

Farmacogenómica clínica de CYP2C8 y CYP2C9: conceptos generales y aplicación al uso de AINE

C. Martínez, G. Blanco¹, E. García-Martín², J. A. G.-Agúndez

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura.

¹*Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario Infanta Cristina.*

²*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Genética.
Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. Badajoz*

Resumen

Objetivo: Estudiar las principales mutaciones de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9*, su frecuencia en poblaciones de diverso origen étnico, sus métodos de análisis y los principales fármacos cuyo metabolismo resulta afectado, con especial énfasis en los AINE.

Método: Se realizaron búsquedas repetidas en Pubmed (enero de 1966-enero de 2006) y *Scholar Google*. Todas las búsquedas fueron limitadas a estudios realizados en humanos y se excluyeron los artículos no escritos en inglés o español.

Resultados: Se han descrito 10 variantes alélicas del gen *CYP2C8* y 24 del *CYP2C9*. No todas tienen un efecto relevante sobre la capacidad de metabolizar fármacos. En caucásicos aparecen mutados un 22% de los genes *CYP2C8* y un 31% de los *CYP2C9*. En orientales menos de un 1% y cerca de un 3%. Los principales métodos de detección son la digestión por endonucleasas, los de PCR, los basados en pirosecuenciación y los de *microarrays*. No todos los AINE son sustratos exclusivos de *CYP2C8/9*. La utilidad del análisis de las variantes alélicas varía con cada fármaco. El riesgo de hemorragia digestiva asociada al genotipo *CYP2C9* es particularmente relevante para el uso de aceclofenaco, celecoxib, diclofenaco, ibuprofeno, indometacina, lornoxicam, piroxicam y naproxeno.

Conclusiones: Aunque la actividad *CYP2C8/9* juega un papel fundamental en el metabolismo y en la respuesta clínica de

muchos AINE, el uso de técnicas farmacogenómicas no tiene la misma utilidad para todos estos fármacos.

Palabras clave: Farmacogenómica. Metabolismo. Farmacocinética. *CYP2C8*. *CYP2C9*.

Summary

Objective: To study the major mutations in genes *CYP2C8* and *CYP2C9*, their frequency in populations of diverse ethnical descent, their analysis methods, and the major drugs with affected metabolism, with a special emphasis on NSAIDs.

Method: Repeated searches of Pubmed (January 1966-January 2006) and *Scholar Google* were performed. All searches were restricted to studies in humans, and papers not written in Spanish or English were excluded.

Results: Ten allelic variants of *CYP2C8* and 24 of *CYP2C9* have been reported. Not all of them exert a relevant effect on drug metabolism. In Caucasians 22% of *CYP2C8* genes and 31% of *CYP2C9* genes have mutations. In Asians fewer than 1% and nearly 3% are mutated, respectively. Major identification methods include endonuclease digestion, PCR, pyrosequencing, and *microarrays*. Not all NSAIDs are exclusive substrates for *CYP2C8/9*. The usefulness of allelic variant analysis varies with each individual drug. The risk for digestive hemorrhage associated with the *CYP2C9* genotype is particularly relevant when using aceclofenac, celecoxib, diclofenac, ibuprofen, indomethacin, lornoxicam, piroxicam, or naproxen.

Conclusions: Although *CYP2C8/9* activity plays an essential role in the metabolism of and clinical response to many NSAIDs, the use of pharmacogenomic techniques is not equally useful for all these drugs.

Key words: Pharmacogenomics. Metabolism. Pharmacokinetics. *CYP2C8*. *CYP2C9*.

Martínez C, Blanco G, García-Martín E, G. Agúndez JA. Farmacogenómica clínica de *CYP2C8* y *CYP2C9*: conceptos generales y aplicación al uso de AINE. *Farm Hosp* 2006; 30: 240-248.

La actividad investigadora en los laboratorios de los autores está financiada por los proyectos FIS 05/1056 y SAF 2003/00967.

Recibido: 13-02-2006

Aceptado: 21-06-2006

Correspondencia: José A. G.-Agúndez. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura. Avda. de Elvas, s/n. 06071 Badajoz. Fax: 924 289 676. e-mail: jagundez@unex.es

INTRODUCCIÓN

La farmacogenómica es un área de la farmacología que se encuentra en pleno desarrollo y que estudia la contribución de factores genéticos a las diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos. Aunque el ámbito de estudio de la farmacogenómica implica también la variabilidad farmacodinámica, por ejemplo, a través del estudio de polimorfismos en genes que codifican receptores, es en el ámbito de la farmacocinética, y en particular en el metabolismo de fármacos, donde la farmacogenómica ha adquirido un desarrollo pleno y donde se están obteniendo los primeros resultados de utilidad clínica.

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos es una importante causa de efectos adversos. En muchos casos esta variabilidad está ligada al polimorfismo de genes que codifican las enzimas responsables del metabolismo de dichos fármacos. La mayoría de enzimas que metabolizan fármacos son polimórficas debido a la presencia de mutaciones en los genes que las codifican. Estas mutaciones, que consisten en la ausencia completa del gen, polimorfismos de un solo nucleótido, aislados o combinados y duplicaciones génicas, causan ausencia, reducción, alteración o incremento de la actividad enzimática^{1,2}. Los portadores de mutaciones en genes codificadores de enzimas metabolizadoras de fármacos, cuando son tratados con dosis estándar de un fármaco que sea sustrato de la enzima afectada, suelen presentar niveles plasmáticos más elevados, cifras de aclaramiento más bajas^{3,4}, y un incremento en la frecuencia y severidad de reacciones adversas secundarias al uso de dicho fármaco^{5,6}.

