

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE TRANSPORTADORES DEL FÁRMACO OSELTAMIVIR, UTILIZADO EN EL BROTE PANDÉMICO DE INFLUENZA A H1N1, EN UNA POBLACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.

Por

Q.B.P. ROSA NELLY GONZÁLEZ RÍOS

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS con Acentuación en Inmunobiología**

Octubre 2012

FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE TRANSPORTADORES DEL FÁRMACO OSELTAMIVIR, UTILIZADO EN EL BROTE PANDÉMICO DE INFLUENZA A H1N1, EN UNA POBLACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.

Comité de Tesis

Dr. Juan Manuel Alcocer González
Director de Tesis

Dr. Pablo Zapata Benavides
Secretario

Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales
Vocal

Dr. Mario Abelardo Bermúdez de León
Co-Director externo

FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE TRANSPORTADORES DEL FÁRMACO OSELTAMIVIR, UTILIZADO EN EL BROTE PANDÉMICO DE INFLUENZA A H1N1, EN UNA POBLACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.

por

Q.B.P. ROSA NELLY GONZÁLEZ RÍOS

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Biología Molecular del Laboratorio de Inmunología y Virología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, a cargo del Dr. Juan Manuel Alcocer González, y en el Laboratorio de Diagnostico Molecular del Centro de Investigación Biomédica del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social, a cargo del Dr. Mario A. Bermúdez de León.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
NOMENCLATURA	xi
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	3
3. OBJETIVOS	4
3.1. Objetivo General	4
3.2. Objetivos Específicos	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1. La Influenza A H1N1	5
4.2. Características del virus	6
4.2.1. Periodo de incubación y características clínicas	8
4.2.2. Diagnóstico molecular	10
4.3. Tratamiento farmacológico	10
4.3.1. Efectos adversos al tratamiento por oseltamivir	12
4.4. Transportadores del fármaco oseltamivir	13
4.4.1. La glicoproteína P	13
4.4.1.1. Polimorfismos genéticos en el gen <i>ABCBI</i>	17
4.4.1.1.1. Polimorfismo G2677T/A en el gen <i>ABCBI</i>	17
4.4.1.1.2. Polimorfismo C1236T en el gen <i>ABCBI</i>	18
4.4.1.1.3. Polimorfismo Citocina/Timina en el intrón 3 del gen <i>ABCBI</i>	19
4.4.2. El transportador de oligopéptidos	19

Sección	Página
4.4.2.1. Polimorfismo genético Ser117Asn en el gen <i>SLC15A1</i>	21
5. MÉTODOS	23
5.1. Muestras biológicas	23
5.1.1. Extracción de DNA genómico	23
5.2. Ensayos de discriminación alélica	24
5.3. Análisis estadístico	27
6. RESULTADOS	28
6.1. Frecuencias genotípicas y alélicas	32
6.1.1. Polimorfismo C/T en el intrón 3 del gen <i>ABCBI</i>	32
6.1.2. Polimorfismo Gly412Gly del gen <i>ABCBI</i>	35
6.1.3. Polimorfismo Ala893Ser/Thr del gen <i>ABCBI</i>	38
6.1.4. Polimorfismo Ser117Asn del gen <i>SLC15A1</i>	39
6.2. Haplotipos	43
7. DISCUSIÓN	46
8. CONCLUSIONES	51
8.1. Conclusiones	51
9. PERSPECTIVAS	52
9.1 Perspectivas	52
LITERATURA CITADA	53
RESUMEN BIOGRÁFICO	62

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por darme todo para llegar hasta aquí y permitirme terminar algo que creía interminable.

Al Dr. Juan Manuel Alcocer González por haberme invitado a trabajar en su laboratorio desde mi tesis de licenciatura, por el apoyo que siempre me ha brindado, por la paciencia que me ha tenido, la cual ha sido muchísima, pero sobre todo por volver a confiar en mí a pesar de las deserciones y del tiempo transcurrido. *Gracias por esta última oportunidad.*

Al Dr. Mario Bermúdez de León, por invitarme a trabajar con él, por animarme a terminar la maestría, por su orientación y asesoría para este trabajo, por toda la paciencia que gasto en mi y por hablarme siempre claro y directo, a veces más de lo que yo esperaba; pero sobre todo gracias por la amistad que me ha brindado y por la confianza que puso en mi. Espero no defraudarlo con los resultados.

