffmann R. The efficacy of enzyme replacement therapy in patients with chronic neuronopathic Gaucher's disease. *J Pediatr.* 2001 Apr; 138(4): p. 539-547.
117. Kraoua I, Sedel F, Caillaud C, Froissart R, Stirnemann J, Chaurand G, Flodrops H, Tari S, Gourfinkel-An I, Mathieu S, Belmatoug N, Billette de Villemeur T, Mignot C. A French experience of type 3 Gaucher disease: Phenotypic diversity and neurological outcome of 10 patients. *Brain Dev.* 2011 Feb; 33(2): p. 131-139.
118. Vellodi A, Tylki-Szymanska A, Davies EH, Kolodny E, Bembi B, Collin-Histed T, Mengel E, Erikson A, Schiffmann R. Management of neuronopathic Gaucher disease: revised recommendations. *J Inherit Metab Dis.* 2009 Oct; 32(5): p. 660-664.
119. Zimran A, Altarescu G, Elstein D. Pilot study using ambroxol as a pharmacological chaperone in type 1 Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2013 Feb; 50(2): p. 134-137.
120. Pastores GM, Barnett NL. Substrate reduction therapy: miglustat as a remedy for symptomatic patients with Gaucher disease type 1. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003 Feb; 12(2): p. 273-281.
121. Alfonso Palacín P, Gervas Arruga J, Giraldo Castellano P, Grinberg D, Laclériga Giménez AF, Latre Martínez P, Moura Vale Mota R, Mieras Pcoví

- M, Roca Espiau M, Vilageliu L. La Afectación Ósea en la Enfermedad de Gaucher Giraldo P, Pocoví M, Roca M, editors. Zaragoza; 2009.
122. Elstein D, Itzchaki M, Mankin HJ. Skeletal involvement in Gaucher's disease. *Baillieres Clin Haematol.* 1997 Dec; 10(4): p. 793-816.
 123. Nasher O, Gupta A. An ACE diagnosis. *BMJ Case Rep.* 2013 Feb 14; 2013.
 124. Mistry PK, Cappellini MD, Lukina E, Ozsan H, Mach Pascual S, Rosenbaum H, Helena Solano M, Spigelman Z, Villarrubia J, Watman NP, Massenkeil G. A reappraisal of Gaucher disease-diagnosis and disease management algorithms. *Am J Hematol.* 2011 Jan; 86(1): p. 110-115.
 125. Beutler E. Gaucher disease: multiple lessons from a single gene disorder. *Acta Paediatr Suppl.* 2006 Apr; 95(451): p. 103-109.
 126. Raghavan SS, Topol J, Kolodny EH. Leukocyte beta-glucosidase in homozygotes and heterozygotes for Gaucher disease. *Am J Hum Genet.* 1980 Mar; 32(2): p. 158-173.
 127. Noya M, Andrade-Campos M, Irun P, López de Frutos L, López-Fernandez M, Giraldo P. Gaucher disease and chronic myeloid leukemia: first reported patient receiving enzyme replacement and tyrosine kinase inhibitor therapies simultaneously. *Clin Case Rep.* 2018 Mar 15; 6(5): p. 887-892.
 128. Giraldo P, López de Frutos L, Cebolla JJ. Biomarker combination is necessary for the assessment of Gaucher disease? *Ann Transl Med.* 2018 Nov; 6(Suppl 1): p. S81.
 129. Danna EA, Nolan GP. Transcending the biomarker mindset: deciphering disease mechanisms at the single cell level. *Curr Opin Chem Biol.* 2006 Feb; 10(1): p. 20-27.
 130. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource Silver Spring (MD), Bethesda (MD); 2016.
 131. Rolfs A, Giese AK, Grittner U, Mascher D, Elstein D, Zimran A, Böttcher T, Lukas J, Hübner R, Gölnitz U, Röhle A, Dudsek A, Meyer W, Wittstock M, Mascher H. Glucosylsphingosine is a highly sensitive and specific biomarker for primary diagnostic and follow-up monitoring in Gaucher disease in a non-Jewish, Caucasian cohort of Gaucher disease patients. *PLoS One.* 2013 Nov 20; 8(11): p. e79732.
 132. Hollak CE, van Weely S, van Oers MH, Aerts JM. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J Clin Invest.* 1994 Mar; 93(3): p. 1288-1292.
 133. Di Rosa M, Distefano G, Zorena K, Malaguarnera L. Chitinases and immunity: Ancestral molecules with new functions. *Immunobiology.* 2016 Mar; 221(3): p. 399-411.
 134. Wajner A, Michelin K, Burin MG, Pires RF, Pereira ML, Giugliani R, Coelho JC. Biochemical characterization of chitotriosidase enzyme: comparison between normal individuals and patients with Gaucher and with Niemann-Pick diseases. *Clin Biochem.* 2004 Oct; 37(10): p. 893-897.

135. Boot RG, Renkema GH, Verhoek M, Strijland A, Blik J, de Meulemeester TM, Mannens MM, Aerts JM. The human chitotriosidase gene. Nature of inherited enzyme deficiency. *J Biol Chem.* 1998 Oct 2; 273(40): p. 25680-25685.
136. Krecak I, Gveric-Krecak V, Roncevic P, Basic-Kinda S, Gulin J, Lopic I, Fumic K, Ilic I, Horvat I, Zadro R, Holik H, Coha B, Peran N, Aurer I, Durakovic N. Serum chitotriosidase: a circulating biomarker in polycythemia vera. *Hematology.* 2018 Dec; 23(10): p. 793-802.
137. Guo Y, He W, Boer AM, Wevers RA, de Bruijn AM, Groener JE, Hollak CE, Aerts JM, Galjaard H, van Diggelen OP. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis.* 1995; 18(6): p. 717-722.
138. Malaguarnera L, Musumeci M, Licata F, Di Rosa M, Messina A, Musumeci S. Prolactin induces chitotriosidase gene expression in human monocyte-derived macrophages. *Immunol Lett.* 2004 Jun 15; 94(1-2): p. 57-63.
139. Elias JA, Homer RJ, Hamid Q, Lee CG. Chitinases and chitinase-like proteins in T(H)2 inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Sep; 116(3): p. 497-500.
140. Malaguarnera L. Chitotriosidase: the yin and yang. *Cell Mol Life Sci.* 2006 Dec; 63(24): p. 3018-3029.
141. Wajner A, Michelin K, Burin MG, Pires RF, Pereira ML, Giugliani R, Coelho JC. Comparison between the biochemical properties of plasma chitotriosidase from normal individuals and from patients with Gaucher disease, GM1-gangliosidosis, Krabbe disease and heterozygotes for Gaucher disease. *Clin Biochem.* 2007 Mar; 40(5-6): p. 365-369.
142. Boot RG, Hollak CE, Verhoek M, Alberts C, Jonkers RE, Aerts JM. Plasma chitotriosidase and CCL18 as surrogate markers for granulomatous macrophages in sarcoidosis. *Clin Chim Acta.* 2010 Jan; 411(1-2): p. 31-36.
143. Malaguarnera L, Musumeci M, Di Rosa M, Scuto A, Musumeci S. Interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and lipopolysaccharide promote chitotriosidase gene expression in human macrophages. *J Clin Lab Anal.* 2005; 19(3): p. 128-132.
144. Di Rosa M, Musumeci M, Scuto A, Musumeci S, Malaguarnera L. Effect of interferon-gamma, interleukin-10, lipopolysaccharide and tumor necrosis factor-alpha on chitotriosidase synthesis in human macrophages. *Clin Chem Lab Med.* 2005; 43(5): p. 499-502.
145. Di Rosa M, Dell'Ombra N, Zambito AM, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Chitotriosidase and inflammatory mediator levels in Alzheimer's disease and cerebrovascular dementia. *Eur J Neurosci.* 2006 May; 23(10): p. 2648-2656.
146. Eide KB, Stockinger LW, Lewin AS, Tøndervik A, Eijsink VG, Sørli M. The role of active site aromatic residues in substrate degradation by the human chitotriosidase. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Feb; 1864(2): p. 242-247.

147. Ries M, Schaefer E, Lührs T, Mani L, Kuhn J, Vanier MT, Krummenauer F, Gal A, Beck M, Mengel E. Critical assessment of chitotriosidase analysis in the rational laboratory diagnosis of children with Gaucher disease and Niemann-Pick disease type A/B and C. *J Inher Metab Dis*. 2006 Oct; 29(5): p. 647-652.
148. Giraldo P, Cenarro A, Alfonso P, Pérez-Calvo JI, Rubio-Félix D, Giralto M, Pocoví M. Chitotriosidase genotype and plasma activity in patients type 1 Gaucher's disease and their relatives (carriers and non carriers). *Haematologica*. 2001 Sep; 86(9): p. 977-984.
149. Sperb-Ludwig F, Heineck BL, Michelin-Tirelli K, Alegria T, Schwartz IVD. Chitotriosidase on treatment-naïve patients with Gaucher disease: A genotype vs phenotype study. *Clin Chim Acta*. 2019 May; 492: p. 1-6.
150. Grace ME, Balwani M, Nazarenko I, Prakash-Cheng A, Desnick RJ. Type 1 Gaucher disease: null and hypomorphic novel chitotriosidase mutations-implications for diagnosis and therapeutic monitoring. *Hum Mutat*. 2007 Sep; 28(9): p. 866-873.
151. Quintana L, Monasterio A, Escuredo K, del Amo J, Alfonso P, Elortza F, Santa Cruz S, Simón L, Martínez A, Giraldo P, Pocoví M, Castrillo JL. Identification of chitotriosidase isoforms in plasma of Gaucher disease patients by two dimensional gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Jul; 1764(7): p. 1292-1298.
152. Irún P, Alfonso P, Aznarez S, Giraldo P, Pocovi M. Chitotriosidase variants in patients with Gaucher disease. Implications for diagnosis and therapeutic monitoring. *Clin Biochem*. 2013 Dec; 46(18): p. 1804-1807.
153. Tyłki-Szymańska A, Szymańska-Rożek P, Hasiński P, Ługowska A. Plasma chitotriosidase activity versus plasma glucosylsphingosine in wide spectrum of Gaucher disease phenotypes - A statistical insight. *Mol Genet Metab*. 2018 Apr; 123(4): p. 495-500.
154. Nilsson O, Svennerholm L. Accumulation of glucosylceramide and glucosylsphingosine (psychosine) in cerebrum and cerebellum in infantile and juvenile Gaucher disease. *J Neurochem*. 1982 Sep; 39(3): p. 709-718.
155. Polo G, Burlina AP, Kolamunnage TB, Zampieri M, Dionisi-Vici C, Strisciuglio P, Zaninotto M, Plebani M, Burlina AB. Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS. *Clin Chem Lab Med*. 2017 Mar 1; 55(3): p. 403-414.
156. Fuller M, Szer J, Stark S, Fletcher JM. Rapid, single-phase extraction of glucosylsphingosine from plasma: A universal screening and monitoring tool. *Clin Chim Acta*. 2015 Oct 23; 450: p. 6-10.
157. Murugesan V, Chuang WL, Liu J, Lischuk A, Kacena K, Lin H, Pastores GM, Yang R, Keutzer J, Zhang K, Mistry PK. Glucosylsphingosine is a key biomarker of Gaucher disease. *Am J Hematol*. 2016 Nov; 91(11): p. 1082-1089.
158. Mirzaian M, Wisse P, Ferraz MJ, Gold H, Donker-Koopman WE, Verhoek M, Overkleeft HS, Boot RG, Kramer G, Dekker N, Aerts JM. Mass spectrometric quantification of glucosylsphingosine in plasma and urine of type 1

Gaucher patients using an isotope standard. *Blood Cells Mol Dis.* 2015 Apr; 54(4): p. 307-314.

159. Irún P, Cebolla JJ, López de Frutos L, De Castro-Orós I, Roca-Espiau M, Giraldo P. LC-MS/MS analysis of plasma glucosylsphingosine as a biomarker for diagnosis and follow-up monitoring in Gaucher disease in the Spanish population. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Apr 28; 58(5): p. 798-809.
160. Boot RG, Verhoek M, de Fost M, Hollak CE, Maas M, Bleijlevens B, van Breemen MJ, van Meurs M, Boven LA, Laman JD, Moran MT, Cox TM, Aerts JM. Marked elevation of the chemokine CCL18/PARC in Gaucher disease: a novel surrogate marker for assessing therapeutic intervention. *Blood.* 2004 Jan 1; 103(1): p. 33-39.
161. Giraldo P, Irún P, Alfonso P, Dalmau J, Fernández-Galán MA, Figueredo A, Hernández-Rivas JM, Julia A, Luño E, Marín-Jimenez F, Martín-Nuñez G, Montserrat JL, de la Serna J, Vidaller A, Villalón L, Pocovi M. Evaluation of Spanish Gaucher disease patients after a 6-month imiglucerase shortage. *Blood Cells Mol Dis.* 2011 Jan 15; 46(1): p. 115-118.
162. Politz O, Kodolja V, Guillot P, Orfanos CE, Goerdts S. Pseudoexons and regulatory elements in the genomic sequence of the beta-chemokine, alternative macrophage activation-associated CC-chemokine (AMAC)-1. *Cytokine.* 2000 Feb; 12(2): p. 120-126.
163. Hieshima K, Imai T, Baba M, Shoudai K, Ishizuka K, Nakagawa T, Tsuruta J, Takeya M, Sakaki Y, Takatsuki K, Miura R, Opdenakker G, Van Damme J, Yoshie O, Nomiyama H. A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1 alpha/LD78 alpha and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes. *J Immunol.* 1997 Aug 1; 159(3): p. 1140-1149.
164. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, de Vries E, Marland G, Menon S, Foster J, Xu Y, Nooyen P, McClanahan T, Bacon KB, Figdor CG. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells. *Nature.* 1997 Jun 12; 387(6634): p. 713-717.
165. Reape TJ, Rayner K, Manning CD, Gee AN, Barnette MS, Burnand KG, Groot PH. Expression and cellular localization of the CC chemokines PARC and ELC in human atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 1999 Feb; 154(2): p. 365-374.
166. Chang KL, Hwu WL, Yeh HY, Lee NC, Chien YH. CCL18 as an alternative marker in Gaucher and Niemann-Pick disease with chitotriosidase deficiency. *Blood Cells Mol Dis.* 2010 Jan 15; 44(1): p. 38-40.
167. Kusano F, Tanaka Y, Marumo F, Sato C. Expression of C-C chemokines is associated with portal and periportal inflammation in the liver of patients with chronic hepatitis C. *Lab Invest.* 2000 Mar; 80(3): p. 415-422.
168. Schutyser E, Struyf S, Wuyts A, Put W, Geboes K, Grillet B, Opdenakker G, Van Damme J. Selective induction of CCL18/PARC by staphylococcal enterotoxins in mononuclear cells and enhanced levels in septic and rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* 2001 Dec; 31(12): p. 3755-3762.