Las enzimas citocromo P450 2C8 (CYP2C8) y 2C9 (CYP2C9) pertenecen a una de las principales familias de enzimas implicadas en el metabolismo de fármacos. Los genes que codifican estas dos enzimas, junto a los que codifican los otros componentes de CYP2C, denominados CYP2C18 y CYP2C19, se agrupan en dos *clusters* consecutivos en el cromosoma 10 y muestran un alto grado de asociación, de modo que la presencia de mutaciones en uno de los genes suele coincidir con mutaciones en otros genes del *cluster* (revisado en García-Martín y cols.⁷). La importancia clínica de los polimorfismos de CYP2C8 y CYP2C9 radica la concurrencia de dos factores: ambas enzimas están implicadas en el metabolismo de numerosos fármacos de uso clínico, algunos de los cuales tienen un margen terapéutico muy estrecho, y además un porcentaje elevado de la población española es portadora de mutaciones en los genes que codifican estas enzimas. En esta revisión se analizan las principales mutaciones de los genes CYP2C8 y CYP2C9, su frecuencia en poblaciones de diverso origen étnico, los métodos de análisis que permiten detectar dichas mutaciones y los principales fármacos cuyo metabolismo resulta afectado, con especial énfasis en los antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

MÉTODO

La recopilación de artículos originales se hizo a través de búsquedas repetidas en las bases de datos de Medline (Pubmed: intervalo enero 1966-enero 2006) y en el buscador *Scholar Google*, cruzando el nombre de los genes (CYP2C8, CYP2C9) y de cualquier variante alélica de estos genes (CYP2C8*, CYP2C9*) con el nombre de cada uno de los fármacos, o con los términos: *substrate*, *pharmacokinetics*, *pharmacodynamics*, *response*, *adverse*, *side*. Para la búsqueda de métodos de detección se cruzaron los genes y las variantes alélicas con los términos: *genotyping*, *detection*, *identification*, *method*, *restriction*, *real-time*, *fluorescence*, *pyrosequencing*, *microarray*, *array*. Para recopilar información sobre la frecuencia de las variantes alélicas se cruzaron los genes y las variantes con los términos: *population*, *frequency*, *individuals*. Para la búsqueda de información sobre el metabolismo de los AINE se cruzaron los nombres de los fármacos con los términos: *metabolism*, *biodisposition*, *clearance*, *degradation*. Todas las búsquedas fueron limitadas a estudios realizados en humanos y se excluyeron aquellos artículos no escritos en lengua inglesa o española.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente se han descrito 10 variantes alélicas del gen CYP2C8 y 24 variantes de CYP2C9 cuyos datos actualizados se pueden obtener *on line*⁸. No todas las variantes de estos genes tienen un efecto relevante sobre la capacidad de metabolizar fármacos. La tabla I muestra las mutaciones más relevantes de los genes CYP2C8 y CYP2C9. Hay que tener en cuenta que muchas de estas variantes, pese a tener un efecto significativo en la capacidad metabólica, no aparecen en una proporción relevante en todas las poblaciones. Por razones de rapidez y economía de medios, el uso preclínico de métodos de detección de estas variantes alélicas debería limitarse a aquellas que, además de causar una alteración significativa en el metabolismo de sustratos de dichas enzimas, se trate de variantes alélicas que estén presentes en la población española, como se muestra en la tabla II.

Hay particularidades que deben ser tenidas en cuenta para residentes en España cuyo origen étnico no sea caucásico (Tabla II). Por ejemplo, los pacientes de origen oriental presentan una variabilidad mucho menor que los españoles en estos genes. Mientras que en caucásicos aparecen mutados aproximadamente un 22% de los genes CYP2C8 y un 31% de los genes CYP2C9, en orientales aparecen mutados menos de un 1% de los genes CYP2C8 y cerca de un 3% de los genes CYP2C9⁹. En individuos árabes, de origen caucásico, no se han estudiado aún las frecuencias de las variantes de CYP2C8. En cuanto a CYP2C9, las variantes alélicas más frecuentes son las mismas que las de los individuos caucásicos presentes en

Tabla I. Principales variantes alélicas de los genes CYP2C8 y CYP2C9

Variante alélica	Frecuencia (%)	Cambio de aminoácido	Metabolismo in vivo	Metabolismo in vitro	Referencias
CYP2C8*1	77%	Ninguno	Normal	Normal	10, 69
CYP2C8*2	< 0,5%	(Ile) 269 (Phe)	Desconocido	Aumento de km	9
CYP2C8*3	16%	(Arg) 139 (Lys) + (Lys) 399 (Arg)	Disminuido	Disminuido	4, 9
CYP2C8*4	6%	(Ile) 264 (Met)	Escasa repercusión	Escasa repercusión	10
CYP2C8*5	< 0,5%	Cambio del marco de lectura	Sin actividad	Sin actividad	11
CYP2C9*1	69%	Ninguno	Normal	Normal	17, 70, 71
CYP2C9*2	16%	(Arg) 144 (Cys)	Reducido	Controvertido	17, 72-75
CYP2C9*3	15%	(Ile) 359 (Leu)	Reducido	Reducido	12, 16, 17, 71, 76, 77
CYP2C9*5	< 0,1%	(Asp) 360 (Glu)	Reducido	Reducido	14, 15
CYP2C9*6	< 0,1%	Cambio del marco de lectura	Abolido	Abolido	16
CYP2C9*11	< 0,1%	(Arg) 335 (Trp)	Reducido	Desconocido	18

La frecuencia de las variantes se refiere a la observada o a la esperada en la población española y se basa en una compilación de datos revisados en García-Martín y cols.⁷ y datos recientemente descritos²⁷. En la columna del cambio de aminoácidos se indican el aminoácido original, la posición y el mutado.

Tabla II. Frecuencias de las principales variantes de CYP2C8 y CYP2C9 en diversas etnias presentes en España

Variante alélica	Caucásicos	Orientales	Árabes	Africanos	Hispanos
CYP2C8*2	< 0,1%	< 0%	Desconocida	18%	Desconocida
CYP2C8*3	16%	< 0,1%	Desconocida	2%	Desconocida
CYP2C8*4	6%	< 0,1%	Desconocida	Desconocida	Desconocida
CYP2C8*5	< 0,1%	0,5%	Desconocida	Desconocida	Desconocida
CYP2C9*2	16%	Ausente	11%	3%	11%
CYP2C9*3	15%	3%	9%	1,5%	4%
CYP2C9*5	< 0,1%	< 0,1%	Desconocida	1,5%	< 0,1%
CYP2C9*6	< 0,1%	Ausente	Desconocida	1%	< 0,1%
CYP2C9*11	< 0,1%	Desconocida	Desconocida	2,7%	Desconocida

La frecuencia de las variantes se basa en una compilación de datos revisados en García-Martín y cols.⁷ y datos recientemente descritos²⁷.