Gracias a mis compañeros de recepción del Laboratorio de Diagnostico Molecular, Lorena Puente (Lore), Erick (Messi) Álvarez y Rodrigo (Ro) López, por escuchar todas mis quejas, por hacer agradables mi horas en el CIBIN y por recibirme en recepción todos los días; sin ellos me hubiera vuelto loca.

A mi amigo Luis Gerardo Mendoza (Gera), por aguantar el "gorro" que le puse desde que comencé este trabajo hasta los últimos días de la escritura del mismo.

A la Dra. Lydia Rivera y al Dr. Pablo Zapata por formar parte de mi comité de tesis, por las observaciones que le hicieron a la misma y por el tiempo invertido, el cual se que es muy valioso.

A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y al Centro de Investigación Biomédica del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Gracias a mi madre, por estar siempre ahí, por hacer caso a todas mis necesidades, aun a estas alturas de mi vida y por apoyarme a retomar este proyecto.

Y por último a cada una de esas 22 personas que hacen que vea la vida diferente, divertida, interesante, rara, complicada y así, a nuestra manera; Pepe, Juan, Mary, Miguel, Jorge, Daniel, Elizabeth, Diana, Magaly, Zandra, Marina, Laura, Alan, Dania, José Pablo, Katy, Evian, Isabel, Chuy, Diego, Viktor y Miguelito.

DEDICATORIA

A mi Padre (†)

Porque sin él yo no sería lo que soy.

“Siempre acabamos llegando a donde nos esperan”

José Saramago.

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Datos clínicos identificados en pacientes mexicanos con influenza A H1N1 Abril-mayo 2009	9
2.	Localización y posible función de la gp-P en diversos órganos o tejidos.	16
3.	Mezcla de reacción para ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real	24
4.	Variantes polimórficas evaluadas en este estudio para los genes <i>ABCB1</i> y <i>SLC15A1</i>	25
5.	Secuencias nucleotídicas de primers o sondas utilizadas en los ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real para los polimorfismos del gen <i>ABCB1</i>	25
6.	Secuencias nucleotídicas de primers y sondas utilizadas en los ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real para el polimorfismo del gen <i>SLC15A1</i>	26
7.	Condiciones de amplificación para los ensayos de PCR en tiempo real	26
8.	Tipo de muestras utilizadas en este estudio	28
9.	Características de la población en este estudio	29
10.	Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo C/T del intrón 3 del gen <i>ABCB1</i> en una población del noreste de México.	33

Tabla	Página
11. Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo C/T del intrón 3 del gen <i>ABCB1</i>	33
12. Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C/T del intrón 3 del gen <i>ABCB1</i> en diversos grupos de poblaciones	35
13. Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo C1236T del gen <i>ABCB1</i> en una población del noreste de México	36
14. Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo C1236T del gen <i>ABCB1</i>	36
15. Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C1236T del gen <i>ABCB1</i> en diversos grupos de poblaciones	38
16. Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo G2677A/T del gen <i>ABCB1</i> en una población del noreste de México	39
17. Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo Ser117Asn del gen <i>SLC15A1</i> en una población del noreste de México.....	40
18. Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo Ser117Asn del gen <i>SLC15A1</i>	40
19. Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo Ser117Asn del gen <i>SLC15A1</i> en diversos grupos de poblaciones	42
20. Haplotipos presentes en una población del noreste de México usando los genes <i>ABCB1</i> y <i>SLC15A1</i>	44

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Diagrama estructural del virus de influenza A H1N1	7
2.	Ruta de transformación de oseltamivir	12
3.	Conformación esquemática de la glicoproteína P	14
4.	Conformación esquemática del transportador de oligopéptidos ó PepT1	20
5.	Ubicación de las variantes genéticas en transportador de Oligopéptidos PepT1	21
6.	Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo homocigoto silvestre	30
7.	Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo homocigoto mutado	30
8.	Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo heterocigoto	31
9.	Gráfica representativa de discriminación alélica	32