169. Deegan PB, Moran MT, McFarlane I, Schofield JP, Boot RG, Aerts JM, Cox TM. Clinical evaluation of chemokine and enzymatic biomarkers of Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2005 Sep-Oct; 35(2): p. 259-267.
170. Raskovalova T, Deegan PB, Yang R, Pavlova E, Stirnemann J, Labarère J, Zimran A, Mistry PK, Berger M. Plasma chitotriosidase activity versus CCL18 level for assessing type I Gaucher disease severity: protocol for a systematic review with meta-analysis of individual participant data. *Syst Rev.* 2017 Apr 20; 6(1): p. 87.
171. Grabowski GA. Phenotype, diagnosis, and treatment of Gaucher's disease. *Lancet.* 2008 Oct 4; 372(9645): p. 1263-1271.
172. Brady RO, Tallman JF, Johnson WG, Gal AE, Leahy WR, Quirk JM, Dekaban AS. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified ceramidetrihexosidase in Fabry's disease. *N Engl J Med.* 1973 Jul 5; 289(1): p. 9-14.
173. Bembi B, Agosti E, Boehm P, Nassimbeni G, Zanatta M, Vidoni L. Aminohydroxypropylidene-biphosphonate in the treatment of bone lesions in a case of Gaucher's disease type 3. *Acta Paediatr.* 1994 Jan; 83(1): p. 122-124.
174. Samuel R, Katz K, Papapoulos SE, Yosipovitch Z, Zaizov R, Liberman UA. Aminohydroxy propylidene bisphosphonate (APD) treatment improves the clinical skeletal manifestations of Gaucher's disease. *Pediatrics.* 1994 Sep; 94(3): p. 385-389.
175. Itzchaki M, Lebel E, Dweck A, Patlas M, Hadas-Halpern I, Zimran A, Elstein D. Orthopedic considerations in Gaucher disease since the advent of enzyme replacement therapy. *Acta Orthop Scand.* 2004 Dec; 75(6): p. 641-653.
176. Weiss K, Gonzalez A, Lopez G, Pedoeim L, Groden C, Sidransky E. The clinical management of Type 2 Gaucher disease. *Mol Genet Metab.* 2015 Feb; 114(2): p. 110-122.
177. Mistry PK, Balwani M, Baris HN, Turkia HB, Burrow TA, Charrow J, Cox GF, Danda S, Dragosky M, Drelichman G, El-Beshlawy A, Fraga C, Freisens S, Gaemers S, Hadjiev E, Kishnani PS, Lukina E, Maison-Blanche P, Martins AM, Pastores G, Petakov M, et al. Addendum to Letter to the Editor: Safety, efficacy, and authorization of eliglustat as a first-line therapy in Gaucher disease type 1. *Blood Cells Mol Dis.* 2019 Jul; 77: p. 101-102.
178. Lyseng-Williamson KA, Katherine A. Miglustat: a review of its use in Niemann-Pick disease type C. *Drugs.* 2014 Jan; 74(1): p. 61-74.
179. Canda E, Kose M, Kagnici M, Ucar SK, Sozmen EY, Coker M. Patients with Gaucher type 1: Switching from imiglucerase to miglustat therapy. *Blood Cells Mol Dis.* 2018 Feb; 68: p. 180-184.
180. Aerts JM, Yasothan U, Kirkpatrick P. Velaglucerase alfa. *Nat Rev Drug Discov.* 2010 Nov; 9(11): p. 837-838.
181. Pineda M, Walterfang M, Patterson MC. Miglustat in Niemann-Pick disease type C patients: a review. *Orphanet J Rare Dis.* 2018 Aug 15; 13(1): p. 140.

182. Brady RO, Pentchev PG, Gal AE, Hibbert SR, Quirk JM, Mook GE, Kusiak JW, Tallman JF, Dekaban AS. Current Trends in Sphingolipidoses and Allied Disorders L VB&S, editor. New York: Plenum; 1976.
183. Cox TM. Gaucher disease: clinical profile and therapeutic developments. *Biologics*. 2010 Dec 6; 4: p. 299-313.
184. Ben Turkia H, Gonzalez DE, Barton NW, Zimran A, Kabra M, Lukina EA, Giraldo P, Kisinovsky I, Bavdekar A, Ben Dridi MF, Gupta N, Kishnani PS, Sureshkumar EK, Wang N, Crombez E, Bhirangi K, Mehta A. Velaglucerase alfa enzyme replacement therapy compared with imiglucerase in patients with Gaucher disease. *Am J Hematol*. 2013 Mar; 88(3): p. 179-184.
185. Barton NW, Furbish FS, Murray GJ, Garfield M, Brady RO. Therapeutic response to intravenous infusions of glucocerebrosidase in a patient with Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990 Mar; 87(5): p. 1913-1916.
186. Elstein D, Hadas-Halpern I, Itzchaki M, Lahad A, Abrahamov A, Zimran A. Effect of low-dose enzyme replacement therapy on bones in Gaucher disease patients with severe skeletal involvement. *Blood Cells Mol Dis*. 1996; 22(2): p. discussion 112-114.
187. Sanofi Genzyme. Gaucher. [Online].; 2016-2017 [cited 2019 Jun. Available from: https://www.enfermedad-gaucher.es/sites/default/files/monografia_cerezyme_v5.pdf.
188. Elstein D, Cohn GM, Wang N, Djordjevic M, Brutaru C, Zimran A. Early achievement and maintenance of the therapeutic goals using velaglucerase alfa in type 1 Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2011 Jan 15; 46(1): p. 119-123.
189. Zimran A, Loveday K, Fratazzi C, Elstein D. A pharmacokinetic analysis of a novel enzyme replacement therapy with Gene-Activated human glucocerebrosidase (GA-GCB) in patients with type 1 Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2007 Jul-Aug; 39(1): p. 115-118.
190. Brumshtein B, Salinas P, Peterson B, Chan V, Silman I, Sussman JL, Savickas PJ, Robinson GS, Futerman AH. Characterization of gene-activated human acid-beta-glucosidase: crystal structure, glycan composition, and internalization into macrophages. *Glycobiology*. 2010 Jan; 20(1): p. 24-32.
191. Guido Rasi. European Medicine Agency. [Online].; 1995 [cited 2019 Jun. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/cerdelga>.
192. Velaglucerase (Vpriv) for Gaucher's disease. *Med Lett Drugs Ther*. 2010 May 3; 52(1337): p. 36.
193. Hollak CE, vom Dahl S, Aerts JM, Belmatoug N, Bembi B, Cohen Y, Collin-Histed T, Deegan P, van Dussen L, Giraldo P, Mengel E, Michelakakis H, Manuel J, Hrebicek M, Parini R, Reinke J, di Rocco M, Pocovi M, et al. Force majeure: therapeutic measures in response to restricted supply of imiglucerase (Cerezyme) for patients with Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2010 Jan 15; 44(1): p. 41-47.

194. Mistry PK, Deegan P, Vellodi A, Cole JA, Yeh M, Weinreb NJ. Timing of initiation of enzyme replacement therapy after diagnosis of type 1 Gaucher disease: effect on incidence of avascular necrosis. *Br J Haematol*. 2009 Nov; 147(4): p. 561-570.
195. Stirnemann J, Vigan M, Hamroun D, Heraoui D, Rossi-Semerano L, Berger MG, Rose C, Camou F, de Roux-Serratrice C, Grosbois B, Kaminsky P, Robert A, Caillaud C, Froissart R, Levade T, Masseur A, Mignot C, Sedel F, et al. The French Gaucher's disease registry: clinical characteristics, complications and treatment of 562 patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2012 Oct 9; 7: p. 77.
196. Giraldo P, Alfonso P, Irún P, Gort L, Chabás A, Vilageliu L, Grinberg D, Sá Miranda CM, Pocovi M. Mapping the genetic and clinical characteristics of Gaucher disease in the Iberian Peninsula. *Orphanet J Rare Dis*. 2012 Mar 19; 7: p. 17.
197. Andersson HC, Charrow J, Kaplan P, Mistry P, Pastores GM, Prakash-Cheng A, Rosenbloom BE, Scott CR, Wappner RS, Weinreb NJ. Individualization of long-term enzyme replacement therapy for Gaucher disease. *Genet Med*. 2005 Feb; 7(2): p. 105-110.
198. Pastores GM, Turkia HB, Gonzalez DE, Ida H, Tantawy AA, Qin Y, Qiu Y, Dinh Q. Development of anti-velaglucerase alfa antibodies in clinical trial-treated patients with Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2016 Jul; 59: p. 37-43.
199. Elstein D, Hughes D, Goker-Alpan O, Stivel M, Baris HN, Cohen IJ, Granovsky-Grisaru S, Samueloff A, Mehta A, Zimran A. Outcome of pregnancies in women receiving velaglucerase alfa for Gaucher disease. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 Apr; 40(4): p. 968-975.
200. Coutinho MF, Santos JI, Alves S. Less Is More: Substrate Reduction Therapy for Lysosomal Storage Disorders. *Int J Mol Sci*. 2016 Jul 4; 17(7): p. E1065.
201. Shemesh E, Deroma L, Bembi B, Deegan P, Hollak C, Weinreb NJ, Cox TM. Enzyme replacement and substrate reduction therapy for Gaucher disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Mar 27;(3): p. CD010324.
202. Kanehisa Laboratories. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Online].; 1995 [cited 2019 Jun. Available from: https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D05032.
203. Appel R, Bairoch A, Philipp Bucher, Hochstrasser D, Jongeneel CV, Peitsch M. ExPASy, SIB: Swiss Institute of Bioinformatics. [Online].; 1993 [cited 2019 Jun. Available from: <https://enzyme.expasy.org/EC/1.14.14.1>.
204. Gorka GM. PubChem. [Online].; 2018 [cited 2019. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
205. Aerts JM, Hollak CE, Boot RG, Groener JE, Maas M. Substrate reduction therapy of glycosphingolipid storage disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2006 Apr-Jun; 29(2-3): p. 449-456.

206. Platt FM, Neises GR, Dwek RA, Butters TD. N-butyldeoxynojirimycin is a novel inhibitor of glycolipid biosynthesis. *J Biol Chem.* 1994 Mar 18; 269(11): p. 8362-8365.
207. Andersson U, Butters TD, Dwek RA, Platt FM. N-butyldeoxygalactonojirimycin: a more selective inhibitor of glycosphingolipid biosynthesis than N-butyldeoxynojirimycin, in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol.* 2000 Apr 1; 59(7): p. 821-829.
208. Amiri M, Naim HY. Miglustat-induced intestinal carbohydrate malabsorption is due to the inhibition of α -glucosidases, but not β -galactosidases. *J Inher Metab Dis.* 2012 Nov; 35(6): p. 949-954.
209. Belmatoug N, Di Rocco M, Fraga C, Giraldo P, Hughes D, Lukina E, Maison-Blanche P, Merkel M, Niederau C, Plöckinger U, Richter J, Stulnig TM, Vom Dahl S, Cox TM. Management and monitoring recommendations for the use of eliglustat in adults with type 1 Gaucher disease in Europe. *Eur J Intern Med.* 2017 Jan; 37: p. 25-32.
210. Shayman JA. ELIGLUSTAT TARTRATE: Glucosylceramide Synthase Inhibitor Treatment of Type 1 Gaucher Disease. *Drugs Future.* 2010 Aug 1; 35(8): p. 613-620.
211. McEachern KA, Fung J, Komarnitsky S, Siegel CS, Chuang WL, Hutto E, Shayman JA, Grabowski GA, Aerts JM, Cheng SH, Copeland DP, Marshall J. A specific and potent inhibitor of glucosylceramide synthase for substrate inhibition therapy of Gaucher disease. *Mol Genet Metab.* 2007 Jul; 91(3): p. 259-267.
212. European Medicine Agency (EMA). [Online].; 1995-2020 [cited 2019 Feb. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/search/search?search_api_views_fulltext=zavesca.
213. Brand M, Muller A, Alsop J, van Schaik IN, Bembi B, Hughes D. Results from a 9-year Intensive Safety Surveillance Scheme (IS(3)) in miglustat (Zavesca[®])-treated patients. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2015 Mar; 24(3): p. 329-333.
214. Cox TM, Aerts JM, Andria G, Beck M, Belmatoug N, Bembi B, Chertkoff R, Vom Dahl S, Elstein D, Erikson A, Giralt M, Heitner R, Hollak C, Hrebicek M, Lewis S, Mehta A, Pastores GM, Rolfs A, Miranda MC, Zimran A. The role of the iminosugar N-butyldeoxynojirimycin (miglustat) in the management of type I (non-neuronopathic) Gaucher disease: a position statement. *J Inher Metab Dis.* 2003; 26(6): p. 513-526.
215. Schiffmann R, Fitzgibbon EJ, Harris C, DeVile C, Davies EH, Abel L, van Schaik IN, Benko W, Timmons M, Ries M, Vellodi A. Randomized, controlled trial of miglustat in Gaucher's disease type 3. *Ann Neurol.* 2008 Nov; 64(5): p. 514-522.
216. Lau H, Ibrahim J, Peterschmitt M.J, Ross L. Tremor and peripheral neuropathy are infrequent and non-serious events in Gaucher type 1 patients treated with eliglustat. *Mol Genet Metab.* 2015 Feb; 114(2): p. S69-S70.

217. Hollak CE, Hughes D, van Schaik IN, Schwierin B, Bembi B. Miglustat (Zavesca) in type 1 Gaucher disease: 5-year results of a post-authorisation safety surveillance programme. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2009 Sep; 18(9): p. 770-777.
218. Kanehisa Laboratories. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Online].; 1995 [cited 2019 Jun. Available from: https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D09893.
219. Bennett LL, Turcotte K. Eliglustat tartrate for the treatment of adults with type 1 Gaucher disease. *Drug Des Devel Ther.* 2015 Aug 18; 9: p. 4639-4647.
220. Cox TM, Drelichman G, Cravo R, Balwani M, Burrow TA, Martins AM, Lukina E, Rosenbloom B, Ross L, Angell J, Puga AC. Eliglustat compared with imiglucerase in patients with Gaucher's disease type 1 stabilised on enzyme replacement therapy: a phase 3, randomised, open-label, non-inferiority trial. *Lancet.* 2015 Jun 13; 385(9985): p. 2355-2362.
221. Lukina E, Watman N, Arreguin EA, Banikazemi M, Dragosky M, Iastrebner M, Rosenbaum H, Phillips M, Pastores GM, Rosenthal DI, Kaper M, Singh T, Puga AC, Bonate PL, Peterschmitt MJ. A phase 2 study of eliglustat tartrate (Genz-112638), an oral substrate reduction therapy for Gaucher disease type 1. *Blood.* 2010 Aug 12; 116(6): p. 893-899.
222. Lukina E, Watman N, Dragosky M, Lau H, Avila Arreguin E, Rosenbaum H, Zimran A, Foster MC, Gaemers SJM, Peterschmitt MJ. Outcomes after 8 years of eliglustat therapy for Gaucher disease type 1: Final results from the Phase 2 trial. *Am J Hematol.* 2019 Jan; 94(1): p. 29-38.
223. Lukina E, Watman N, Dragosky M, Pastores GM, Arreguin EA, Rosenbaum H, Zimran A, Angell J, Ross L, Puga AC, Peterschmitt JM. Eliglustat, an investigational oral therapy for Gaucher disease type 1: Phase 2 trial results after 4 years of treatment. *Blood Cells Mol Dis.* 2014 Dec; 53(4): p. 274-276.
224. Mistry PK, Lukina E, Ben Turkia H, Amato D, Baris H, Dasouki M, Ghosn M, Mehta A, Packman S, Pastores G, Petakov M, Assouline S, Balwani M, Danda S, Hadjiev E, Ortega A, Shankar S, Solano MH, Ross L, Angell J, Peterschmitt MJ. Effect of oral eliglustat on splenomegaly in patients with Gaucher disease type 1: the ENGAGE randomized clinical trial. *JAMA.* 2015 Feb 17; 313(7): p. 695-706.
225. Becquemont L. Type 1 Gaucher disease (CYP2D6-eliglustat). *Therapie.* 2017 Apr; 72(2): p. 323-326.
226. European Medicine Agency. [Online].; 1995 [cited 2019 Febrero. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/114974001/FT_114974001.html.
227. Pharmacodia. [Online].; 2020 [cited Feb 2020. Available from: <https://www.pharmacodia.com/yaodu/html/v1/chemicals/f87e955fd6b89f8963b6934beeb077d6e.html>.
228. Li J, Chen J, Kanamaluru V, Gaemers SJM, Peterschmitt MJ, Hou AW, Xue Y, Turpault S, Rudin D. Impact of hepatic and renal impairment on the