España, aunque aparecen con menor frecuencia (Tabla II). Entre los africanos no caucásicos la distribución de alelos es más compleja. Respecto a *CYP2C8*, aproximadamente un 20% de los alelos presenta mutaciones, pero la mayor parte de estas mutaciones corresponden a la variante *CYP2C8*2*, que no aparece en otras poblaciones (Tabla II). Respecto a *CYP2C9*, aproximadamente un 10% de los alelos aparece mutado, pero las mutaciones se reparten entre al menos cinco variantes, muchas de las cuales no aparecen en otras poblaciones⁷. En poblaciones de origen hispano no existen datos acerca de *CYP2C8*. En el caso de *CYP2C9*, las variantes más frecuentes son las mismas que entre los españoles caucásicos, aunque las frecuencias son diferentes. Teniendo en cuenta la frecuencia de variantes en cada población (Tabla II) y el efecto de dichas variantes en la actividad enzimática (Tabla I), las más predictivas de la farmacocinética de sustratos de *CYP2C8* y *CYP2C9* son *CYP2C8*3*, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* para caucásicos, árabes, e hispanos, *CYP2C8*5* y *CYP2C9*3* para orientales y *CYP2C8*2*, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*11* para pacientes de raza negra.

Existen diversos métodos de detección de estas variantes alélicas. Los métodos desarrollados inicialmente consisten en amplificar un área del gen que contiene la muta-

ción y posteriormente someter el producto amplificado a digestión con endonucleasas que identifican la presencia de la secuencia mutada. Ejemplos de dichos métodos se describen en detalle en las siguientes referencias: *CYP2C8*2*⁹, *CYP2C8*3*^{4,9}, *CYP2C8*4*¹⁰, *CYP2C8*5*¹¹, *CYP2C9*2*^{12,13}, *CYP2C9*3*^{12,13}, *CYP2C9*5*^{14,15}, *CYP2C9*6*^{14,16} y *CYP2C9*11*^{14,17-19}. Los métodos de amplificación-restricción son lentos, pero a cambio tienen la ventaja de ser los

Tabla III. Efecto de los polimorfismos en los genes CYP2C8 y CYP2C9 en el uso clínico de diversos fármacos, excluidos los AINE

Fármaco	Polimorfismo	Tipo de asociación	Referencias
Acenocumarol	CYP2C9	FC, FD	78
Amiodarona	CYP2C9	FC	79
Etopósido	CYP2C8, CYP2C9	FC	80
Fenitoína	CYP2C9	RC, FD, FC	16, 81
Fluvastatina	CYP2C9	FC	82, 83
Glibenclámda	CYP2C9	FC, FD	84
Irbesartán	CYP2C9	RC, FD	85
Paclitaxel	CYP2C8	RC, FD, FC	3, 9, 10, 86
Tenipósido	CYP2C8, CYP2C9	FC	80
Tolbutamida	CYP2C9	RC, FD, FC	19, 87, 88
Warfarina	CYP2C9	RC, FD, FC	73, 89-91

RC: asociación con la respuesta clínica; FD: asociación farmacodinámica; FC: asociación farmacocinética.

más versátiles, ya que permiten adaptar los análisis a las variantes alélicas más relevantes según el origen étnico del paciente. Los métodos basados en tecnologías de PCR en tiempo real permiten un análisis más rápido, aunque hay algunas variantes alélicas para las que aún no se han desarrollado métodos y por lo tanto su versatilidad es menor. Estos métodos de PCR en tiempo real se describen en detalle en las siguientes referencias: para *CYP2C8**2^{20,21}, *CYP2C8**3^{20,21} y *CYP2C8**4²⁰, *CYP2C9**2²¹⁻²³, *CYP2C9**3^{22,24}, *CYP2C9**5²¹ y *CYP2C9**11²¹. Los métodos basados en pirosecuenciación son aún más rápidos que los anteriores, de modo que se pueden obtener resultados de cientos de individuos en pocas horas. Sin embargo su desarrollo se limita a algunas variantes alélicas y no cubren las necesidades de todas las etnias presentes en España. Se han descrito métodos para *CYP2C8**2²⁵, *CYP2C8**3²⁵, *CYP2C8**4²⁵, *CYP2C9**2²⁵⁻²⁷, *CYP2C9**3²⁵⁻²⁷ y *CYP2C9**5²⁵. Finalmente, los métodos basados en *microarrays* son los más prometedores porque permiten el análisis de un gran número de variantes alélicas simultáneamente. Estos métodos se encuentran aún en fase de desarrollo, pero ya se ha descrito su uso para detectar las principales variantes del gen *CYP2C9*²⁸⁻³².

En cuanto al efecto de dichas mutaciones en la farmacocinética y en los efectos adversos de diversos fármacos, estos efectos dependen del grado de implicación de dichas enzimas en el metabolismo de cada fármaco. La tabla III muestra fármacos que son sustratos de CYP2C8 y CYP2C9. Con la mayor parte de estos sustratos se ha demostrado una asociación inequívoca entre la presencia de variantes alélicas, especialmente *CYP2C8**3, *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3, y alteraciones farmacocinéticas^{33,34}. Frecuentemente dichas mutaciones se asocian además a alteraciones farmacodinámicas, cambios en la respuesta terapéutica y/o efectos adversos. Destacan entre ellos la asociación de variantes de *CYP2C8* con rabdomiólisis durante el uso de cerivastatina³⁵ o la presencia de hemorragias en pacientes portadores de variantes de CYP2C9 en tratamiento con warfarina⁶. Desde un punto de vista de la relación costo/eficacia, el análisis de polimorfismos puede ser más eficiente con aquellos fármacos en los que aparecen alteraciones a varios niveles (Tabla III).

Mención aparte merecen los AINE por tratarse de fármacos sobre cuyo uso existe un menor control facultativo y porque se ha demostrado que la presencia de mutaciones en el gen *CYP2C9* predispone al desarrollo de hemorragias digestivas en pacientes tratados con determinados AINE⁵.

Tradicionalmente, se ha considerado que la enzima predominante en el metabolismo de la mayor parte de los AINE es CYP2C9, sin embargo, recientes evidencias apuntan a un papel relevante de CYP2C8 en el metabolismo de muchos AINE^{3,4,33}. Por este motivo, aunque en la tabla IV se muestra que el efecto de la variante *CYP2C8**3 es aún desconocido para la mayor parte de los AINE, debe tenerse en cuenta que en muchos casos es probable que CYP2C8 juegue un papel tan relevante

como CYP2C9 en el metabolismo de dichos fármacos, y por ello nos referiremos a la actividad enzimática combinada como CYP2C8/9.

Dentro del grupo de los AINE, no todos ellos son sustratos exclusivos de CYP2C8/9 y por lo tanto la utilidad de los métodos de análisis de las variantes alélicas de *CYP2C8* y *CYP2C9* varía con cada fármaco. A continuación se analiza la contribución de CYP2C8 y CYP2C9 al metabolismo de diversos AINE.

Fármacos con metabolismo predominante a través de enzimas CYP2C8/9.

Celecoxib

El celecoxib es extensamente metabolizado en el hígado. Menos del 3% del fármaco es excretado sin metabolizar. La principal vía metabólica es metil-hidroxilación a hidroxicelecoxib, el cual sufre oxidación a carboxicelecoxib, que es el principal metabolito en el ser humano. Carboxicelecoxib es metabolizado mediante conjugación con ácido glucurónico y excretado en la bilis^{36,37}. La metil-hidroxilación de celecoxib es principalmente catalizada por la enzima CYP2C9. El aclaramiento de celecoxib está disminuido en los portadores de la variante alélica *CYP2C9**3, tanto en heterocigotos como en homocigotos³⁴.

Ibuprofeno

El ibuprofeno es ampliamente metabolizado a metabolitos hidroxilados. Sólo el 1% del fármaco original es eliminado en orina sin transformar, y en torno al 15% se elimina conjugado por esta misma vía³⁸. Muchas preparaciones de ibuprofeno contienen una mezcla de R-(-) y S-(+)-ibuprofeno. Estudios *in vitro* indican que existe estereoselectividad en la hidroxilación del ibuprofeno. CYP2C9 es la principal enzima implicada en la hidroxilación de S-(+)-ibuprofeno, y CYP2C8 y CYP2C9 están implicadas en la hidroxilación de R-(-)-ibuprofeno³⁹. Con respecto a R-(-)-ibuprofeno, se ha demostrado que el polimorfismo CYP2C8 causa una gran variabilidad farmacocinética^{3,4}. El alelo *CYP2C9**3 también causa una reducción del aclaramiento, menor pero también significativa⁴. La variante alélica *CYP2C9**2 es irrelevante para la biodisponibilidad del ibuprofeno.

Piroxicam

El metabolismo del piroxicam es llevado a cabo principalmente por hidroxilación a 5'-hidroxipiroxicam, el cual es posteriormente conjugado con ácido glucurónico. La eliminación urinaria de fármaco sin metabolizar es muy escasa⁴⁰. La enzima CYP2C9 juega un papel predominante en la 5-hidroxilación del piroxicam, aunque no

se descarta la contribución de otras enzimas CYP2C⁴¹. Estudios *in vitro* y evidencias indirectas basadas en interacciones farmacológicas apoyan que la farmacocinética del piroxicam puede tener una fuerte asociación con el genotipo CYP2C9⁴².

Fármacos con metabolismo parcial (50-90%) a través de enzimas CYP2C8/9

Aceclofenaco

El aceclofenaco es metabolizado a 4'-hidroxiaceclofenaco por la enzima CYP2C9⁴³ y a diclofenaco a través de esterasas plasmáticas. El 4'-hidroxiaceclofenaco y diclofenaco son finalmente transformados en 4'-hidroxidiclofenaco a través de esterasas plasmáticas y CYP2C9, respectivamente. Ni el aceclofenaco ni el 4'-hidroxi-aceclofenaco inhiben la actividad enzimática COX-1 o COX-2 y, por lo tanto, la conversión de aceclofenaco a diclofenaco y de 4'-hidroxi-aceclofenaco a 4'-hidroxidiclofenaco son necesarias para obtener efecto terapéutico⁴⁴. Aunque CYP2C9 es la principal enzima implicada en el metabolismo de aceclofenaco, los dos pasos metabólicos llevados a cabo por esta enzima parecen ser de escasa importancia para el efecto del fármaco. Una parte sustancial del aceclofenaco es convertida en diclofenaco, por lo que es probable que la débil asociación del genotipo CYP2C9 y la variabilidad farmacocinética observada para diclofenaco (ver más adelante) sea también aplicable a pacientes tratados con aceclofenaco.

Indometacina

La indometacina es metabolizada en el hígado principalmente mediante O-desmetilación y N-deacetilación. La formación del metabolito inactivo O-desmetilindometaci-

na, que representa cerca del 50% del total eliminado en orina, es llevada a cabo por CYP2C9^{45,46}. A pesar del destacado papel de CYP2C9 en el metabolismo de indometacina, ningún estudio ha analizado si las variantes genéticas de CYP2C9 ejercen influencia en la farmacocinética o los efectos de este fármaco. Se ha descrito el caso de un paciente homocigoto para el alelo CYP2C9*3 y en tratamiento a largo plazo con 1,25 a 5 mg a la semana de acenocumarol, que repentinamente desarrolló hemorragia digestiva al ser tratado con indometacina, lo cual sugiere que individuos con alteración en el metabolismo de CYP2C9 son más propensos a desarrollar interacciones farmacológicas relacionadas con la indometacina⁴⁷.

Otros fármacos de menor uso en España cuyo metabolismo es llevado a cabo parcialmente por las enzimas CYP2C8/9 son flurbiprofeno^{42,48,49}, lornoxicam⁵⁰⁻⁵², tenoxicam⁴¹ y meloxicam⁵³.

Fármacos con metabolismo secundario (10-50%) a través de enzimas CYP2C8/9

Diclofenaco

El metabolismo del diclofenaco es llevado a cabo mediante acil-glucuronidación por la enzima uridín 5'-difosfoglucuronosil transferasa UGT2B754, y diversas vías de hidroxilación⁵⁵. Menos del 50% del diclofenaco es eliminado como 4-hidroxidiclofenaco, un producto de CYP2C9. El otro metabolito en humanos, 5-hidroxidiclofenaco, parece ser resultado de varias enzimas que incluyen CYP2C8, CYP2C18, CYP2C19 y CYP2B6^{56,57}. El diclofenaco glucuronizado es metabolizado por CYP2C8^{57,58}. El polimorfismo en el gen de CYP2C9 no causa cambios relevantes en la farmacocinética del diclofenaco. La variante alélica CYP2C9*2 no altera, o lo hace en pequeña medida, el aclaramiento del diclofenaco⁵⁹⁻⁶¹ y la influencia de CYP2C9*3 es muy limitada³⁴.