- pharmacokinetics and tolerability of eliglustat therapy for Gaucher disease type 1. *Mol Genet Metab.* 2020 Feb; 129(2): p. 117-124.
229. Brinkmann U, Eichelbaum M. Polymorphisms in the ABC drug transporter gene MDR1. *Pharmacogenomics J.* 2001; 1(1): p. 59-64.
230. Fromm MF. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends Pharmacol Sci.* 2004 Aug; 25(8): p. 423-429.
231. Shayman JA. The design and clinical development of inhibitors of glycosphingolipid synthesis: will invention be the mother of necessity? *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2013; 124: p. 46-60.
232. Larsen SD, Wilson MW, Abe A, Shu L, George CH, Kirchhoff P, Showalter HD, Xiang J, Keep RF, Shayman JA. Property-based design of a glucosylceramide synthase inhibitor that reduces glucosylceramide in the brain. *J Lipid Res.* 2012 Feb; 53(2): p. 282-291.
233. Vademecum. [Online].; 2010 [cited 2020 Feb. Available from: https://www.vademecum.es/medicamento-cerdelga+caps.+dura+84+mg_prospecto_114974001].
234. Ruskin JN, Ortemann-Renon C, Ross L, Mankoski R, Puga AC, Peterschmitt MJ. Electrocardiographic evaluation of eliglustat: results of a thorough QT study and phase 2 and 3 clinical trials [abstract]. In European working group on Gaucher disease 11th meeting; 2014; Haifa, Israel.
235. Parenti G. Treating lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: from concept to clinics. *EMBO Mol Med.* 2009 Aug; 1(5): p. 268-279.
236. Maegawa GH, Tropak MB, Buttner JD, Rigat BA, Fuller M, Pandit D, Tang L, Kornhaber GJ, Hamuro Y, Clarke JT, Mahuran DJ. Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease. *J Biol Chem.* 2009 Aug 28; 284(35): p. 23502-23516.
237. McNeill A, Magalhaes J, Shen C, Chau KY, Hughes D, Mehta A, Foltynie T, Cooper JM, Abramov AY, Gegg M, Schapira AH. Ambroxol improves lysosomal biochemistry in glucocerebrosidase mutation-linked Parkinson disease cells. *Brain.* 2014 May; 137(Pt 5): p. 1481-1495.
238. Kanehisa Laboratories. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Online].; 1995 [cited 2019 Jun. Available from: https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D01479].
239. AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios). Cima. [Online].; 2017 [cited 2019. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/62248/62248_ft.pdf].
240. Ishiguro N, Senda C, Kishimoto W, Sakai K, Funae Y, Igarashi T. Identification of CYP3A4 as the predominant isoform responsible for the metabolism of ambroxol in human liver microsomes. *Xenobiotica.* 2000 Jan; 30(1): p. 71-80.
241. Ishay Y, Zimran A, Szer J, Dinur T, Ilan Y, Arkadir D. Combined beta-glucosylceramide and ambroxol hydrochloride in patients with Gaucher

- related Parkinson disease: From clinical observations to drug development. *Blood Cells Mol Dis*. 2018 Feb; 68: p. 117-120.
242. Migdalska-Richards A, Daly L, Bezard E, Schapira AH. Ambroxol effects in glucocerebrosidase and α -synuclein transgenic mice. *Ann Neurol*. 2016 Nov; 80(5): p. 766-775.
243. Kumar L. Haematopoietic stem cell transplantation: current status. *Natl Med J India*. 2007 May-Jun; 20(3): p. 128-137.
244. Somaraju UR, Tadepalli K. Hematopoietic stem cell transplantation for Gaucher disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Oct 18; 10: p. CD006974.
245. Ito S, Barrett AJ. Gauchers disease--a reappraisal of hematopoietic stem cell. *Pediatr Hematol Oncol*. 2013 Mar; 30(2): p. 61-70.
246. Young E, Chatterton C, Vellodi A, Winchester B. Plasma chitotriosidase activity in Gaucher disease patients who have been treated either by bone marrow transplantation or by enzyme replacement therapy with alglucerase. *J Inherit Metab Dis*. 1997 Aug; 20(4): p. 595-602.
247. Sgambato JA, Park TS, Miller D, Panicker LM, Sidransky E, Lun Y, Awad O, Bentzen SM, Zambidis ET, Feldman RA. Gaucher Disease-Induced Pluripotent Stem Cells Display Decreased Erythroid Potential and Aberrant Myelopoiesis. *Stem Cells Transl Med*. 2015 Aug; 4(8): p. 878-86.
248. Ibarzabal Lachada G. Reacciones adversas a medicamentos en un hospital de media-larga estancia. *Metas Enferm*. May 2015; 18(4): p. 19-24.
249. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. [Online].; 2018 [cited 2020 Abril. Available from: <https://cofzaragoza.org/reacciones-adversas-a-medicamentos-y-la-importancia-de-notificarlas/>.
250. APPF. [Online].; 2020 [cited 2020 Abril. Available from: [https://www.appf.edu.es/factores-endogenos-exogenos-crecimiento/#%C2%BFQue se consideran factores endogenos](https://www.appf.edu.es/factores-endogenos-exogenos-crecimiento/#%C2%BFQue%20se%20consideran%20factores%20endogenos).
251. Tejada Cifuentes F. Hepatotoxicidad por Fármacos. *Rev Clín Med Fam*. 2010 Mar 30; 3(3): p. 177-191.
252. Roses AD. Pharmacogenetics. *Hum Mol Genet*. 2001 Oct 1; 10(20): p. 2261-2267.
253. NIH. Instituto Nacional del Cáncer. [Online].; 2016 [cited 2020 Abril. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/farmacogenetica>.
254. Prior González OA, Garza González E, Fuentes de la Fuente HA, Rodríguez Leal C, Maldonado Garza HJ, Bosques Padilla FJ. Farmacogenética y su importancia clínica: hacia una terapia personalizada segura y eficiente. Elsevier. 2011 Enero; 13(50): p. 41-49.
255. Alessandra1896. Scribd. [Online].; 2017 [cited 2020 Feb. Available from: <https://es.scribd.com/document/353321854/Historia-de-La-Farmacogenetica>.

256. Garrod A. Inborn Errors of Metabolism. 2nd ed. Stoughton HFAH&, editor. Londres: The Lancet Building; 1923.
257. Ford EB. Polymorphism and Taxonomy Huxley J, editor. Oxford: The New Systematics; 1940.
258. Philip H. Genetics of Populations: Jones & Bartlett Learning; 2011.
259. Motulsky AG. Drug reactions enzymes, and biochemical genetics. J Am Med Assoc. 1957 Oct 19; 165(57): p. 835-837.
260. Vogel F. Moderne probleme der humangenetik. Ergeb Inn Med Kinderheilkd. 1959; 12: p. 52-62.
261. Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. Science. 1956 Sep 14; 124(3220): p. 484-485.
262. Harris HW, Knight RA, Selin MJ. Comparison of isoniazid concentrations in the blood of people of Japanese and European descent; therapeutic and genetic implications. Am Rev Tuberc. 1958 Dec; 78(6): p. 944-948.
263. Kalow W. The Pennsylvania State University College of Medicine 1990 Bernard B. Brodie Lecture. Pharmacogenetics: past and future. Life Sci. 1990; 47(16): p. 1385-1397.
264. Vesell ES. Advances in pharmacogenetics. Prog Med Genet. 1973; 9: p. 291-367.
265. Genoma España. [Online].; 2008 [cited 2020 Feb. Available from: https://web.archive.org/web/20081207181141/http://www.gen-es.org/13_plat/13_plat.cfm?pag=0400].
266. Genoma España. [Online].; 2008 [cited 2020 Feb. Available from: https://web.archive.org/web/20081207181131/http://www.gen-es.org/01_info/01_info.cfm?pag=0002].
267. FDA. U.S. Food and Drug Administration. [Online].; 2007 [cited 2020 Feb. Available from: <https://web.archive.org/web/20080917233427/http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/new01149.html>].
268. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. Nature. 2005 Oct 27; 437(7063): p. 1299-1320.
269. UniProt. [Online].; 2002 [cited 2020 Feb. Available from: <https://www.uniprot.org/news/2008/09/02/release>].
270. Relling MV, Klein TE. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. Clin Pharmacol Ther. 2011 Mar; 89(3): p. 464-467.
271. BBC News. [Online].; 2019 [cited 2020 Feb. Available from: <http://news.bbc.co.uk/2/hi/science/nature/2940601.stm>].

272. Calvo M, García M, Martínez J, Fernández M. SEFH. [Online]. [cited 2020 Abril. Available from: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo1/cap212.pdf>.
273. Rodríguez Palomares C, Obrador Vera GT,. Fichero Farmacológico. Primera ed. Interamericana Editores SAdCV, editor.: McGraw Hill; 2013.
274. Daly AK. Pharmacogenetics: a general review on progress to date. Br Med Bull. 2017 Dec 1; 124(1): p. 65-79.
275. Wood AJ, Zhou HH. Ethnic differences in drug disposition and responsiveness. Clin Pharmacokinet. 1991 May; 20(5): p. 350-373.
276. Gonzalez FJ, Idle JR. Pharmacogenetic phenotyping and genotyping. Present status and future potential. Clin Pharmacokinet. 1994 Jan; 26(1): p. 59-70.
277. Brosen K. Recent developments in hepatic drug oxidation. Implications for clinical pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet. 1990 Mar; 18(3): p. 220-239.
278. Steimer W, Potter JM. Pharmacogenetic screening and therapeutic drugs. Clin Chim Acta. 2002 Jan; 315(1-2): p. 137-155.
279. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. J Intern Med. 2001 Sep; 250(3): p. 186-200.
280. Manual MSD. [Online].; 2020 [cited 2020 Feb. Available from: <https://www.msdmanuals.com/es-es/professional/farmacolog%C3%ADa-cl%C3%ADnica/farmacocin%C3%A9tica/metabolismo-de-los-f%C3%A1rmacos>.
281. Donato Martín MT. Universidad de Valencia. [Online]. [cited 2020 Abril. Available from: <https://www.uv.es/~jcastell/Citocromo P450.pdf>.
282. Guengerich FP. Cytochrome P450 research and The Journal of Biological Chemistry. J Biol Chem. 2019 Feb 1; 294(5): p. 1671-1680.
283. Meech R, Hu DG, McKinnon RA, Mubarakah SN, Haines AZ, Nair PC, Rowland A, Mackenzie PI. The UDP-Glycosyltransferase (UGT) Superfamily: New Members, New Functions, and Novel Paradigms. Physiol Rev. 2019 Apr 1; 99(2): p. 1153-1222.
284. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. Pharmacol Ther. 2013 Apr; 138(1): p. 103-141.
285. Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1993 Dec 15; 90(24): p. 11825-11829.
286. Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. Clin Pharmacol Ther. 2006 Jan; 79(1): p. 103-113.

287. Wojtczak A, Skretkowicz J. [Clinical significance of some genetic polymorphisms of cytochrome P-450 subfamilies CYP2D, CYP2E and CYP3A--part II]. *Pol Merkur Lekarski*. 2009 Aug; 27(158): p. 166-169.
288. Hohmann N, Haefeli WE, Mikus G. CYP3A activity: towards dose adaptation to the individual. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016 May; 12(5): p. 479-497.
289. Mayo Clinic. [Online].; 1998-2020 [cited 2020 Abril. Available from: <https://www.mayoclinic.org/es-es/tests-procedures/cyp450-test/about/pac-20393711>.
290. Universidad Nacional Autónoma de México. [Online]. [cited 2020 Abril. Available from: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/farmacos_y_proteinas_4329.pdf.
291. Oromí Durich J. *Farmacogenética: nuevas perspectivas terapéuticas*. Elsevier. 2003 Jan; 41(1): p. 1-3.
292. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies AT. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Jul; 54(7): p. 709-735.
293. Sabater-Tobella J. *Medicina personalizada Genómica*. [Online].; 2018 [cited 2020 Abril. Available from: <https://www.medicinapersonalizadagenomica.com/farmacogenetica-definicion/#.Xqk5aGgzbIU>.
294. Instituto Roche. [Online].; 2019 [cited 2020 Feb. Available from: <https://www.institutoroche.es/recursos/publicaciones>.
295. Sanaris JL. *Genoma y Medicina*. Segunda ed.: Genoma España; 2004.
296. Marx V. The DNA of a nation. *Nature*. 2015 Aug 27; 524(7566): p. 503-505.
297. Rasmussen-Torvik LJ, Stallings SC, Gordon AS et al. Design and anticipated outcomes of the eMERGE-PGx project: a multicenter pilot for preemptive pharmacogenomics in electronic health record systems. *Clin Pharmacol Ther*. 2014 Oct; 96(4): p. 482-489.
298. van der Wouden CH, Cambon-Thomsen A, Cecchin E et al. Implementing Pharmacogenomics in Europe: Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2017 Mar; 101(3): p. 341-358.
299. Barrett JC, Dunham I and Birney E. Using human genetics to make new medicines. *Nat Rev Genet*. 2015 Oct; 16(10): p. 561-562.
300. Nelson MR, Tipney H, Painter JL et al. The support of human genetic evidence for approved drug indications. *Nat Genet*. 2015 Aug; 47(8): p. 856-860.
301. Hyman DM, Taylor BS, Baselga J. Implementing Genome-Driven Oncology. *Cell*. 2017 Feb 9; 168(4): p. 584-599.

302. Torrades S. Farmacogenética: la medicina a la carta. Elsevier. 2002 Nov; 21(10): p. 126-130.
303. Ruíz M, López C. Enciclopedia de Bioderecho y Bioética. [Online].; 2020 [cited 2020 Feb. Available from: <https://enciclopedia-bioderecho.com/voces/155>.
304. Armstrong SC, Cole MA (M.D.), Cozza KL. The Cytochrome P450 System. Drug Interaction Principles for Medical Practice Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2001.
305. Shulman RW, Ozdemir V. Psychotropic Medications and Cytochrome P450 2D6: Pharmacokinetic Considerations in the Elderly. Can J Psychiatry. 1997; 42(1): p. 4-9.
306. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual 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 Jul; 270(1): p. 414-423.
307. Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. N Engl J Med. 2005 May 26; 352(21): p. 2211-2221.
308. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. Clin Pharmacokinet. 2009a; 48(11): p. 689-723.
309. Luminex Molecular Diagnostics, Inc. xTAG CYP2D6 Kit v3. Protocolo. Toronto, ON, Canadá: Empresa; 2013. Report No.: M5G 1Y8.
310. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. Lancet. 2000 Nov 11; 356(9242): p. 1667-1671.
311. Goshman L, Fish J, et al. Clinically Significant Cytochrome P450 Drug Interactions. J Pharm Soc Wisconsin. 1999 May-Jun;(23-28).
312. Preskorn SH. Pharmacology of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. 1st ed.: Professional Communications, Inc; 1996.
313. Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. Clin Pharmacokinet. 2002; 41(12): p. 913-958.
314. Guervasini G, Carrillo JA, Benítez J. Importancia del citocromo P-450 en terapéutica farmacológica. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2004.
315. Xie HG, Kim RB, Wood AJ, Stein CM. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2001; 41: p. 815-850.
316. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. Pharmacogenomics. 2002 Mar; 3(2): p. 229-243.
317. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the

- polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet.* 1989 Dec; 45(6): p. 889-904.
318. Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, Meyer UA, Broly F. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics.* 1997 Jun; 7(3): p. 193-202.
319. Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet.* 1997 Feb; 60(2): p. 284-295.
320. Panserat S, Mura C, Gérard N, Vincent-Viry M, Galteau MM, Jacqz-Aigrain E, Krishnamoorthy R. DNA haplotype-dependent differences in the amino acid sequence of debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6): evidence for two major allozymes in extensive metabolisers. *Hum Genet.* 1994 Oct; 94(4): p. 401-406.
321. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griese EU, Schwab M, Zanger UM. Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6. *Pharmacogenetics.* 2000 Oct; 10(7): p. 577-581.
322. Sakuyama K, Sasaki T, Ujiie S, Obata K, Mizugaki M, Ishikawa M, Hiratsuka M. Functional characterization of 17 CYP2D6 allelic variants (CYP2D6.2, 10, 14A-B, 18, 27, 36, 39, 47-51, 53-55, and 57). *Drug Metab Dispos.* 2008 Dec; 36(12): p. 2460-2467.
323. Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA. Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem.* 1990 Oct 5; 265(28): p. 17209-17214.
324. Gough AC, Miles JS, Spurr NK, Moss JE, Gaedigk A, Eichelbaum M, Wolf CR. Identification of the primary gene defect at the cytochrome P450 CYP2D6 locus. *Nature.* 1990 Oct 25; 347(6295): p. 773-776.
325. Hanioka N, Kimura S, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human CYP2D locus associated with a common genetic defect in drug oxidation: a G1934→A base change in intron 3 of a mutant CYP2D6 allele results in an aberrant 3' splice recognition site. *Am J Hum Genet.* 1990 Dec; 47(6): p. 994-1001.
326. Gaedigk A, Blum M, Gaedigk R, Eichelbaum M, Meyer UA. Deletion of the entire cytochrome P450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1991 May; 48(5): p. 943-950.
327. Steen VM, Molven A, Aarskog NK, Gulbrandsen AK. Homologous unequal cross-over involving a 2.8 kb direct repeat as a mechanism for the generation of allelic variants of human cytochrome P450 CYP2D6 gene. *Hum Mol Genet.* 1995 Dec; 4(12): p. 2251-2257.