Tabla IV. Efecto de los polimorfismos en los genes CYP2C8 y CYP2C9 en el uso clínico de diversos AINE

Fármaco	Polimorfismo	Tipo de asociación	Asociación con CYP2C8*3	Asociación con CYP2C9*2	Asociación con CYP2C9*3	Referencias
Celecoxib	CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Débil	Alta	5, 34, 59, 92, 93
Ibuprofeno	CYP2C8, CYP2C9	RC, FC	Alta	Débil	Alta	3-5, 34, 94
Piroxicam	CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Alta	Alta	5, 42, 77, 95, 96
Aceclofenaco	CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Débil	Débil	5, 43
Indometacina	CYP2C9	RC	Desconocida	Desconocida	Desconocida	5, 45-47, 97, 98
Flurbiprofeno	CYP2C9	FC	Desconocida	Alta	Alta	42, 48, 49, 99
Lornoxicam	CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Débil	Alta	5, 50-52
Meloxicam	CYP2C9	FC	Desconocida	Desconocida	Desconocida	53
Tenoxicam	CYP2C9	FC	Desconocida	Débil	Débil	41, 100, 101
Diclofenaco	CYP2C8, CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Débil	Débil	5, 34, 59-61
Naproxeno	CYP2C9	RC, FC	Desconocida	Débil	Débil	5, 49, 63
Parecoxib y Valdecoxib	CYP2C9	FC	Desconocida	Débil	Débil	64

RC: asociación con la respuesta clínica; FD: asociación farmacodinámica; FC: asociación farmacocinética.

Naproxeno

El naproxeno es metabolizado mediante acil glucuronidación para formar naproxeno-acil-glucurónido y mediante O-desmetilación para formar 6-O-desmetilnaproxeno. El metabolito desmetilado sufre posteriores pasos de conjugación⁶². La enzima CYP2C9 es responsable de la mayor parte de la actividad de desmetilación de las dos formas enantioméricas, S-naproxeno y R-naproxeno⁶³. El aclaramiento del naproxeno está reducido en portadores de variantes alélicas de CYP2C9⁴⁹. Sin embargo, hay que tener en cuenta que CYP2C9 juega un papel secundario en el metabolismo de este fármaco y que además de la desmetilación, existen otras vías metabólicas implicadas en la biodisponibilidad del naproxeno y, por lo tanto, es poco probable una asociación clara entre el genotipo CYP2C9 y la farmacocinética del naproxeno.

Parecoxib y valdecoxib

El parecoxib es un profármaco inactivo de valdecoxib que se convierte rápidamente en valdecoxib^{64,65}. El valdecoxib es posteriormente metabolizado siendo el principal metabolito el hidroxivaldecoxib, aunque también se produce N-glucuronidación. El hidroxivaldecoxib es glucuronizado a metabolitos inactivos⁶⁵. El hidroxiparecoxib es un metabolito activo y esto, junto a la implicación de la glucuronidación en el metabolismo de valdecoxib e hidroxivaldecoxib, hace poco probable que el polimorfismo de CYP2C9 tenga una repercusión importante en la farmacocinética y efectos de estos dos fármacos.

Como se muestra en la tabla IV, en muchos casos la relación de los polimorfismos CYP2C8 y/o CYP2C9 es débil o aún no ha sido aclarada. Por otra parte, además de la variabilidad en la farmacocinética relacionada con los polimorfismos, existe un aspecto que debe ser tenido en cuenta durante el uso clínico de AINE, que es el riesgo de desarrollar hemorragia digestiva alta. Este riesgo se asocia al genotipo CYP2C9, de modo que los portadores de las variantes alélicas CYP2C9*2 y CYP2C9*3 tienen un riesgo más elevado de desarrollar hemorragias secundarias al uso de AINE. Este riesgo es 2,5 veces mayor al de la población general en el caso de portadores heterocigotos y 3,7 veces mayor en el caso de portadores homocigotos⁵. El riesgo de hemorragia digestiva asociada al genotipo CYP2C9 es particularmente relevante para el uso de aceclofenaco, celecoxib, diclofenaco, ibuprofeno, indometacina, lornoxicam, piroxicam y naproxeno⁵.

En resumen, aunque la actividad CYP2C8/9 juega un papel fundamental en el metabolismo y en la respuesta clínica de muchos AINE, el uso de técnicas farmacogenómicas no tiene la misma utilidad para todos estos fármacos. De hecho, el uso indiscriminado de estas técnicas puede conducir a una deficiente relación costo/beneficio

si no se tienen en cuenta todos los factores comentados previamente. El uso de *microarrays* que permiten la detección de mutaciones para algunos citocromos P₄₅₀ ha sido recientemente aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA)^{66,67}. Sin embargo, estos *microarrays* no cubren todos los genes relacionados con alteraciones farmacocinéticas y reacciones adversas. Por otra parte su coste, que excede los 400 € por muestra^{66,67}, es demasiado alto para que con unos recursos limitados se pueda hacer un uso generalizado de los mismos en la sanidad pública. Sin embargo, un uso racional de estos métodos puede tener una relación costo/eficacia muy beneficiosa para el sistema público de salud ya que pueden contribuir a un importante ahorro de los recursos empleados en el tratamiento de reacciones adversas a fármacos. En este sentido hay que tener en cuenta que cerca del 60% de los fármacos que causan las reacciones adversas más frecuentes y clínicamente relevantes son metabolizados al menos por una enzima polimórfica de la cual se han descrito mutaciones que modifican su capacidad metabólica⁶⁸.

Antes de implantar análisis farmacogenómicos de rutina, es necesario establecer criterios que permitan racionalizar su uso y optimizar los recursos al máximo de acuerdo a los datos revisados en este artículo. Esta definición de criterios, que es válida tanto para los genes CYP2C8 y CYP2C9 como para otros genes que codifican enzimas metabolizadoras de fármacos, se resume en lo siguiente:

1. El paciente va a ser tratado con un fármaco que sea sustrato preferente de una enzima polimórfica.
2. La farmacocinética, la respuesta clínica o el riesgo de desarrollar efectos adversos con ese fármaco está relacionada con las mutaciones en el gen que codifica dicha enzima.
3. La alteración que causa el genotipo en la farmacocinética o los efectos adversos con los que se relaciona son clínicamente relevantes.
4. Los métodos de análisis utilizables en el hospital permiten detectar las principales mutaciones del gen en cuestión.
5. Los métodos de análisis tienen en cuenta el grupo étnico al que pertenece el paciente.

En esta revisión se han analizado los criterios necesarios para adecuar los métodos de análisis farmacogenómico a cada paciente y a cada fármaco, utilizando como ejemplo los genes CYP2C8 y CYP2C9. Estos criterios pueden ser de utilidad para valorar cuándo y cómo es conveniente realizar análisis farmacogenómicos. El mayor potencial de estos análisis para detectar pacientes con alto riesgo a desarrollar efectos adversos se obtendrá en los casos en que se cumplan los cinco criterios anteriores. En caso de detectarse mutaciones en un paciente, deberá valorarse la conveniencia de un tratamiento alternativo con fármacos que no sean sustratos de las enzimas CYP2C8 y/o CYP2C9, o de la enzima mutada si el análisis se refiere a otra enzima metabolizadora de fármacos.

Bibliografía

- Meyer UA. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 669-76.
- Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 193-200.
- Martínez C, García-Martín E, Blanco G, Gamito FJ, Ladero JM, Agúndez JA. The effect of the cytochrome P450 CYP2C8 polymorphism on the disposition of (R)-ibuprofen enantiomer in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59: 62-9.
- García-Martín E, Martínez C, Tabares B, Frías J, Agúndez JA. Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 119-27.
- Martínez C, Blanco G, Ladero JM, García-Martín E, Taxonera C, Gamito FG, et al. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 205-8.
- Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a hugenet systematic review and meta-analysis. *Genet Med* 2005; 7: 97-104.
- García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JA. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diag Ther* 2006; in press.
- Sim SC, Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Nebert DW. Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee [online]. Available from URL: <http://www.imm.ki.se/CYPAlleles/default.htm> [Accessed 2006 February 1]. 2006.
- Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI, et al. Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 597-607.
- Bahadur N, Leathart JB, Mutch E, Steimel-Crespi D, Dunn SA, Gilissen R, et al. CYP2C8 polymorphisms in Caucasians and their relationship with paclitaxel 6alpha-hydroxylase activity in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1579-89.
- Soyama A, Saito Y, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Ozawa S, et al. Five novel single nucleotide polymorphisms in the CYP2C8 gene, one of which induces a frame-shift. *Drug Metab Pharmacokin* 2002; 17: 374-7.
- Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, et al. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 341-9.
- García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Gamito FJ, Agúndez JA. High frequency of mutations related to impaired CYP2C9 metabolism in a Caucasian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 47-9.
- Allabi AC, Gala JL, Horsmans Y, Babaoglu MO, Bozkurt A, Heusterspreute M, et al. Functional impact of CYP2C95, CYP2C96, CYP2C98, and CYP2C911 in vivo among black Africans. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 113-8.
- Dickmann LJ, Rettie AE, Kneller MB, Kim RB, Wood AJ, Stein CM, et al. Identification and functional characterization of a new CYP2C9 variant (CYP2C9*5) expressed among African Americans. *Mol Pharmacol* 2001; 60: 382-7.
- Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein JA. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 803-8.
- King BP, Khan TI, Aithal GP, Kamali F, Daly AK. Upstream and coding region CYP2C9 polymorphisms: correlation with warfarin dose and metabolism. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 813-22.
- Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *Jama* 2002; 287: 1690-8.
- Blaisdell J, Jorge-Nebert LF, Coulter S, Ferguson SS, Lee SJ, Chanas B, et al. Discovery of new potentially defective alleles of human CYP2C9. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 527-37.
- Weise A, Grundler S, Zaumsegel D, Klotzek M, Grondahl B, Forst T, et al. Development and evaluation of a rapid and reliable method for cytochrome P450 2C8 genotyping. *Clin Lab* 2004; 50: 141-8.
- Dreisbach AW, Japa S, Sigel A, Parenti MB, Hess AE, Srinouanprachanh SL, et al. The prevalence of CYP2C8, 2C9, 2J2, and soluble epoxide hydrolase polymorphisms in African Americans with hypertension. *Am J Hypertens* 2005; 18: 1276-81.
- Burian M, Grosch S, Tegeder I, Geisslinger G. Validation of a new fluorogenic real-time PCR assay for detection of CYP2C9 allelic variants and CYP2C9 allelic distribution in a German population. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 518-21.
- Oliver DH, Thompson RE, Griffin CA, Eshleman JR. Use of single nucleotide polymorphisms (SNP) and real-time polymerase chain reaction for bone marrow engraftment analysis. *J Mol Diagn* 2000; 2: 202-8.
- Hiratsuka M, Agatsuma Y, Mizugaki M. Rapid detection of CYP2C9*3 alleles by real-time fluorescence PCR based on SYBR Green. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 357-62.
- Hruska MW, Frye RF, Langae TY. Pyrosequencing method for genotyping cytochrome P450 CYP2C8 and CYP2C9 enzymes. *Clin Chem* 2004; 50: 2392-5.
- Eriksson S, Berg LM, Wadelius M, Alderborn A. Cytochrome p450 genotyping by multiplexed real-time DNA sequencing with pyrosequencing technology. *Assay Drug Dev Technol* 2002; 1: 49-59.
- Mas S, Crescenti A, Vidal-Taboada JM, Bergonon S, Cuevillas F, Laso N, et al. Simultaneous genotyping of CYP2C9*2, *3, and 5' flanking region (C-1189T) polymorphisms in a Spanish population through a new minisequencing multiplex single-base extension analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61: 635-41.
- Li J, Wen SY, Wang R, Chen K, Fang Y, Pei F, et al. Influence of cytochrome P450 CYP2C9 polymorphism on the pharmacokinetics of tolbutamide metabolism using oligonucleotide genotyping microarray. *Yao Xue Xue Bao* 2005; 40: 695-9.
- Nakai K, Habano W, Fukushima N, Suwabe A, Moriya S, Osano K, et al. Ethnic differences in CYP2C9*2 (Arg144Cys) and CYP2C9*3 (Ile359Leu) genotypes in Japanese and Israeli populations. *Life Sci* 2005; 78: 107-11.
- Landi S, Gemignani F, Moreno V, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Guino E, et al. A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 535-46.
- Pickering JW, McMillin GA, Gedge F, Hill HR, Lyon E. Flow cytometric assay for genotyping cytochrome p450 2C9 and 2C19: comparison with a microelectronic DNA array. *Am J Pharmacogenomics* 2004; 4: 199-207.
- Wen SY, Wang H, Sun OJ, Wang SQ. Rapid detection of the known SNPs of CYP2C9 using oligonucleotide microarray. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1342-6.
- Total RA, Rettie AE. Cytochrome P450 2C8: substrates, inhibitors, pharmacogenetics, and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 341-52.
- Kirchheiner J, Brockmoller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 1-16.
- Ishikawa C, Ozaki H, Nakajima T, Ishii T, Kanai S, Anjo S, et al. A frameshift variant of CYP2C8 was identified in a patient who suffered from rhabdomyolysis after administration of cerivastatin. *J Hum Genet* 2004; 49: 582-5.
- Paulson SK, Hribar JD, Liu NW, Hajdu E, Bible RH Jr, Piergies A, et al. Metabolism and excretion of [(14)C]celecoxib in healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 308-14.
- Sandberg M, Yasar U, Stromberg P, Hoog JO, Eliasson E. Oxidation of celecoxib by polymorphic cytochrome P450 2C9 and alcohol dehydrogenase. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 423-9.
- Davies NM. Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34: 101-54.
- Hamman MA, Thompson GA, Hall SD. Regioselective and stereoselective metabolism of ibuprofen by human cytochrome P450 2C. *Biochem Pharmacol* 1997; 54: 33-41.
- Richardson CJ, Blocka KL, Ross SG, Verbeeck RK. Piroxicam and 5'-hydroxypiroxicam kinetics following multiple dose administration of piroxicam. *Eur J Clin Pharmacol* 1987; 32: 89-91.
- Zhao J, Leemann T, Dayer P. In vitro oxidation of oxycam NSAIDs by a human liver cytochrome P450. *Life Sci* 1992; 51: 575-81.
- Hutzler JM, Kolwankar D, Hummel MA, Tracy TS. Activation of