328. Evert B, Griese EU, Eichelbaum M. Cloning and sequencing of a new non-functional CYP2D6 allele: deletion of T1795 in exon 3 generates a premature stop codon. 1994. Oct; 4(5): p. 271-274.
329. Saxena R, Shaw GL, Relling MV, Frame JN, Moir DT, Evans WE, Caporaso N, Weiffenbach B. Identification of a new variant CYP2D6 allele with a single base deletion in exon 3 and its association with the poor metabolizer phenotype. Hum Mol Genet. 1994 Jun; 3(6): p. 923-926.
330. Daly AK, Leathart JB, London SJ, Idle JR. An inactive cytochrome P450 CYP2D6 allele containing a deletion and a base substitution. Hum Genet. 1995 Mar; 95(3): p. 337-341.
331. Broly F, Marez D, Lo Guidice JM, Sabbagh N, Legrand M, Boone P, Meyer UA. A nonsense mutation in the cytochrome P450 CYP2D6 gene identified in a Caucasian with an enzyme deficiency. Hum Genet. 1995 Nov; 96(5): p. 601-603.
332. Tyndale R, Aoyama T, Broly F, Matsunaga T, Inaba T, Kalow W, Gelboin HV, Meyer UA, Gonzalez FJ. Identification of a new variant CYP2D6 allele lacking the codon encoding Lys-281: possible association with the poor metabolizer phenotype. Pharmacogenetics. 1991 Oct; 1(1): p. 26-32.
333. Broly F, Meyer UA. Debrisoquine oxidation polymorphism: phenotypic consequences of a 3-base-pair deletion in exon 5 of the CYP2D6 gene. Pharmacogenetics. 1993 Jun; 3(3): p. 123-130.
334. Johansson I, Oscarson M, Yue QY, Bertilsson L, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation. Mol Pharmacol. 1994 Sep; 46(3): p. 452-459.
335. Tateishi T, Chida M, Ariyoshi N, Mizorogi Y, Kamataki T, Kobayashi S. Analysis of the CYP2D6 gene in relation to dextromethorphan O-demethylation capacity in a Japanese population. Clin Pharmacol Ther. 1999 May; 65(5): p. 570-575.
336. Garcia-Barceló M, Chow LY, Chiu HF, Wing YK, Lee DT, Lam KL, Waye MM. Genetic analysis of the CYP2D6 locus in a Hong Kong Chinese population. Clin Chem. 2000 Jan; 46(1): p. 18-23.
337. Ismail R, Teh LK, Amir J, Alwi Z, Lopez CG. Genetic polymorphism of CYP2D6 in Chinese subjects in Malaysia. J Clin Pharm Ther. 2003 Aug; 28(4): p. 279-284.
338. Yokota H, Tamura S, Furuya H, Kimura S, Watanabe M, Kanazawa I, Kondo I, Gonzalez FJ. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. Pharmacogenetics. 1993 Oct; 3(5): p. 256-263.
339. Ishiguro A, Kubota T, Sasaki H, Iga T. A long PCR assay to distinguish CYP2D6*5 and a novel CYP2D6 mutant allele associated with an 11-kb EcoRI haplotype. Clin Chim Acta. 2004 Sep; 347(1-2): p. 217-221.

340. Marez D, Sabbagh N, Legrand M, Lo-Guidice JM, Boone P, Broly F. A novel CYP2D6 allele with an abolished splice recognition site associated with the poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenetics*. 1995 Oct; 5(5): p. 305-311.
341. Masimirembwa C, Persson I, Bertilsson L, Hasler J, Ingelman-Sundberg M. A novel mutant variant of the CYP2D6 gene (CYP2D6*17) common in a black African population: association with diminished debrisoquine hydroxylase activity. *Br J Clin Pharmacol*. 1996 Dec; 42(6): p. 713-719.
342. Oscarson M, Hidestrand M, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. A combination of mutations in the CYP2D6*17 (CYP2D6Z) allele causes alterations in enzyme function. *Mol Pharmacol*. 1997 Dec; 52(6): p. 1034-1040.
343. Wennerholm A, Johansson I, Hidestrand M, Bertilsson L, Gustafsson LL, Ingelman-Sundberg M. Characterization of the CYP2D6*29 allele commonly present in a black Tanzanian population causing reduced catalytic activity. *Pharmacogenetics*. 2001 Jul; 11(5): p. 417-427.
344. Wennerholm A, Dandara C, Sayi J, Svensson JO, Abdi YA, Ingelman-Sundberg M, Bertilsson L, Hasler J, Gustafsson LL. The African-specific CYP2D6*17 allele encodes an enzyme with changed substrate specificity. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Jan; 71(1): p. 77-88.
345. Ikenaga Y, Fukuda T, Fukuda K, Nishida Y, Naohara M, Maune H, Azuma J. The frequency of candidate alleles for CYP2D6 genotyping in the Japanese population with an additional respect to the -1584C to G substitution. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2005 Apr; 20(2): p. 113-116.
346. Gaedigk A, Ryder DL, Bradford LD, Leeder JS. CYP2D6 poor metabolizer status can be ruled out by a single genotyping assay for the -1584G promoter polymorphism. *Clin Chem*. 2003 Jun; 49(6 Pt 1): p. 1008-1011.
347. Raimundo S, Toscano C, Klein K, Fischer J, Griese EU, Eichelbaum M, Schwab M, Zanger UM. A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2004 Aug; 76(2): p. 128-138.
348. Fonne-Pfister R, Bargetzi MJ, Meyer UA. MPTP, the neurotoxin inducing Parkinson's disease, is a potent competitive inhibitor of human and rat cytochrome P450 isozymes (P450bufI, P450db1) catalyzing debrisoquine 4-hydroxylation. *Biochemical and biophysical research communications*. 1987; 148(3): p. 1144-1150.
349. Appel R, Bairoch A, Philipp Bucher, Hochstrasser D, Jongeneel CV, Peitsch M. ExPASy, SIB: Swiss Institute of Bioinformatics. [Online].; 1993 [cited 2019 Jun. Available from: <https://enzyme.expasy.org/EC/1.14.13.32>.
350. Appel R, Bairoch A, Philipp Bucher, Hochstrasser D, Jongeneel CV, Peitsch M. ExPASy, SIB: Swiss Institute of Bioinformatics. [Online].; 1993 [cited 2019 Jun. Available from: <https://enzyme.expasy.org/EC/1.14.14.55>.
351. National Center for Biotechnology Information (NCBI). [Online].; 1988 [cited 2019 Jun. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1576>.

352. Robertson GR, Field J, Goodwin B, Bierach S, Tran M, Lehnert A, Liddle C. Transgenic mouse models of human CYP3A4 gene regulation. *Mol Pharmacol*. 2003 Jul; 64(1): p. 42-50.
353. García-Martín E, Martínez C, Pizarro RM, García-Gamito FJ, Gullsten H, Raunio H, Agúndez JA. CYP3A4 variant alleles in white individuals with low CYP3A4 enzyme activity. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Mar; 71(3): p. 196-204.
354. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*. 2014 Sep; 96(3): p. 340-348.
355. Wang D, Guo Y, Wrighton SA, Cooke GE, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J*. 2011 Aug; 11(4): p. 274-286.
356. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*. 2010a Mar; 49(3): p. 141-175.
357. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet*. 2010b Apr; 49(4): p. 207-221.
358. Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Aug 19; 90(16): p. 1225-1229.
359. Wang D, Sadee W. The Making of a CYP3A Biomarker Panel for Guiding Drug Therapy. *J Pers Med*. 2012 Oct 29; 2(4): p. 175-191.
360. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Boguski MS, Schuetz E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*. 2001 Apr; 27(4): p. 383-391.
361. Westlind A, Löfberg L, Tindberg N, Andersson TB, Ingelman-Sundberg M. Interindividual differences in hepatic expression of CYP3A4: relationship to genetic polymorphism in the 5'-upstream regulatory region. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 May 27; 259(1): p. 201-205.
362. Hamzeiy H, Vahdati-Mashhadian N, Edwards HJ, Goldfarb PS. Mutation analysis of the human CYP3A4 gene 5' regulatory region: population screening using non-radioactive SSCP. *Mutat Res*. 2002 Mar 20; 500(1-2): p. 103-110.
363. Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, Kurose K, Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Hanai S, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Goto Y, Kimura H, Katoh M, Sugai K, Minami N, Shirao K, Tamura T et al. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat*. 2004 Jan; 23(1): p. 100.

364. Amirimani B, Walker AH, Weber BL, Rebbeck TR. RESPONSE: remodeling of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Sep 15; 91(18): p. 1588-1590.
365. Ando Y, Tateishi T, Sekido Y, Yamamoto T, Satoh T, Hasegawa Y, Kobayashi S, Katsumata Y, Shimokata K, Saito H. Re: Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Sep 15; 91(18): p. 1587-1590.
366. Wojnowski L, Kamdem LK. Clinical implications of CYP3A polymorphisms. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2006 Apr; 2(2): p. 171-182.
367. Lamba JK, Lin YS, Thummel K, Daly A, Watkins PB, Strom S, Zhang J, Schuetz EG. Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics.* 2002 Mar; 12(2): p. 121-132.
368. Spurdle AB, Goodwin B, Hodgson E, Hopper JL, Chen X, Purdie DM, McCredie MR, Giles GG, Chenevix-Trench G, Liddle C. The CYP3A4*1B polymorphism has no functional significance and is not associated with risk of breast or ovarian cancer. *Pharmacogenetics.* 2002 Jul; 12(5): p. 355-366.
369. Ball SE, Scatina J, Kao J, Ferron GM, Fruncillo R, Mayer P, Weinryb I, Guida M, Hopkins PJ, Warner N, Hall J. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther.* 1999 Sep; 66(3): p. 288-294.
370. Zeigler-Johnson C, Friebel T, Walker AH, Wang Y, Spangler E, Panossian S, Patacsil M, Aplenc R, Wein AJ, Malkowicz SB, Rebbeck TR. CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A43 genotypes and haplotypes in the etiology and severity of prostate cancer. *Cancer Res.* 2004 Nov 15; 64(22): p. 8461-8467.
371. Elens L, Bouamar R, Hesselink DA, Haufroid V, van der Heiden IP, van Gelder T, van Schaik RHN. A new functional CYP3A4 intron 6 polymorphism significantly affects tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Clin Chem.* 2011 Nov; 57(11): p. 1574-1583.
372. Wang Z, Lin YS, Dickmann LJ, Poulton EJ, Eaton DL, Lampe JW, Shen DD, Davis CL, Shuhart MC, Thummel KE. Enhancement of hepatic 4-hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D3 through CYP3A4 induction in vitro and in vivo: implications for drug-induced osteomalacia. *J Bone Miner Res.* 2013 May; 28(5): p. 1101-1116.
373. PharmVar. [Online].; 2020 [cited Feb 2020. Available from: <http://www.cypalleles.ki.se/>].
374. Walker AH, Jaffe JM, Gunasegaram S, Cummings SA, Huang CS, Chern HD, Olopade OI, Weber BL, Rebbeck TR. Characterization of an allelic variant in the nifedipine-specific element of CYP3A4: ethnic distribution and implications for prostate cancer risk. *Mutations in brief no. 191. Online. Hum Mutat.* 1998; 12(4): p. 889.
375. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther.* 2017 Oct; 102(4): p. 688-700.

376. Lee JS, Cheong HS, Kim LH, Kim JO, Seo DW, Kim YH, Chung MW, Han SY, Shin HD. Screening of Genetic Polymorphisms of CYP3A4 and CYP3A5 Genes. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2013 Dec; 17(6): p. 479-484.
377. Bains RK. African variation at Cytochrome P450 genes: Evolutionary aspects and the implications for the treatment of infectious diseases. *Evol Med Public Health*. 2013 Jan; 2013(1): p. 118-134.
378. Müge AS, Inzi Y, Özden H, Ugur Ö. Common Cytochrome p4503A (CYP3A4 and CYP3A5) and Thiopurine S-Methyl Transferase (TPMT) Polymorphisms In Turkish Population. *Turk J Med Sci*. 2005 Aug 09; 36(2006): p. 11-15.
379. Elens L, van Gelder T, Hesselink DA, Haufroid V, van Schaik RH. CYP3A4*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalizing pharmacotherapy. *Pharmacogenomics*. 2013 Jan; 14(1): p. 47-62.
380. Okubo M, Murayama N, Shimizu M, Shimada T, Guengerich FP, Yamazaki H. The CYP3A4 intron 6 C>T polymorphism (CYP3A4*22) is associated with reduced CYP3A4 protein level and function in human liver microsomes. *J Toxicol Sci*. 2013; 38(3): p. 349-354.
381. Anglicheau D, Flamant M, Schlageter MH, Martinez F, Cassinat B, Beaune P, Legendre C, Thervet E. Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Nov; 18(11): p. 2409-2414.
382. Greenblatt DJ, von Moltke LL, Schmider J, Harmatz JS, Shader RI. Inhibition of human cytochrome P450-3A isoforms by fluoxetine and norfluoxetine: in vitro and in vivo studies. *J Clin Pharmacol*. 1996 Sep; 36(9): p. 792-798.
383. Ring BJ, Binkley SN, Roskos L, Wrighton SA. Effect of fluoxetine, norfluoxetine, sertraline and desmethyl sertraline on human CYP3A catalyzed 1'-hydroxy midazolam formation in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995 Dec; 275(3): p. 1131-1135.
384. von Moltke LL, Greenblatt DJ, Schmider J, Duan SX, Wright CE, Harmatz JS, Shader RI. Midazolam hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by fluoxetine, norfluoxetine, and byazole antifungal agents. *J Clin Pharmacol*. 1996 Sep; 36(9): p. 783-791.
385. Sproule BA, Naranjo CA, Brenner KE, Hassan PC. Selective serotonin reuptake inhibitors and CNS drug interactions. A critical review of the evidence. *Clin Pharmacokinet*. 1997 Dec; 33(6): p. 454-471.
386. Baumann P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of the selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacokinet*. 1996 Dec; 31(6): p. 444-469.
387. Greenblatt DJ, von Moltke LL, Harmatz JS, Fogelman SM, Chen G, Graf JA, Mertzanis P, Byron S, Culm KE, Granda BW, Daily JP, Shader RI. Short-term exposure to low-dose ritonavir impairs clearance and enhances adverse effects of trazodone. *J Clin Pharmacol*. 2003 Apr; 43(4): p. 414-422.

388. Wright DH, Lake KD, Bruhn PS, Emery RW Jr. Nefazodone and cyclosporine drug-drug interaction. *J Heart Lung Transplant*. 1999 Sep; 18(9): p. 913-915.
389. Naranjo CA, Sproule BA, Knoke DM. Metabolic interactions of central nervous system medications and selective serotonin reuptake inhibitors. *Int Clin Psychopharmacol*. 1999 May; 14(2): p. S35-S47.
390. Voirol P, Jonzier-Perey M, Porchet F, Reymond MJ, Janzer RC, Bouras C, Strobel HW, Kosel M, Eap CB, Baumann P. Cytochrome P-450 activities in human and rat brain microsomes. *Brain Res*. 2000 Feb 14; 855(2): p. 235-243.
391. Martínez C, Gervasini G, Agúndez JA, Carrillo JA, Ramos SI, García-Gamito FJ, Gallardo L, Benítez J. Modulation of midazolam 1-hydroxylation activity in vitro by neurotransmitters and precursors. *Eur J Clin Pharmacol*. 2000 May; 56(2): p. 145-151.
392. Appel R, Bairoch A, Philipp Bucher, Hochstrasser D, Jongeneel CV, Peitsch M. ExPASy, SIB: Swiss Institute of Bioinformatics. [Online].; 1993 [cited 2019 Jul. Available from: <https://enzyme.expasy.org/EC/7.6.2.2>.
393. Kanehisa Laboratories. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Online].; 1995 [cited 2019. Available from: https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?ko:K05658.
394. Fromm MF. The Influence of MDR1 Polymorphisms on P-glycoprotein Expression and Function in Humans. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002 Nov 18; 54(10): p. 1295-1310.
395. Watkins PB. The Barrier Function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the Small Bowel. *Adv Drug Deliv Rev*. 1997 Sep 15; 27(2-3): p. 161-170.
396. Benet LZ, Cummins CL. The Drug Efflux-Metabolism Alliance: Biochemical Aspects. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001 Oct 1; 50(Suppl 1): p. S3-S11.
397. Ayrton A, Morgan P. Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion. *Xenobiotica*. 2001 Aug-Sep; 31(8-9): p. 469-497.
398. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1999; 39: p. 361-398.
399. Dean M. The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily. Frederick (USA): National Cancer Institute-Frederick, Human Genetics Section, Laboratory of Genomic Diversity; 2002 Nov.
400. Aller SG, Yu J, Ward A, Weng Y, Chittaboina S, Zhuo R, Harrell PM, Trinh YT, Zhang Q, Urbatsch IL, Chang G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science*. 2009 Mar 27; 323(5922): p. 1718-1722.
401. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1976 Nov 11; 455(1): p. 152-162.

402. Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003; 43: p. 285-307.
403. Li YH, Wang YH, Li Y, Yang L. MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance. *Yi Chuan Xue Bao.* 2006 Feb; 33(2): p. 93-104.
404. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. [Online]. [cited 2019 Jul. Available from: http://formacion.sefh.es/curso_interacciones/modulo4/interacciones_modulo4.pdf].
405. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics.* 2003 Jul; 4(4): p. 397-410.
406. Chen YK, Han LZ, Xue F, Shen CH, Lu J, Yang TH, Zhang JJ, Xia Q. Personalized tacrolimus dose requirement by CYP3A5 but not ABCB1 or ACE genotyping in both recipient and donor after pediatric liver transplantation. *PLoS One.* 2014 Oct 13; 9(10): p. e109464.
407. NIH. NCBI-dbSNP. [Online]. [cited 2019 Jul. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1128503>].
408. Jiang B, Yan LJ, Wu Q. ABCB1 (C1236T) Polymorphism Affects P-Glycoprotein-Mediated Transport of Methotrexate, Doxorubicin, Actinomycin D, and Etoposide. *DNA Cell Biol.* 2019 May; 38(5): p. 485-490.
409. 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 Jun; 7(3): p. 154-179.
410. Schaich M, Kestel L, Pfirrmann M, Robel K, Illmer T, Kramer M, Dill C, Ehninger G, Schackert G, Krex D. A MDR1 (ABCB1) gene single nucleotide polymorphism predicts outcome of temozolomide treatment in glioblastoma patients. *Ann Oncol.* 2009 Jan; 20(1): p. 175-181.
411. Zhang YT, Yang LP, Shao H, Li KX, Sun CH, Shi LW. ABCB1 polymorphisms may have a minor effect on ciclosporin blood concentrations in myasthenia gravis patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2008 Aug; 66(2): p. 240-246.
412. Mathijssen RH, Marsh S, Karlsson MO, Xie R, Baker SD, Verweij J, Sparreboom A, McLeod HL. Irinotecan pathway genotype analysis to predict pharmacokinetics. *Clin Cancer Res.* 2003 Aug 15; 9(9): p. 3246-3253.
413. Estrela Rde C, Ribeiro FS, Barroso PF, Tuyama M, Gregório SP, Dias-Neto E, Struchiner CJ, Suarez-Kurtz G. ABCB1 polymorphisms and the concentrations of lopinavir and ritonavir in blood, semen and saliva of HIV-infected men under antiretroviral therapy. *Pharmacogenomics.* 2009 Feb; 10(2): p. 311-318.
414. Brambila-Tapia AJ. MDR1 (ABCB1) polymorphisms: functional effects and clinical implications. *Rev Invest Clin.* 2013 Sep-Oct; 65(5): p. 445-454.
415. Hemauer SJ, Nanovskaya TN, Abdel-Rahman SZ, Patrikeeva SL, Hankins GD, Ahmed MS. Modulation of human placental P-glycoprotein expression and

activity by MDR1 gene polymorphisms. *Biochem Pharmacol.* 2010 Mar 15; 79(6): p. 921-925.

416. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadée W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Oct; 15(10): p. 693-704.
417. Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, Gottesman MM. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science.* 2007 Jan 26; 315(5811): p. 525-528.
418. Hung CC, Chen CC, Lin CJ, Liou HH. Functional evaluation of polymorphisms in the human ABCB1 gene and the impact on clinical responses of antiepileptic drugs. *Pharmacogenet Genomics.* 2008 May; 18(5): p. 390-402.
419. Salama NN1, Yang Z, Bui T, Ho RJ. MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. *J Pharm Sci.* 2006 Oct; 95(10): p. 2293-2308.
420. NIH. NCBI-dbSNP. [Online]. [cited 2019 Jul. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2032582>.
421. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, Taylor A, Xie HG, McKinsey J, Zhou S, Lan LB, Schuetz JD, Schuetz EG, Wilkinson GR. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Aug; 70(2): p. 189-199.
422. Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR1 (ABCB1) gene polymorphism. *Ther Drug Monit.* 2004 Apr; 26(2): p. 180-185.
423. Owen A, Goldring C, Morgan P, Chadwick D, Park BK, Pirmohamed M. Relationship between the C3435T and G2677T(A) polymorphisms in the ABCB1 gene and P-glycoprotein expression in human liver. *Br J Clin Pharmacol.* 2005 Mar; 59(3): p. 365-370.
424. van den Heuvel-Eibrink MM, Wiemer EA, de Boevere MJ, van der Holt B, Vossebeld PJ, Pieters R, Sonneveld P. MDR1 gene-related clonal selection and P-glycoprotein function and expression in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2001 Jun 1; 97(11): p. 3605-3611.
425. Yamauchi A, Ieiri I, Kataoka Y, Tanabe M, Nishizaki T, Oishi R, Higuchi S, Otsubo K, Sugimachi K. Neurotoxicity induced by tacrolimus after liver transplantation: relation to genetic polymorphisms of the ABCB1 (MDR1) gene. *Transplantation.* 2002 Aug 27; 74(4): p. 571-572.
426. Oselin K, Gerloff T, Mrozikiewicz PM, Pähkla R, Roots I. MDR1 polymorphisms G2677T in exon 21 and C3435T in exon 26 fail to affect rhodamine 123 efflux in peripheral blood lymphocytes. *Fundam Clin Pharmacol.* 2003 Aug; 17(4): p. 463-469.
427. Morita N, Yasumori T, Nakayama K. Human MDR1 polymorphism: G2677T/A and C3435T have no effect on MDR1 transport activities. *Biochem Pharmacol.* 2003 Jun 1; 65(11): p. 1843-1852.

428. Kroetz DL, Pauli-Magnus C, Hodges LM, Huang CC, Kawamoto M, Johns SJ, Stryke D, Ferrin TE, DeYoung J, Taylor T, Carlson EJ, Herskowitz I, Giacomini KM, Clark AG. Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene. *Pharmacogenetics*. 2003 Aug; 13(8): p. 481-494.
429. Mai I, Perloff ES, Bauer S, Goldammer M, Johne A, Filler G, Budde K, Roots I. MDR1 haplotypes derived from exons 21 and 26 do not affect the steady-state pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2004 Nov; 58(5): p. 548-553.
430. Haas DW, Wu H, Li H, Bosch RJ, Lederman MM, Kuritzkes D, Landay A, Connick E, Benson C, Wilkinson GR, Kessler H, Kim RB. MDR1 gene polymorphisms and phase 1 viral decay during HIV-1 infection: an adult AIDS Clinical Trials Group study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003 Nov 1; 34(3): p. 295-298.
431. Kimchi-Sarfaty C, Gribar JJ, Gottesman MM. Functional characterization of coding polymorphisms in the human MDR1 gene using a vaccinia virus expression system. *Mol Pharmacol*. 2002 Jul; 62(1): p. 1-6.
432. Ensembl Web Site. [Online].; 2000 [cited 2019 Jul. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:87508829-87509829;v=rs1045642;vdb=variation;vf=415945390.
433. Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Penger A, Asante-Poku S, Zanger UM, Schwab M. Frequency of C3435T polymorphism of MDR1 gene in African people. *Lancet*. 2001 Aug; 358(9279): p. 383-384.
434. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A, Thornton N, Folayan GO, Githang'a J, Indalo A, Ofori-Adjei D, Price-Evans DA, McLeod HL. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics*. 2001 Apr; 11(3): p. 217-221.
435. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Roots I. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Mar; 69(3): p. 169-174.
436. Bernal ML, Sinues B, Fanlo A, Mayayo E. Frequency distribution of C3435T mutation in exon 26 of the MDR1 gene in a Spanish population. *Ther Drug Monit*. 2003 Feb; 25(1): p. 107-111.
437. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, Wood NW, Sisodiya SM. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med*. 2003 Apr 10; 348(15): p. 1442-1448.
438. Tan NC, Heron SE, Scheffer IE, Pelekanos JT, McMahon JM, Vears DF, Mulley JC, Berkovic SF. Failure to confirm association of a polymorphism in ABCB1 with multidrug-resistant epilepsy. *Neurology*. 2004 Sep 28; 63(6): p. 1090-1092.
439. Nakamura T, Sakaeda T, Horinouchi M, Tamura T, Aoyama N, Shirakawa T, Matsuo M, Kasuga M, Okumura K. Effect of the mutation (C3435T) at exon 26 of the MDR1 gene on expression level of MDR1 messenger ribonucleic acid

in duodenal enterocytes of healthy Japanese subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Apr; 71(4): p. 297-303.

440. Synold TW, Dussault I, Forman BM. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux. *Nat Med.* 2001 May; 7(5): p. 584-590.
441. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johné A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Mar 28; 97(7): p. 3473-3478.
442. Hodges LM, Markova SM, Chinn LW, Gow JM, Kroetz DL, Klein TE, Altman RB. Very Important Pharmacogene Summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenet Genomics.* 2011 Mar; 21(3): p. 152-161.
443. Leschziner G, Zabaneh D, Pirmohamed M, Owen A, Rogers J, Coffey AJ, Balding DJ, Bentley DB, Johnson MR. Exon Sequencing and High Resolution Haplotype Analysis of ABC Transporter Genes Implicated in Drug Resistance. *Pharmacogenet Genomics.* 2006 Jun; 16(6): p. 439-350.
444. Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada JI. Haplotype Analysis of ABCB1/MDR1 Blocks in a Japanese Population Reveals Genotype-Dependent Renal Clearance of Irinotecan. *Pharmacogenetics.* 2003 Dec; 13(12): p. 741-757.
445. Tang K, Ngoi SM, Gwee PC, Chua JMZ, Lee EJD, Chong SS, Lee CGL. Distinct Haplotype Profiles and Strong Linkage Disequilibrium at the MDR1 Multidrug Transporter Gene Locus in Three Ethnic Asian Populations. *Pharmacogenetics.* 2002 Aug; 12(6): p. 437-450.
446. Allabi AC, Horsmans Y, Issaoui B, Gala JL. Single Nucleotide Polymorphisms of ABCB1 (MDR1) Gene and Distinct Haplotype Profile in a West Black African Population. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005 Apr; 61(2): p. 97-102.
447. Kimchi-Sarfaty C, Marple AH, Shinar S, Kimchi AM, Scavo D, Roma MI, Kim IW, Jones A, Arora M, Gripar J, Gurwitz D, Gottesman MM. Ethnicity-related polymorphisms and haplotypes in the human ABCB1 gene. *Pharmacogenomics.* 2007 Jan; 8(1): p. 29-39.
448. Robarge JD, Li L, Desta Z, Nguyen A, Flockhart DA. The Star-Allele Nomenclature: Retooling for Translational Genomics. *Clin Pharmacol Ther.* 2007 Sep; 82(3): p. 44-48.
449. Goto M, Masuda S, Saito H, Uemoto S, Kiuchi T, Tanaka K, Inui K. C3435T polymorphism in the MDR1 gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics.* 2002 Aug; 12(6): p. 451-457.
450. Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Maasz A, Takacs I, Beres J, Fodor L, Szabo M, Melegh B. Genetic Variability and Haplotype Profile of

MDR1 (ABCB1) in Roma and Hungarian Population Samples With a Review of the Literature. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2011; 26(2): p. 206-215.

451. Wong M, Evans S, Rivory LP, Hoskins JM, Mann GJ, Farlow D, Clarke CL, Balleine RL, Gurney H. Hepatic Technetium Tc 99m-labeled Sestamibi Elimination Rate and ABCB1 (MDR1) Genotype as Indicators of ABCB1 (P-glycoprotein) Activity in Patients With Cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Jan; 77(1): p. 33-42.
452. Ensembl. [Online].; 1999 [cited 2020 Mar. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:87549785-87550785;v=rs1128503;vdb=variation;vf=16823816.
453. Ensembl. [Online].; 1999 [cited 2020 Mar. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:87530802-87531802;v=rs2032582;vdb=variation;vf=17105243.
454. Ensembl. [Online].; 1999 [cited 2020 Mar. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:87508829-87509829;v=rs1045642;vdb=variation;vf=16795856.
455. Franzago M, Santurbano D, Vitacolonna E, Stuppia L. Genes and Diet in the Prevention of Chronic Diseases in Future Generations. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 10; 21(7): p. 2633.
456. Dresser GK, Urquhart BL, Proniuk J, Tieu A, Freeman DJ, Arnold JM, Bailey DG. Coffee inhibition of CYP3A4 in vitro was not translated to a grapefruit-like pharmacokinetic interaction clinically. *Pharmacol Res Perspect.* 2017 Oct; 5(5): p. e00346.
457. Bhardwaj RK, Glaeser H, Becquemont L, Klotz U, Gupta SK, Fromm MF. Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002 Aug; 302(2): p. 645-650.
458. Ministerio de Salud de Panamá. [Online].; 2012-2019 [cited 2019 Jun. Available from: http://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/alertas/nota_de_seguridad_suplementos_dieteticos_populares_y_alimenticios.pdf.
459. Bailey DG, Dresser GK, Bend JR. Bergamottin, lime juice, and red wine as inhibitors of cytochrome P450 3A4 activity: comparison with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther.* 2003 Jun; 73(6): p. 529-537.
460. Usia T, Iwata H, Hiratsuka A, Watabe T, Kadota S, Tezuka Y. CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities of Indonesian medicinal plants. *Phytomedicine.* 2006 Jan; 13(1-2): p. 67-73.
461. Sprouse AA, van Breemen RB. Pharmacokinetic Interactions between Drugs and Botanical Dietary Supplements. *Drug Metab Dispos.* 2016 Feb; 44(2): p. 162-171.
462. Bai J, Zhao S, Fan X, Chen Y, Zou X, Hu M, Baolian W, Jin J, Wang X, Hu J, Zhang D, Li Y. Inhibitory Effects of Flavonoids on P-glycoprotein in Vitro and in Vivo: Food/herb-drug Interactions and Structure-Activity Relationships. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2019 Apr 15; 369: p. 49-59.

463. Chan WK, Nguyen LT, Miller VP, Harris RZ. Mechanism-based inactivation of human cytochrome P450 3A4 by grapefruit juice and red wine. *Life Sci.* 1998 Jan 30; 62(10): p. PL 135-142.
464. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, Janardan SK, Adair CH, Fortlage LA, Brown MB, Guo W, Watkins PB. Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest.* 1997 May 15; 99(10): p. 2545-2553.
465. Malhotra S, Bailey DG, Paine MF, Watkins PB. Seville orange juice-felodipine interaction: comparison with dilute grapefruit juice and involvement of furocoumarins. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Jan; 69(1): p. 14-23.
466. Guo LQ, Yamazoe Y. Inhibition of cytochrome P450 by furanocoumarins in grapefruit juice and herbal medicines. *Acta Pharmacol Sin.* 2004 Feb; 25(2): p. 129-136.
467. Guo LQ, Chen QY, Wang X, Liu YX, Chu XM, Cao XM, Li JH, Yamazoe Y. Different roles of pummelo furanocoumarin and cytochrome P450 3A5*3 polymorphism in the fate and action of felodipine. *Curr Drug Metab.* 2007 Aug; 8(6): p. 623-630.
468. Korobkova EA. Effect of Natural Polyphenols on CYP Metabolism: Implications for Diseases. *Chem Res Toxicol.* 2015 Jul 20; 28(7): p. 1359-1390.
469. Li J, Gödecke T, Chen SN, Imai A, Lankin DC, Farnsworth NR, Pauli GF, van Breemen RB, Nikolić D. In vitro metabolic interactions between black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) and tamoxifen via inhibition of cytochromes P450 2D6 and 3A4. *Xenobiotica.* 2011 Aug 9; 41: p. 1021-1030.
470. Tsukamoto S, Aburatani M, Ohta T. Isolation of CYP3A4 Inhibitors from the Black Cohosh (*Cimicifuga racemosa*). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2005 Jun; 2(2): p. 223-226.
471. Uesawa Y, Mohri K. Effects of cranberry juice on nifedipine pharmacokinetics in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2006 Aug; 58(8): p. 1067-1072.
472. Foster BC, Vandenhoeck S, Hana J, Krantis A, Akhtar MH, Bryan M, Budzinski JW, Ramputh A, Arnason JT. In vitro inhibition of human cytochrome P450-mediated metabolism of marker substrates by natural products. *Phytomedicine.* 2003 May; 10(4): p. 334-342.
473. Strandell J, Neil A, Carlin G. An approach to the in vitro evaluation of potential for cytochrome P450 enzyme inhibition from herbals and other natural remedies. *Phytomedicine.* 2004 Feb; 11(2-3): p. 98-104.
474. Yale SH, Glurich I. Analysis of the inhibitory potential of Ginkgo biloba, Echinacea purpurea, and Serenoa repens on the metabolic activity of cytochrome P450 3A4, 2D6, and 2C9. *J Altern Complement Med.* 2005 Jun; 11(3): p. 433-439.