- CYP2C9-mediated metabolism by a series of dapsone analogs: kinetics and structural requirements. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1194-200.
43. Bort R, Ponsoda X, Carrasco E, Gómez-Lechón MJ, Castell JV. Metabolism of aceclofenac in humans. *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 834-41.
 44. Hinz B, Rau T, Auge D, Werner U, Ramer R, Rietbrock S, et al. Aceclofenac spares cyclooxygenase 1 as a result of limited but sustained biotransformation to diclofenac. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 222-35.
 45. Nakajima M, Inoue T, Shimada N, Tokudome S, Yamamoto T, Kuroiwa Y. Cytochrome P450 2C9 catalyzes indomethacin O-demethylation in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1998; 26: 261-6.
 46. Duggan DE, Hogans AF, Kwan KC, McMahon FG. The metabolism of indomethacin in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1972; 181: 563-75.
 47. Zarza J. Major bleeding during combined treatment with indomethacin and low doses of acenocoumarol in a homozygous patient for 2C9*3 variant of cytochrome p-450 CYP2C9. *Thromb Haemost* 2003; 90: 161-2.
 48. Yamazaki H, Inoue K, Chiba K, Ozawa N, Kawai T, Suzuki Y, et al. Comparative studies on the catalytic roles of cytochrome P450 2C9 and its Cys- and Leu-variants in the oxidation of warfarin, flurbiprofen, and diclofenac by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 243-51.
 49. Kirchheiner J, Tshuridu M, Jabrane W, Roots I, Brockmoller J. The CYP2C9 polymorphism: from enzyme kinetics to clinical dose recommendations. *Personalized Med* 2004; 1: 63-84.
 50. Guo Y, Zhang Y, Wang Y, Chen X, Si D, Zhong D, et al. Role of cyp2c9 and its variants (cyp2c9*3 and cyp2c9*13) in the metabolism of lornoxicam in humans. *Drug Metab Dispos* 2005; 33: 749-53.
 51. Zhang Y, Zhong D, Si D, Guo Y, Chen X, Zhou H. Lornoxicam pharmacokinetics in relation to cytochrome P450 2C9 genotype. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59: 14-7.
 52. Bonnabry P, Leemann T, Dayer P. Role of human liver microsomal CYP2C9 in the biotransformation of lornoxicam. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; 49: 305-8.
 53. Chesne C, Guyomard C, Guillouzo A, Schmid J, Ludwig E, Sauter T. Metabolism of Meloxicam in human liver involves cytochromes P4502C9 and 3A4. *Xenobiotica* 1998; 28: 1-13.
 54. King C, Tang W, Ngui J, Tephly T, Braun M. Characterization of rat and human UDP-glucuronosyltransferases responsible for the in vitro glucuronidation of diclofenac. *Toxicol Sci* 2001; 61: 49-53.
 55. Stierlin H, Faigle JW, Sallmann A, Kung W, Richter WJ, Kriemler HP, et al. Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren) in animals and in man. Isolation and identification of principal metabolites. *Xenobiotica* 1979; 9: 601-10.
 56. Bort R, Mace K, Boobis A, Gómez-Lechón MJ, Pfeifer A, Castell J. Hepatic metabolism of diclofenac: role of human CYP in the minor oxidative pathways. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 787-96.
 57. Tang W. The metabolism of diclofenac-enzymology and toxicology perspectives. *Curr Drug Metab* 2003; 4: 319-29.
 58. Kumar S, Samuel K, Subramanian R, Braun MP, Stearns RA, Chiu SH, et al. Extrapolation of diclofenac clearance from in vitro microsomal metabolism data: role of acyl glucuronidation and sequential oxidative metabolism of the acyl glucuronide. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 969-78.
 59. Brenner SS, Herrlinger C, Dilger K, Mordt TE, Hofmann U, Marx C, et al. Influence of age and cytochrome P450 2C9 genotype on the steady-state disposition of diclofenac and celecoxib. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 283-92.
 60. Kirchheiner J, Meineke I, Steinbach N, Meisel C, Roots I, Brockmoller J. Pharmacokinetics of diclofenac and inhibition of cyclooxygenases 1 and 2: no relationship to the CYP2C9 genetic polymorphism in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55: 51-61.
 61. Yasar U, Eliasson E, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Gadd M, Sjoqvist F, et al. The role of CYP2C9 genotype in the metabolism of diclofenac in vivo and in vitro. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 729-35.
 62. Jaggi R, Addison RS, King AR, Suthers BD, Dickinson RG. Conjugation of desmethylnaproxen in the rat-a novel acyl glucuronide-sulfate diconjugate as a major biliary metabolite. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 161-6.
 63. Miners JO, Coulter S, Tukey RH, Veronese ME, Birkett DJ. Cytochromes P450, 1A2, and 2C9 are responsible for the human hepatic O-demethylation of R- and S-naproxen. *Biochem Pharmacol* 1996; 51: 1003-8.
 64. Karim A, Laurent A, Slater ME, Kuss ME, Qian J, Crosby-Sessoms SL, et al. A pharmacokinetic study of intramuscular (i.m.) parecoxib sodium in normal subjects. *J Clin Pharmacol* 2001; 41: 1111-9.
 65. Ibrahim A, Karim A, Feldman J, Kharasch E. The influence of parecoxib, a parenteral cyclooxygenase-2 specific inhibitor, on the pharmacokinetics and clinical effects of midazolam. *Anesth Analg* 2002; 95: 667-73.
 66. AmpliChip CYP450 test. *Med Lett Drugs Ther* 2005; 47: 71-2.
 67. Jain KK. Applications of AmpliChip CYP450. *Mol Diagn* 2005; 9: 119-27.
 68. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadec W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *Jama* 2001; 286: 2270-9.
 69. Klose TS, Blaisdell JA, Goldstein JA. Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs. *J Biochem Mol Toxicol* 1999; 13: 289-95.
 70. Romkes M, Faletto MB, Blaisdell JA, Raucy JL, Goldstein JA. Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry* 1991; 30: 3247-55.
 71. Shintani M, Ieiri I, Inoue K, Mamiya K, Ninomiya H, Tashiro N, et al. Genetic polymorphisms and functional characterization of the 5'-flanking region of the human CYP2C9 gene: in vitro and in vivo studies. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 175-82.
 72. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH: cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 203-10.
 73. Rettie AE, Wienkers LC, González FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 39-42.
 74. Sandberg M, Johansson I, Christensen M, Rane A, Eliasson E. The impact of CYP2C9 genetics and oral contraceptives on cytochrome P450 2C9 phenotype. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 484-9.
 75. Takahashi H, Ieiri I, Wilkinson GR, Mayo G, Kashima T, Kimura S, et al. 5'-Flanking region polymorphisms of CYP2C9 and their relationship to S-warfarin metabolism in white and Japanese patients. *Blood* 2004; 103: 3055-7.
 76. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; 353: 717-9.
 77. Takanashi K, Tainaka H, Kobayashi K, Yasumori T, Hosakawa M, Chiba K. CYP2C9 Ile359 and Leu359 variants: enzyme kinetic study with seven substrates. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 95-104.
 78. Hermida J, Zarza J, Alberca I, Montes R, López ML, Molina E, et al. Differential effects of 2C9*3 and 2C9*2 variants of cytochrome P-450 CYP2C9 on sensitivity to acenocoumarol. *Blood* 2002; 99: 4237-9.
 79. Ohyama K, Nakajima M, Nakamura S, Shimada N, Yamazaki H, Yokoi T. A significant role of human cytochrome P450 2C8 in amiodarone N-deethylation: an approach to predict the contribution with relative activity factor. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1303-10.
 80. Relling MV, Nemec J, Schuetz EG, Schuetz JD, González FJ, Korzekwa KR. O-demethylation of epipodophyllotoxins is catalyzed by human cytochrome P450 3A4. *Mol Pharmacol* 1994; 45: 352-8.
 81. van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 287-91.
 82. Scripture CD, Pieper JA. Clinical pharmacokinetics of fluvastatin. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40: 263-81.
 83. Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, Bauer S, Meineke I, Roots I, et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 186-94.
 84. Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. CYP2C9, but not CYP2C19, polymorphisms affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 370-7.