475. Modarai M, Rahte S, Kortenkamp A, Heinrich M. Screening herbal medicinal products for CYP P450 enzyme inhibition with the fast, robust Supersome assay. *Z Phytother.* 2006; 27(S1): p. 25.
476. Fuchikami H, Satoh H, Tsujimoto M, Ohdo S, Ohtani H, Sawada Y. Effects of herbal extracts on the function of human organic anion-transporting polypeptide OATP-B. *Drug Metab Dispos.* 2006 Apr; 34(4): p. 577-582.
477. Gorski JC, Huang SM, Pinto A, Hamman MA, Hilligoss JK, Zaheer NA, Desai M, Miller M, Hall SD. The effect of echinacea (*Echinacea purpurea* root) on cytochrome P450 activity in vivo. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Jan; 75(1): p. 89-100.
478. Foster BC, Foster MS, Vandenhoeck S, Krantis A, Budzinski JW, Arnason JT, Gallicano KD, Choudri S. An in vitro evaluation of human cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein inhibition by garlic. *J Pharm Pharm Sci.* 2001 May-Aug; 4(2): p. 176-184.
479. Patel J, Buddha B, Dey S, Pal D, Mitra AK. In vitro interaction of the HIV protease inhibitor ritonavir with herbal constituents: changes in P-gp and CYP3A4 activity. *Am J Ther.* 2004 Jul-Aug; 11(4): p. 262-277.
480. Ho BE, Shen DD, McCune JS, Bui T, Risler L, Yang Z, Ho RJ. Effects of Garlic on Cytochromes P450 2C9- and 3A4-Mediated Drug Metabolism in Human Hepatocytes. *Sci Pharm.* 2010 Jul-Sep; 78(3): p. 473-481.
481. Hsiu SL, Hou YC, Wang YH, Tsao CW, Su SF, Chao PD. Quercetin significantly decreased cyclosporin oral bioavailability in pigs and rats. *Life Sci.* 2002 Dec 6; 72(3): p. 227-235.
482. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Cui Y, Ang CY. Cytochrome P450 phenotypic ratios for predicting herb-drug interactions in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Sep; 72(3): p. 276-287.
483. Ohnishi N, Kusuhara M, Yoshioka M, Kuroda K, Soga A, Nishikawa F, Koishi T, Nakagawa M, Hori S, Matsumoto T, Yamashita M, Ohta S, Takara K, Yokoyama T. Studies on interactions between functional foods or dietary supplements and medicines. I. Effects of Ginkgo biloba leaf extract on the pharmacokinetics of diltiazem in rats. *Bio Pharm Bull.* 2003 Sep; 26(9): p. 1315-1320.
484. Anderson GD, Rosito G, Mohustsy MA, Elmer GW. Drug interaction potential of soy extract and Panax ginseng. *J Clin Pharmacol.* 2003 Jun; 43(6): p. 643-648.
485. Foster BC, Vandenhoeck S, Tang R, Budzinski JW, Krantis A, Li KY. Effect of several Chinese natural health products of human cytochrome P450 metabolism. *J Pharm Pharm Sci.* 2002 May-Aug; 5(2): p. 185-189.
486. Budzinski JW, Trudeau VL, Drouin CE, Panahi M, Arnason JT, Foster BC. Modulation of human cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) and P-glycoprotein (P-gp) in Caco-2 cell monolayers by selected commercial-source milk thistle and goldenseal products. *Can J Physiol Pharmacol.* 2007 Sep; 85(9): p. 966-978.

487. Chatterjee P, Franklin MR. Human cytochrome p450 inhibition and metabolic-intermediate complex formation by goldenseal extract and its methylenedioxyphenyl components. *Drug Metab Dispos.* 2003 Nov; 31(11): p. 1391-1397.
488. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Khan IA, Shah A. In vivo effects of goldenseal, kava kava, black cohosh, and valerian on human cytochrome P450 1A2, 2D6, 2E1, and 3A4/5 phenotypes. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 May; 77(5): p. 415-426.
489. Gurley BJ, Swain A, Hubbard MA, Williams DK, Barone G, Hartsfield F, Tong Y, Carrier DJ, Cheboyina S, Battu SK. Clinical assessment of CYP2D6-mediated herb-drug interactions in humans: effects of milk thistle, black cohosh, goldenseal, kava kava, St. John's wort, and Echinacea. *Mol Nutr Food Res.* 2008 Jul; 52(7): p. 755-763.
490. Netsch MI, Gutmann H, Schmidlin CB, Aydogan C, Drewe J. Induction of CYP1A by green tea extract in human intestinal cell lines. *Planta Med.* 2006 May; 72(6): p. 541-620.
491. Moore LB, Goodwin B, Jones SA, Wisely GB, Serabjit-Singh CJ, Willson TM, Collins JL, Kliewer SA. St. John's wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jun 20; 97(13): p. 7500-7502.
492. Mao J, Johnson TR, Shen Z, Yamazaki S. Prediction of crizotinib-midazolam interaction using the Simcyp population-based simulator: comparison of CYP3A time-dependent inhibition between human liver microsomes versus hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2013 Feb; 41(2): p. 343-352.
493. Li AP, Doshi U. Higher throughput human hepatocyte assays for the evaluation of time-dependent inhibition of CYP3A4. *Drug Metab Lett.* 2011 Aug; 5(3): p. 183-191.
494. Zhou S, Lim LY, Chowbay B. Herbal modulation of P-glycoprotein. *Drug Metab Rev.* 2004 Feb; 36(1): p. 57-104.
495. Brantley SJ, Graf TN, Oberlies NH, Paine MF. A systematic approach to evaluate herb-drug interaction mechanisms: investigation of milk thistle extracts and eight isolated constituents as CYP3A inhibitors. *Drug Metab Dispos.* 2013 Sep; 41(9): p. 1662-1670.
496. Venkataramanan R, Ramachandran V, Komoroski BJ, Zhang S, Schiff PL, Strom SC. Milk thistle, a herbal supplement, decreases the activity of CYP3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferase in human hepatocyte cultures. *Drug Metab Dispos.* 2000 Nov; 28(11): p. 1270-1273.
497. Köck K, Xie Y, Hawke RL, Oberlies NH, Brouwer KL. Interaction of silymarin flavonolignans with organic anion-transporting polypeptides. *Drug Metab Dispos.* 2013 May; 41(5): p. 958-965.
498. Beckmann-Knopp S, Rietbrock S, Weyhenmeyer R, Böcker RH, Beckurts KT, Lang W, Hunz M, Fuhr U. Inhibitory effects of silibinin on cytochrome P-450 enzymes in human liver microsomes. *Pharmacol Toxicol.* 2000 Jun; 86(6): p. 250-256.

499. Sridar C, Goosen TC, Kent UM, Williams JA, Hollenberg PF. Silybin inactivates cytochromes P450 3A4 and 2C9 and inhibits major hepatic glucuronosyltransferases. *Drug Metab Dispos.* 2004 Jun; 32(6): p. 587-594.
500. Jancová P, Anzenbacherová E, Papoušková B, Lemr K, Luzná P, Veinlichová A, Anzenbacher P, Simánek V. Silybin is metabolized by cytochrome P450 2C8 in vitro. *Drug Metab Dispos.* 2007 Nov; 35(11): p. 2035-2039.
501. Zuber R, Modrianský M, Dvorák Z, Rohovský P, Ulrichová J, Simánek V, Anzenbacher P. Effect of silybin and its congeners on human liver microsomal cytochrome P450 activities. *Phytother Res.* 2002 Nov; 16(7): p. 632-638.
502. Wang Z, Gorski JC, Hamman MA, Huang SM, Lesko LJ, Hall SD. The effects of St John's wort (*Hypericum perforatum*) on human cytochrome P450 activity. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Oct; 70(4): p. 317-326.
503. Whitten DL, Myers SP, Hawrelak JA, Wohlmuth H. The effect of St John's wort extracts on CYP3A: a systematic review of prospective clinical trials. *Br J Clin Pharmacol.* 2006 Nov; 62(5): p. 512-526.
504. Johne A, Brockmöller J, Bauer S, Maurer A, Langheinrich M, Roots I. Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Clin Pharmacol Ther.* 1999 Oct; 66(4): p. 338-345.
505. Lefebvre T, Foster BC, Drouin CE, Krantis A, Livesey JF, Jordan SA. In vitro activity of commercial valerian root extracts against human cytochrome P450 3A4. *J Pharm Pharm Sci.* 2004 Aug 12; 7(2): p. 265-273.
506. Lin LZ, He XG, Lian LZ, King W, Elliott J. Liquid chromatographic electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide. *Journal of Chromatography.* 1998; 810(1-2): p. 71-79.
507. Guo LQ, Taniguchi M, Chen QY, Baba K, Yamazoe Y. Inhibitory potential of herbal medicines on human cytochrome P450-mediated oxidation: properties of umbelliferous or citrus crude drugs and their relative prescriptions. *Jpn J Pharmacol.* 2001 Apr; 85(4): p. 399-408.
508. Tang JC, Zhang JN, Wu YT, Li ZX. Effect of the water extract and ethanol extract from traditional Chinese medicines *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, *Ligusticum chuanxiong* Hort. and *Rheum palmatum* L. on rat liver cytochrome P450 activity. *Phytother Res.* 2006 Dec; 20(12): p. 1046-1051.
509. Gurley B, Hubbard MA, Williams DK, Thaden J, Tong Y, Gentry WB, Breen P, Carrier DJ, Cheboyina S. Assessing the clinical significance of botanical supplementation on human cytochrome P450 3A activity: comparison of a milk thistle and black cohosh product to rifampin and clarithromycin. *J Clin Pharmacol.* 2006 Feb; 46(2): p. 201-213.
510. Zou L, Harkey MR, Henderson GL. Effects of herbal components on cDNA-expressed cytochrome P450 enzyme catalytic activity. *Life Sci.* 2002 Aug 16; 71(13): p. 1579-1589.

511. Paolini M, Barillari J, Broccoli M, Pozzetti L, Perocco P, Cantelli-Forti G. Effect of liquorice and glycyrrhizin on rat liver carcinogen metabolizing enzymes. *Cancer Lett.* 1999 Oct 18; 145(1-2): p. 35-42.
512. Guo B, Fan XR, Fang ZZ, Cao YF, Hu CM, Yang J, Zhang YY, He RR, Zhu X, Yu ZW, Sun XY, Hong M, Yang L. Deglycosylation of liquiritin strongly enhances its inhibitory potential towards UDP-glucuronosyltransferase (UGT) isoforms. *Phytother Res.* 2013 Aug; 27(8): p. 1232-1236.
513. Kent UM, Aviram M, Rosenblat M, Hollenberg PF. The licorice root derived isoflavan glabridin inhibits the activities of human cytochrome P450S 3A4, 2B6, and 2C9. *Drug Metab Dispos.* 2002 Jun; 30(6): p. 709-715.
514. Nabekura T, Yamaki T, Ueno K, Kitagawa S. Effects of plant sterols on human multidrug transporters ABCB1 and ABCC1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 May 2; 369(2): p. 363-368.
515. Chow HH, Hakim IA, Vining DR, Crowell JA, Cordova CA, Chew WM, Xu MJ, Hsu CH, Ranger-Moore J, Alberts DS. Effects of repeated green tea catechin administration on human cytochrome P450 activity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006 Dec; 15(12): p. 2473-2476.
516. Appiah-Opong R, Commandeur JN, van Vugt-Lussenburg B, Vermeulen NP. Inhibition of human recombinant cytochrome P450s by curcumin and curcumin decomposition products. *Toxicology.* 2007 Jun 3; 235(1-2): p. 83-91.
517. Yuan Y, Qiu X, Nikolić D, Chen SN, Huang K, Li G, Pauli GF, van Breemen RB. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by hops (*Humulus lupulus*) and hop prenylphenols. *Eur J Pharm Sci.* 2014 Mar 12; 53: p. 55-61.
518. VandenBrink BM, Foti RS, Rock DA, Wienkers LC, Wahlstrom JL. Prediction of CYP2D6 drug interactions from in vitro data: evidence for substrate-dependent inhibition. *Drug Metab Dispos.* 2012 Jan; 40(1): p. 47-53.
519. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Carrier J, Khan IA, Edwards DJ, Shah A. In vivo assessment of botanical supplementation on human cytochrome P450 phenotypes: *Citrus aurantium*, *Echinacea purpurea*, milk thistle, and saw palmetto. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Nov; 76(5): p. 428-440.
520. Budzinski JW, Foster BC, Vandenhoek S, Arnason JT. An in vitro evaluation of human cytochrome P450 3A4 inhibition by selected commercial herbal extracts and tinctures. *Phytomedicine.* 2000 Jul; 7(4): p. 273-282.
521. Tsukamoto S, Tomise K, Miyakawa K, Cha BC, Abe T, Hamada T, Hirota H, Ohta T. CYP3A4 inhibitory activity of new bisalkaloids, dipiperamides D and E, and cognates from white pepper. *Bioorg Med Chem.* 2002 Sep; 10(9): p. 2981-2985.
522. Iwata H, Tezuka Y, Kadota S, Hiratsuka A, Watabe T. Identification and characterization of potent CYP3A4 inhibitors in *Schisandra* fruit extract. *Drug Metab Dispos.* 2004 Dec; 32(12): p. 1351-1358.
523. Hyrsova L, Vanduchova A, Dusek J, Smutny T, Carazo A, Maresova V, Trejtnar F, Barta P, Anzenbacher P, Dvorak Z, Pavek P. Trans-resveratrol, but not other natural stilbenes occurring in food, carries the risk of drug-food

interaction via inhibition of cytochrome P450 enzymes or interaction with xenosensor receptors. *Toxicol Lett.* 2019 Jan; 300: p. 81-91.

524. Morris ME, Zhang S. Flavonoid-drug Interactions: Effects of Flavonoids on ABC Transporters. *Life Sci.* 2006 Mar 27; 78(18): p. 2116-2130.
525. Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J Nutr.* 2000 Aug; 130(8S Suppl): p. S2073-S85.
526. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: Antioxidants and Beyond. *Am J Clin Nutr.* 2005 Jan; 81(1 Suppl): p. S215-S217.
527. Pérez-Jiménez J, Díaz-Rubio ME, Saura-Calixto F. Non-extractable Polyphenols, a Major Dietary Antioxidant: Occurrence, Metabolic Fate and Health Effects. *Nutr Res Rev.* 2013 Dec; 26(2): p. 118-129.
528. Xiao J, Kai G. A Review of Dietary Polyphenol-Plasma Protein Interactions: Characterization, Influence on the Bioactivity, and Structure-Affinity Relationship. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012; 52(1): p. 85-101.
529. Giraldo P, Pérez-López J, Núñez R, de la Puebla RF, Luño E, Saura-Grau S, Bureo JC, Plaza S, de la Serna J. Patients with type 1 Gaucher disease in Spain: A cross-sectional evaluation of health status. *Blood Cells Mol Dis.* 2016 Jan; 56(1): p. 23-30.
530. López de Frutos L, Alfonso P, Lahoz C, Irún P, Giraldo P. Allelic and Phenotypic Characterization of CYP2D6 and its Encoded P450 Cytochrome Enzyme in a Cohort of Spanish Type 1 Gaucher Disease Patients. *Med Clin (Barc.).* 2020 May 25; S0025-7753(20)-30188-3.
531. Swallow DM. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annu Rev Genet.* 2003; 37: p. 197-219.
532. Giraldo P, Irún P, Arenaz I, Serrano D, Pocoví M. Epidemiology of Gaucher disease in Spain. In *European Platform for Rare Disease Registries. EPIRARE International Workshop; 2012; Roma (Italia).*
533. Serrano-Gómez D, Alfonso P, Irún P, Pocoví M, Giraldo P. Interest in to collect biological samples in lysosomal storage diseases. A model to follow. In *European Platform for Rare Disease Registries. EPIRARE International Workshop; 2012; Roma (Italia).*
534. Weinreb NJ, Finegold DN, Feingold E, Zeng Z, Rosenbloom BE, Shankar SP, Amato D. Evaluation of disease burden and response to treatment in adults with type 1 Gaucher disease using a validated disease severity scoring system (DS3). *Orphanet J Rare Dis.* 2015 May 22; 10: p. 64.
535. Pastores GM, Weinreb NJ, Aerts H, Andria G, Cox TM, Giralt M, Grabowski GA, Mistry PK, Tytki-Szymańska A. Therapeutic goals in the treatment of Gaucher disease. *Semin Hematol.* 2004 Oct; 41(4 Suppl 5): p. 4-14.
536. Martinelli M, Scapoli L, Cura F, Rodia MT, Ugolini G, Montroni I, Solmi R. Colorectal cancer susceptibility: apparent gender-related modulation by ABCB1 gene polymorphisms. *J Biomed Sci.* 2014 Sep 4; 21: p. 89.