85. Hallberg P, Karlsson J, Kurland L, Lind L, Kahan T, Malmqvist K, et al. The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs. Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002; 20: 2089-93.
86. Harris JW, Rahman A, Kim BR, Guengerich FP, Collins JM. Metabolism of taxol by human hepatic microsomes and liver slices: participation of cytochrome P450 3A4 and an unknown P450 enzyme. *Cancer Res* 1994; 54: 4026-35.
87. Shon JH, Yoon YR, Kim KA, Lim YC, Lee KJ, Park JY, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genetic polymorphisms on the disposition of and blood glucose lowering response to tolbutamide in humans. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 111-9.
88. Jones BC, Hawsworth G, Horne VA, Newlands A, Morsman J, Tute MS, et al. Putative active site template model for cytochrome P4502C9 (tolbutamide hydroxylase). *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 260-6.
89. Kunze KL, Wienkers LC, Thummel KE, Trager WF. Warfarin-fluconazole. I. Inhibition of the human cytochrome P450-dependent metabolism of warfarin by fluconazole: in vitro studies. *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 414-21.
90. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40: 587-603.
91. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J* 2003; 3: 202-14.
92. Kirchheiner J, Stormer E, Meisel C, Steinbach N, Roots I, Brockmoller J. Influence of CYP2C9 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of celecoxib and its metabolites. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 473-80.
93. Tang C, Shou M, Rushmore TH, Mei Q, Sandhu P, Woolf EJ, et al. In-vitro metabolism of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, by allelic variant forms of human liver microsomal cytochrome P450 2C9: correlation with CYP2C9 genotype and in-vivo pharmacokinetics. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 223-35.
94. Kirchheiner J, Meineke I, Freytag G, Meisel C, Roots I, Brockmoller J. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 62-75.
95. Perini JA, Vianna-Jorge R, Brogliato AR, Suarez-Kurtz G. Influence of CYP2C9 genotypes on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of piroxicam. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 362-9.
96. Tracy TS, Hutzler JM, Haining RL, Rettie AE, Hummel MA, Dickmann LJ. Polymorphic variants (CYP2C9*3 and CYP2C9*5) and the F114L active site mutation of CYP2C9: effect on atypical kinetic metabolism profiles. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 385-90.
97. Pullar T, Capell HA. Interaction of indomethacin and warfarin. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284: 198.
98. Chan TY, Lui SF, Chung SY, Luk S, Critchley JA. Adverse interaction between warfarin and indomethacin. *Drug Saf* 1994; 10: 267-9.
99. Lee CR, Pieper JA, Frye RF, Hinderliter AL, Blaisdell JA, Goldstein JA. Differences in flurbiprofen pharmacokinetics between CYP2C9*1/*1, *1/*2, and *1/*3 genotypes. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 58: 791-4.
100. Vianna-Jorge R, Perini JA, Rondinelli E, Suárez-Kurtz G. CYP2C9 genotypes and the pharmacokinetics of tenoxicam in Brazilians. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 18-26.
101. Nilsen OG. Clinical pharmacokinetics of tenoxicam. *Clin Pharmacokinet* 1994; 26: 16-43.