537. Balan S, Bharathan SP, Vellichiramal NN, Sathyan S, Joseph V, Radhakrishnan K, Banerjee M. Genetic association analysis of ATP binding cassette protein family reveals a novel association of ABCB1 genetic variants with epilepsy risk, but not with drug-resistance. *PLoS One*. 2014 Feb 21; 9(2): p. e89253.
538. Wei-lin W, Jing J, Shu-sen Z, Li-hua W, Ting-bo L, Song-feng Y, Sheng Y. Tacrolimus dose requirement in relation to donor and recipient ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms in Chinese liver transplant patients. *Liver Transpl*. 2006 May; 12(5): p. 775-780.
539. Beutler E, Gelbart T, West C. The facile detection of the nt 1226 mutation of glucocerebrosidase by 'mismatched' PCR. *Clin Chim Acta*. 1990 Dec 24; 194(2-3): p. 161-166.
540. Uchiyama A, Tomatsu S, Kondo N, et al. New Gaucher disease mutations in exon 10: a novel L444R mutation produces a new NciI site the same as L444P. *Hum Mol Genet*. 1994 Jul; 3(7): p. 1183-4.
541. Torralba MA, Alfonso P, Pérez-Calvo JI, Cenarro A, Pastores GM, Giraldo P, Civeira F, Pocoví M. High prevalence of the 55-bp deletion (c.1263del155) in exon 9 of the glucocerebrosidase gene causing misdiagnosis (for homozygous N370S (c.1226A > G) mutation) in Spanish Gaucher disease patients. *Blood Cell Mol Dis*. 2002 Jul-Aug; 29(1): p. 35-40.
542. Pastores GM, Giraldo P, Chérin P, Mehta A. Goal-oriented therapy with miglustat in Gaucher disease. *Curr Med Res Opin*. 2009 Jan; 25(1): p. 23-37.
543. Fundación Española para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher (FEETEG). [Online].; 1994 [cited 2019 Enero. Available from: <http://www.feeteg.org/>.
544. Groenkennisnet. [Online]. [cited 2019 Aug. Available from: <https://wiki.groenkennisnet.nl/display/TAB/Chapter+7.1+Calculation+of+a+llele+frecuencias>.
545. Ensembl. [Online].; 1999 [cited 2020 Mar. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:99783973-99784973;v=rs2740574;vdb=variation;vf=17473429.
546. Ensembl. [Online].; 1999 [cited 2020 Mar. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=7:99768193-99769193;v=rs35599367;vdb=variation;vf=20923380.
547. Rappeport JM, Ginns EI. Bone-marrow transplantation in severe Gaucher's disease. *N Engl J Med*. 1984 Jul 12; 11(2): p. 84-88.
548. Ringdén O, Groth CG, Erikson A, Granqvist S, Månsson JE, Sparrelid E. Ten years' experience of bone marrow transplantation for Gaucher disease. *Transplantation*. 1995 Mar 27; 59(6): p. 864-870.
549. August CS, Palmieri M, Nowell P, Elkins WL, D'Angio G, Glew RH, Lydia D. Bone marrow transplantation (BMT) in Gaucher's disease. *Pediatr Res*. 1984; 18(4): p. 236.

550. Hobbs JR, Jones KH, Shaw PJ, Lindsay I, Hancock M. Beneficial effect of pre-transplant splenectomy on displacement bone marrow transplantation for Gaucher's syndrome. *Lancet*. 1987 May 16; 1(8542): p. 1111-1115.
551. Ringdén O, Groth CG, Erikson A, Bäckman L, Granqvist S, Månsson JE, Svennerholm L. Long-term follow-up of the first successful bone marrow transplantation in Gaucher disease. *Transplantation*. 1988 Jul; 46(1): p. 66-70.
552. Svennerholm L, Erikson A, Groth CG, Ringdén O, Månsson JE. Norrbottnian Type of Gaucher Disease-Clinical, Biochemical and Molecular Biology Aspects: Successful Treatment with Bone Marrow Transplantation. *Dev Neurosci*. 1991; 13(4-5): p. 345-351.
553. Tsai P, Lipton JM, Sahdev I, Najfeld V, Rankin LR, Slyper AH, Ludman M, Grabowski GA. Allogenic bone marrow transplantation in severe Gaucher disease. *Pediatr Res*. 1992 May; 31(5): p. 503-507.
554. Chan KW, Wong LT, Applegarth D, Davidson AG. Bone marrow transplantation in Gaucher's disease: effect of mixed chimeric state. *Bone Marrow Transplant*. 1994 Aug; 14(2): p. 327-330.
555. Santos R, Amaral O. Advances in Sphingolipidoses: CRISPR-Cas9 Editing as an Option for Modelling and Therapy. *Int J Mol Sci*. 2019 Nov 24; 20(23): p. e5897.
556. Gen-T. [Online].; 2011 [cited 2020 Mar. Available from: <http://www.gen-t.es/reportajes/96-tarjeta-farmacogenetica-euroespes-la-personalizacion-del-tratamiento-farmacologico>.
557. Mayo Clinic. [Online].; 1998 [cited 2020 Mar. Available from: <https://www.mayoclinic.org/es-es>.
558. Reynolds KK, McNally BA, Linder MW. Clinical Utility and Economic Impact of CYP2D6 Genotyping. *Clin Lab Med*. 2016 Sep; 36(3): p. 525-542.
559. Hackett JC. Membrane-embedded substrate recognition by cytochrome P450 3A4. *J Biol Chem*. 2018 Mar 16; 293(11): p. 4037-4046.
560. EMA. [Online].; 1995 [cited 2020 Mar. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/glivec-epar-product-information_es.pdf.
561. Naranjo ME, de Andrés F, Delgado A, Cobaleda J, Peñas-Lledó EM, Llerena A. High frequency of CYP2D6 ultrarapid metabolizers in Spain: controversy about their misclassification in worldwide population studies. *Pharmacogenomics J*. 2016 Oct; 16(5): p. 485-490.
562. Peterschmitt MJ, Freisens S, Underhill LH, Foster MC, Lewis G, Gaemers SJM. Long-term adverse event profile from four completed trials of oral eliglustat in adults with Gaucher disease type 1. *Orphanet J Rare Dis*. 2019 Jun 7; 14(1): p. 128.
563. Girenavar B, Jayaprakasha GK, Patil BS. Potent inhibition of human cytochrome P450 3A4, 2D6, and 2C9 isoenzymes by grapefruit juice and its furocoumarins. *J Food Sci*. 2007 Oct; 72(8): p. C417-21.

564. Win World Survey. [Online]. [cited 2020 Jul. Available from: <https://ssrs.com/win-world-survey/>].
565. Dresser GK, Bailey DG, Leake BF, Schwarz UI, Dawson PA, Freeman DJ, Kim RB. Fruit juices inhibit organic anion transporting polypeptide-mediated drug uptake to decrease the oral availability of fexofenadine. Clin Pharmacol Ther. 2002 Jan; 71(1): p. 11-20.
566. Bailey DG. Fruit juice inhibition of uptake transport: a new type of food-drug interaction. Br J Clin Pharmacol. 2010 Nov; 70(5): p. 645-655.
567. Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, Bradford LD, Kennedy MJ, Leeder JS. The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. Clin Pharmacol Ther. 2008 Feb; 83(2): p. 234-242.

10.ANEXOS

10.1. Anexo I.

TABLA GENERAL CON LAS VARIABLES DE ESTUDIO:

10.1.1. Tabla general con las variables empleadas en este estudio:

Tabla 82 a: tabla general con las variables empleadas en este estudio. Pacientes: 1-30

nº registro	nº DNA	CYP2D6	Tipo	CYP3A4						ABCB1						Sexo	Edad	Tratamiento	C/T-13918 SNP rs4988235	Genotipo GBA	Actividad chit (4 a 133 nmol/ml.h)	CCL18/PARC (12 y 165 ng/ml)	LysoGb1 (<0,88 ng/ml)	Efectos adversos	Medicación concomitante	Respuesta	Dieta	Perfil metabolizador
				c.-392 G>A (1B) rs2740574		c.15389 T>C (22) rs35599367		c.3435 T>C rs1845642		c.2677 T>A/G rs2832582		c.1236 T>C rs1128503																
				Fluoróforo	Alelos	Fenotipo de metabolizador	Fluoróforo	Alelos	Fenotipo de metabolizador	Alelos	Fenotipo de transportador	Alelos	Fenotipo de transportador	Alelos	Fenotipo de transportador													
1	5816	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	TT	Actividad deficiente	M	51	Eliglustat	NA	N3785 + L444P	1289	265	25,57	No	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Menos frecuente
2	5817	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	FAM/VIC	CT	Intermedio	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	59	Velaglucerasa	NA	N3785 + L444P	1462	381	24,2	Angioedema	Paracetamol, Levotiroxina de Na, Indinavir	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
3	5823	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	66	Miglustat	CC	N3785 + L444P	1790	399	NA	No	Citalopram, paracetamol	Alcanza OT	Pobre en HC	Frecuente
4	5895	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	V	38	Eliglustat	NA	N3785+R257X	1160	59	22,98	No	No	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Frecuente
5	5896	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	V	27	Eliglustat	NA	N3785+R257X	1229	829	30,41	No	No	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Frecuente
6	5138	*4*9	Intermedio	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	M	26	Eliglustat	NA	N3785 + L444P	58	36	<0,88	No	Paracetamol, Naproxeno	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Menos frecuente
7	5155	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CC	Actividad normal	V	56	Velaglucerasa	CC	N3785 + L336P	2212	530	15,1	Gastroenteritis	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Normal	Frecuente
8	5386	*18*35	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	38	Imiglucerasa	NA	N3785 + Y313H	663	110	2,82	No	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Normal	Frecuente
9	5387	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	FAM/VIC	CT	Intermedio	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	TT	Actividad deficiente	M	49	Imiglucerasa	NA	N3785 + L444P	2436	172	NA	No	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
10	5328	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	GG	Actividad normal	TT	Actividad deficiente	M	45	NI	NA	N3785 + L444P	7591	684	NA	No	No	Alcanza OT	Normal	Menos frecuente
11	5321	*1*4	Rápido	FAM/VIC	AG	Intermedio	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	CC	Actividad normal	V	39	Miglustat	CC	N3785 + L444P	1554	776	40,95	Gastroenteritis	Dexketoprofeno, Paracetamol	No alcanza OT	Pobre en HC	Menos frecuente
12	5338	*1*10	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	V	39	Imiglucerasa	NA	N3785 + T134P	4788	1169	NA	No	No	No alcanza OT	Normal	Frecuente
13	5367	*9*41	Ultrarápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	83	NI	NA	N3785 + c.1214delG	28138	1628	NA	No	Eprotarsán, litio	NA	Normal	Menos frecuente
14	5377	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	42	Eliglustat	TT	N3785 + N3785	395	357	11,23	Tembor, diarreas, epigastralgia	Ibuprofeno, Paracetamol, Citalopram, Estrógenos	No alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo granada y pobre en HC	Frecuente
15	5418	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	61	Imiglucerasa	NA	N3785 + N188S	266	117	<0,88	No	No	Alcanza OT	Normal	Frecuente
16	5423	*1*4	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	34	Eliglustat	NA	N3785 + G113E	981	184	8,9	No	No	No alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Frecuente
17	5467	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GG	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	46	Imiglucerasa	NA	N3785 + L444P	8	161	28,1	No	Ibuprofeno	No alcanza OT	Normal	Frecuente
18	5484	*1*1	Rápido	FAM/VIC	AG	Intermedio	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	44	Imiglucerasa	NA	N3785 + R257X	7824	1182	129,6	No	No	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
19	5582	*3*4	Lento	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	CT	Actividad normal	V	56	Eliglustat	CC	N3785 + L444P	148	97	<0,88	Cefalea, pérdida de estabilidad	Paracetamol, Ibuprofeno	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Menos frecuente
20	5584	*2*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	FAM/VIC	CT	Intermedio	TT	Actividad deficiente	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	52	NI	NA	N3785 + L444P	3490	NA	NA	No	No	NA	Normal	Menos frecuente
21	5586	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	M	67	Miglustat	NA	N3785 + N3785	891	234	15,2	No	No	Alcanza OT	Pobre en HC	Menos frecuente
22	5588	*1*17	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	48	Miglustat	CT	N3785 + L444P	1849	474	57,9	No	No	Alcanza OT	Pobre en HC	Menos frecuente
23	5526	*1*1	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	M	57	Miglustat	CT	N3785 + G282R	1328	191	18,51	No	Salbutamol sulfato, Quimioterapia local, Ibuprofeno	Alcanza OT	Pobre en HC	Frecuente
24	5543	*4*41	Intermedio	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	TT	Actividad deficiente	M	58	Imiglucerasa	NA	N3785 + G195W	981	138	16,8	Fiebre	No	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
25	5558	*4*9	Intermedio	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal			TT	Actividad deficiente	V	37	Imiglucerasa	NA	N3785 + c.841nsG	583	435	NA	No	Paracetamol, Ibuprofeno	No alcanza OT	Normal	NA
26	5551	*4*5	Lento	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	TT	Actividad deficiente	V	42	Imiglucerasa	NA	N3785 + c.841nsG	893	211	NA	No	Ibuprofeno, Amisulpirina	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
27	5553	*6*41	Intermedio	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	M	45	Eliglustat	NA	N3785 + W(-4)X	138	68	<0,88	Cefalea	Paracetamol, Fentanilo	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada y vegetariano	Menos frecuente
28	5564	*2*4	Rápido	FAM/VIC	AG	Intermedio	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	M	23	Velaglucerasa	CC	N3785 + c.841nsG	275	97	7,8	Fiebre, dolor, picor de garganta	Vitamina D	No alcanza OT	Normal	Menos frecuente
29	5588	*1*2	Rápido	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CC	Actividad normal	GG	Actividad normal	CC	Actividad normal	M	23	Eliglustat	CT	N3785 + L444P	154	64	<0,88	No	No	Alcanza OT	Libre de naranja amarga, pomelo y granada	Frecuente
30	5598	*4*41	Intermedio	VIC	AA	Rápido	VIC	CC	Rápido	CT	Actividad normal	GT	Actividad normal	CT	Actividad normal	V	28	Velaglucerasa	CC	N3785 + L444P	93	45	<0,88	No	No	Alcanza OT	Normal	Menos frecuente

10.1.2. Tabla con otros datos de interés:

Tabla 84 a: tabla con otros datos de interés. Pacientes: 1-30

nº registro	EG	Grado	Enfermedad ósea	Otras enfermedades	Esplenectomía	Hepatitis	Enzimas hepáticas	Chit1	Tiempo de tratamiento (años)	Dosis (tratamiento)
1	1	Moderada (10)	Si	Colecistectomía, miopía	No	No	Normales	Normal	23	84 mg/12h
2	1	Moderada (10)	Si	Hipotiroidismo, HTA, fibroadenoma mamario, quiste de ovario y discopatía lumbar	No	Si (VHC)	Normales	Normal	22	30 Uds/Kg
3	1	Moderada (10)	No	Colecistectomía	Si	Si (VHB)	Normales	Hetero	10	300 mg/día
4	1	Moderada (9)	No	Ninguna	No	No	Normales	Normal	2	84 mg/12h
5	1	Moderada (9)	No	Ninguna	No	No	Normales	Normal	2	84 mg/12h
6	1	Leve (7)	No	Sacroileitis	No	No	Normales	Normal	8	84 mg/12h
7	1	Moderada (8)	Si	Prótesis de rodilla, fijación de columna, infecciones respiratorias	Si	No	Normales	Normal	21	60 Uds/Kg
8	1	Moderada (6)	No	Fractura cadera	No	No	Normales	Hetero	22	30 Uds/Kg
9	1	Moderada (9)	Si	Siringomelia	Si	No	Normales	Normal	21	60 Uds/Kg
10	1	Leve (1)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	0	NA
11	1	Leve (4)	No	Colecistectomía, prolapsos discales cervicales e intolerancia a lactosa	No	No	Normales	Hetero	2	300 mg/día
12	1	Moderada (9)	Si	Alergia a ácaros, mononucleosis infecciosa	No	No	Normales	Normal	19	60 Uds/Kg
13	1	Moderada (10)	Si	Colecistectomía, HTA, osteomielitis, septoplastia, colesteatoma	Si	No	Alteradas	Normal	0	NA
14	1	Leve (2)	Si	Déficit de B12, migrañas, crisis de ansiedad	No	No	Normales	Hetero	1	84 mg/12h
15	1	Leve (8)	Si	Ninguna	No	No	Normales	Normal	21	60 Uds/Kg
16	1	Moderada (9)	Si	Ninguna	No	No	Normales	Normal	1	84 mg/12h
17	1	Leve (6)	No	Colecistectomía	No	No	Normales	Homo	20	30 Uds/Kg
18	1	Moderada (8)	No	Ninguna	No	No	Normales	Normal	20	NA
19	1	Leve (5)	No	Hernia discales y lumbares	No	No	Normales	Hetero	1	84 mg/48h
20	1	Moderada (7)	No	Epixtasis	No	No	Normales	Hetero	0	NA
21	1	Leve (4)	No	HTA	No	No	Normales	Normal	8	200 mg/día
22	1	Leve (6)	Si	Colelitiasis	Si	No	Normales	Normal	10	300 mg/día
23	1	Leve (4)	No	Cáncer de vejiga, asma	No	No	Normales	Hetero	10	300 mg/día
24	1	Grave (11)	Si	Hepatitis C y hepatopatía crónica, síndrome del túnel carpiano, osteopenia	Si	No	Normales	Hetero	18	60 Uds/Kg
25	1	Moderada (8)	Si	Prótesis de rodilla	Si	No	Normales	Hetero	19	30 Uds/Kg
26	1	Moderada (9)	Si	Intolerancia a lactosa, hernias discales lumbares, osteopenia	Si	Si (VHC)	Alteradas	Normal	19	30 Uds/Kg
27	1	Severa (13)	Si	Cáncer de útero, distrofia muscular simpática, prótesis de cadera	No	No	Normales	Hetero	2	84 mg/12h
28	1	Leve (6)	Si	Osteopenia	No	No	Normales	Hetero	19	60 Uds/Kg
29	1	Leve (4)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	2	84 mg/12h
30	1	Leve (4)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	18	30 Uds/Kg



Tabla 84 b: tabla con otros datos de interés. Pacientes: 31-62

nº registro	EG	Grado	Enfermedad ósea	Otras enfermedades	Esplenectomía	Hepatitis	Enzimas hepáticas	Chit1	Tiempo de tratamiento (años)	Dosis (tratamiento)
31	1	Leve (4)	No	Ninguna	No	No	Normales	Normal	18	30 Uds/Kg
32	1	Leve (4)	No	Pubertad precoz	No	No	Normales	Hetero	18	60 Uds/Kg
33	1	Leve (4)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	0	NA
35	1	Moderada (6)	No	Enfermedad de Parkinson	No	No	Normales	Hetero	15	30 Uds/Kg
36	1	Severa (13)	Si	Prótesis de cadera	No	No	Normales	NA	17	60 Uds/Kg
37	1	Leve (3)	No	Colecistectomía	No	Si (VHB)	Normales	Hetero	15	300 mg/día
38	1	Leve (6)	No	NA	No	NA	Normales	Normal	0	NA
39	1	Leve (3)	No	Infecciones bucodentales, infiltración de glándulas salivares, glaucoma	No	No	Normales	Hetero	1	84 mg/12h
40	1	Leve (3)	No	Hernia discal, otitis, quiste óseo	No	No	Normales	Hetero	0	NA
41	1	Moderada (9)	Si	Prótesis articular, LMC, HTA, Colelitiasis	No	No	Normales	Normal	1	84 mg/12h
42	1	Moderada (9)	Si	Diabetes, HTA, cáncer de próstata, neuropatía periférica, alzheimer	Si	No	Normales	Hetero	8	NA
43	1	Severa (18)	Si	Ninguna	Si	No	Normales	Homo	8	84 mg/24h
44	1	Leve (7)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	8	300 mg/día
45	1	Leve (4)	No	Diabetes, HTA, dislipemia, nódulo tiroideo, colecistectomía, hernia inguinal	No	No	Normales	Normal	0	NA
46	1	Moderada (9)	Si	Enfermedad de Parkinson	No	No	Normales	Hetero	4	30 Uds/Kg
47	1	Moderada (9)	No	Hernia inguinal	No	No	Normales	Normal	0	NA
48	1	Moderada (8)	Si	Herida por asta de toro, prostatismo, eccema facial	No	No	Normales	Normal	22	45 Uds/Kg
49	1	Moderada (8)	Si	Insuficiencia renal provocada por ingesta de analgésicos, HTA	Si	No	Normales	Normal	5	45 Uds/Kg
50	1	Leve (3)	No	Alergia a gramíneas, miomas, colecistectomía	No	No	Normales	Normal	23	45 Uds/4 semanas
51	1	Leve (4)	No	NA	No	No	Normales	Homo	1	84 mg/12h
52	1	Leve (6)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	1	84 mg/12h
53	1	Moderada (8)	No	Tuberculosis, alcoholismo, epistaxis, colelitiasis	No	NA	Alteradas	Normal	2	84 mg/12h
54	1	Grave (13)	Si	Cirrosis hepática, prótesis de cadera, discopatía degenerativa, osteoporosis	No	Si (VHC)	Alteradas	Normal	1	84mg/12h
55	1	Leve (3)	No	Ninguna	No	No	Normales	Normal	0	NA
56	1	Severa (12)	Si	Prótesis articulares, fracturas	No	No	Alteradas	NA	0	NA
57	1	Leve (3)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	6	60 Uds/Kg
58	1	Grave (11)	Si	Meningioma, osteopenia, prótesis articular, cistitis	Si	No	Normales	Hetero	21	60 Uds/Kg
59	1	Moderada (8)	Si	Enfermedad ósea con infartos, déficit factor VII de la coagulación	No	No	Normales	Hetero	17	NA (pérdida de seguimiento)
60	1	Moderada (8)	Si	Prótesis de rodilla, depresión	No	No	Normales	Hetero	18	30 Uds/Kg
61	1	Leve (3)	No	Ninguna	No	No	Normales	Hetero	13	30 Uds/Kg
62	1	Leve (7)	No	Tiroiditis linfocitaria, Von Willebrand	No	No	Normales	Hetero	1	84mg/12h

10.2. Anexo II.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LOS PACIENTES, CEICA Y SUBPROYECTO
DEL ESTUDIO TRAZELGA:

10.2.1. Consentimiento informado de los pacientes:

 	
INFORMACION EN RELACION A LA SOLICITUD DE ESTUDIO DE ENFERMEDAD DE DEPÓSITO LISOSOMAL (EDL)	
Nombre y Apellidos (paciente)	
Nombre y Apellidos (tutor legal) (Si procede, INDIQUE PARENTESCO)	
<p>1.- Le informamos que vamos a estudiar si padece o es portador de un defecto en la actividad de la proteína y/o del gen que origina la enfermedad de depósito lisosomal (EDL):</p> <p><input type="checkbox"/> Gaucher <input type="checkbox"/> Déficit de esfingomielinasa ácida <input type="checkbox"/> Niemann Pick tipo C <input type="checkbox"/> Déficit de lipasa ácida lisosomal <input type="checkbox"/> Fabry <input type="checkbox"/> Otra _____</p> <p>2.- Se le va a realizar una extracción de:</p> <p><input type="checkbox"/> Cefalorraquídeo <input type="checkbox"/> Piel <input type="checkbox"/> Otro _____</p> <p>3.- El estudio puede durar varias semanas o meses, e incluso prolongarse más tiempo hasta obtener un resultado.</p> <p>4.- La información obtenida puede tener implicaciones para sus familiares y en ese caso, se le explicará el porqué de la conveniencia de que usted la transmita.</p> <p>5.- Asimismo, las pruebas genéticas pueden poner de manifiesto descubrimientos inesperados que usted puede elegir si desea o no que se le comuniquen.</p> <p>6.- Si fuera necesario, se le puede pedir nuevamente muestra para completar los estudios, así como muestra de otros familiares, entre otros, los padres biológicos.</p> <p>7.- Aun así, hay la posibilidad de que, en base a los conocimientos actuales, no se llegue a un diagnóstico ni a un resultado concluyente debido a la complejidad genética de su patología y/o a las limitaciones de las técnicas diagnósticas empleadas. En estos casos, tras previa consulta con el profesional sanitario solicitante del estudio, se puede proceder a descartar otras EDL.</p> <p>8.- El hecho de no encontrar alteraciones en las regiones genéticas estudiadas NO excluye que pueda ser portador o afecto de la enfermedad.</p> <p>9.- El estudio se realizará en los laboratorios de la Fundación para el Estudio y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEEEG). Las muestras se conservarán en éste hasta finalizar el diagnóstico.</p> <p>10.- En virtud de la ley orgánica 3/2018 de 5 de Diciembre de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales se le comunica que sus datos personales quedarán recogidos en los ficheros de la FEETEG, con domicilio en calle Lacarra de Miguel 35, 2º Izq. 50008 de Zaragoza. Usted tiene derecho a acceder, cancelar, rectificar y oponerse al tratamiento de los datos dirigiéndose a la dirección de email feeteg@fehha.org.</p> <p>11.- Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica y el Real Decreto 1716/2011 por el que se regulan los Biobancos, una vez finalizado este estudio el material sobrante puede ser destruido o cedido al Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA), junto con los datos clínicos asociados, para futuros proyectos de investigación. El BSSA es un establecimiento autorizado, sin ánimo de lucro, e inscrito en el Registro Nacional de Biobancos con la referencia [B.0000873]. La titularidad del BSSA corresponde al Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.</p> <p>12.- Las muestras que se cedan al BSSA, se someterán a un proceso de codificación. Los investigadores que soliciten muestras al Biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal. Reglamento (UE) 2016/679, General de Protección de Datos y Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de derechos digitales.</p>	
Pág. 1/3	

RIESGOS:

Los riesgos para los individuos objeto de este estudio son mínimos, lo derivados de una extracción rutinaria de sangre o de otro tejido o fluido.

Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda, no tenga reparos en preguntarnos.

1.- Que **he sido informado** por un profesional sanitario de las ventajas e inconvenientes de realizar este estudio y de que en cualquier momento puedo revocar este consentimiento.

2.- He **comprendido la información** recibida y he podido formular todas las preguntas que he considerado oportunas.

EN CONSECUENCIA:

DOY MI CONSENTIMIENTO PARA QUE ME REALICEN EL PROCEDIMIENTO Y AUTORIZO A LA RECOGIDA, ALMACENAMIENTO, Y ANÁLISIS BIOQUÍMICO Y/O GENÉTICO DE MIS MUESTRAS HASTA AVERIGUAR LA ETIOLOGÍA DE MI PATOLOGÍA O LA DE MI FAMILIA.

En caso afirmativo:

1.- En caso de identificarse la alteración genética responsable de la EDL estudiada, deseo ser informado: Si No

2.- En caso de que se obtengan resultados no previstos en este estudio, pero que puedan tener importancia para mí o para otros miembros de mi familia, deseo ser informado. Si No

3.- A partir de entonces quiero que mis muestras:

Se destruyan

Se cedan, junto con los datos clínicos asociados, al BSSA.

En el caso de que se haya señalado que desea ceder el sobrante de muestras al BSSA, por favor, confirme que:

▪ Autorizo la cesión de mis muestras y datos fuera de la Unión Europea: Si No

▪ Deseo que se me comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para mi salud o la de mi familia:

Si No Teléfono o e-mail de contacto _____

▪ Autorizo a ser contactado en caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales:

Si No Teléfono o e-mail de contacto _____

▪ Deseo que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

ESTE CONSENTIMIENTO ES VÁLIDO PARA OTRAS EXTRACCIONES QUE SE ME REALICEN EN EL FUTURO PARA ESTUDIOS RELACIONADOS CON MI ENFERMEDAD

FIRMA DEL PACIENTE	FIRMA DEL REPRESENTANTE LEGAL	FIRMA DEL PROFESIONAL SANITARIO
Nombre:	Nombre:	Nombre:
Fecha:	DNI:	Fecha:
	Fecha:	

REVOCACIÓN:

DE LA PRUEBA:

Don/Dña. _____, con DNI _____

En categoría de: Paciente Representante legal

REVOCO el consentimiento firmado a fecha:

FIRMA DEL PACIENTE	FIRMA DEL REPRESENTANTE LEGAL	FIRMA DEL PROFESIONAL SANITARIO
Nombre: Fecha:	Nombre: DNI: Fecha:	Nombre: Fecha:

En _____, a fecha _____

DE LA CESIÓN AL BIOBANCO DEL SISTEMA DE SALUD DE ARAGÓN: Dirjase por escrito al Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (Titular del Biobanco), con domicilio en el Centro de Investigación Biomédica de Aragón, Avda. San Juan Bosco, nº 13, 50009, Zaragoza.

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 07/06/2017, Acta N° 11/2017 ha evaluado la documentación presentada por el promotor referida al estudio observacional:

Título: Estudio prospectivo, observacional, de seguimiento para evaluar los nuevos objetivos terapéuticos y biomarcadores de seguridad en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo 1 que reciben tratamiento con Cerdelga®.

Código: GEE-ELI-2017-01 (TRAZELGA)

Promotor: Grupo Español de Enfermedades de Depósito Lisosomal de la SEHH

Investigador Principal: Dra. Pilar Giraldo castellano, Clínica Quirón

Versión protocolo: Versión 3, 24 Abril 2017

Hoja de información y documento de consentimiento informado: Versión 3, 24 Abril 2017.

Hoja de información al paciente y documento informado para el Biobanco del Sistema de Salud de Aragón, versión 3.


2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

3º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE.**

Lo que firmo en Zaragoza, a 7 de junio de 2017




María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)



D. Ignacio de Blas Giral, en su condición de Secretario de la Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEETEG) con domicilio en C/. José María Lacarra de Miguel, 35 2º izda 50008 Zaragoza con NIF G50638824, inscrita en el Registro Estatal de Fundaciones con el nº 288.

Certifica

Que en el libro de Actas de la Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEETEG), figura la correspondiente a la Reunión del Patronato celebrada en Zaragoza el día 12 de Junio de 2017 a las 19:30 horas en la que se detalla que:

Primero – Que la Reunión fue debidamente convocada y celebrada con la concurrencia de los siguientes miembros del Patronato:

Dña Pilar Giraldo Castellano con DNI 17833534R
D Ignacio de Blas Giral con DNI 25139201V
D José Luis Capablo Liesa con DNI 18002498F
Dña Paz Latre Martínez con DNI 17857480G
Dña Teresa Pérez Valero con DNI 07841391R
D Antonio Laclériga Jiménez con DNI 25132595N
D. Miguel Álvarez Ester con DNI 17838072P

Segundo- Que en dicha Reunión se comunicó y aprobó la realización del trabajo de Tesis Doctoral del doctorando Alberto Almeida Calpe con el título *“Perfil metabolizador de los citocromos CYP2D6 y CYP3A4*1B y *22 y el transportador ABCB 1 en pacientes españoles afectados de la Enfermedad de Gaucher”* como subproyecto del estudio TRAZELGA.

Tercero- Que el acta se aprobó por unanimidad en la Reunión ordinaria del Patronato del 19 de Diciembre 2017.

FUNDACION ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO Y TERAPÉUTICA DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER
Y OTRAS LISOSOMALES
C/ Lacarra de Miguel, José Mº, 35, 2º Izda.50008 ZARAGOZA
976 46 80 41 // 651 008 362
C.I.F. G-50638824