NOMENCLATURA

μg	microgramo o microgramos
μL	microlitro o microlitros
A	Adenina
<i>ABCB1</i>	Gen perteneciente a la familia de genes de unión a ATP (siglas en inglés ABC ATP-Binding Cassette), perteneciente a la subfamilia B, miembro 1.
Ala	Alanina
Asn	Asparagina
ATP	Trifosato de Adenosina
C	Citocina
CDC	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
FDA	Administración de Alimentos y Fármacos

G	Guanina
Gly	Glicina
gp-P	Glicoproteína P
HET	Heterocigoto
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
Kb	Kilobase
KDa	Kilodaltones
<i>MDR1</i>	Gen de multirresistencia a fármacos tipo 1
Min	Minutos
MUT	Mutado
NPAE	Eventos adversos neuropsiquiátricos
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PepT1	Transportador de péptidos 1
ARN	Acido Ribonucleico
RT-PCR	Transcriptasa Inversa-Reacción en cadena de la polimerasa
s	segundos
Ser	Serina

SIL	Silvestre
<i>SLC15A1</i>	Gen perteneciente a la familia 15 de transportadores de solutos, miembro 1
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
T	Timina
Temp	Temperatura
Thr	Treonina

RESUMEN

La pandemia de influenza A H1N1 2009 tuvo su origen en México y fue causada por un virus de ARN identificado como virus influenza A/California/04/2009 (H1N1); para su tratamiento y profilaxis los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América autorizaron y recomendaron el uso de oseltamivir. Este fármaco es transportado al interior/exterior de las células por la glicoproteína-P (gp-P) y el transportador de oligopéptidos (PepT1), y dentro de las células es metabolizado por esterasas hepáticas a la forma activa como carboxilato de oseltamivir. El transportador gp-P está codificado por el gen *ABCBI*, el cual presenta polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) tales como el G2677T/A (rs2032582), C1236T (rs1128503), C/T en el intrón 3 (rs3789243). El transportador PepT1 está codificado por el gen *SLC15A1* y se ha reportado sólo el polimorfismo Ser117Asn (rs2297322). La biodisponibilidad del oseltamivir puede verse influenciada por las variantes genéticas presentes en los transportadores de individuos sometidos a tratamiento con este fármaco. Algunos de estos polimorfismos también han sido relacionados con otras características clínicas relevantes, como lo es la susceptibilidad a desarrollar cáncer colorectal, colitis ulcerativa, y efectos neuropsiquiátricos por oseltamivir. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de 383 muestras de DNA genómico de pacientes adscritos al Instituto Mexicano del Seguro Social radicados en el noroeste de México, a los cuales se les administró el fármaco oseltamivir. El análisis genético se llevó a cabo utilizando sondas TaqMan® en sistemas de PCR en tiempo real 7500 Fast de Applied Biosystems. Se observó que en la población del noreste de México están presentes todos los polimorfismos evaluados en el presente trabajo y éstos mostraron diferencias altamente significativas con respecto a otras poblaciones previamente estudiadas. La frecuencia del alelo mutante para los SNP's del gen *ABCBI* fueron las siguientes, para el SNP C/T del intrón 3 fue de 0.44, para el SNP C1236T fue de 0.37 y para el SNP G2677A/T fue de A= 0.08, T=0.26; para el SNP Ser117Asn del gen *SLC15A1* fue de 0.34. Además, se obtuvieron 55 haplotipos, combinaciones de los polimorfismos estudiados, algunos de los cuales requieren atención puesto que permitirían determinar la susceptibilidad o predisposición para algunas manifestaciones clínicas por efecto del fármaco oseltamivir u otros medicamentos sustrato de los transportadores gp-P y PepT1. Con este proyecto se inicia una base de datos que nos proporcionará la composición de las variantes genéticas presentes en el noreste de México y la cual contribuirá al inicio de la implementación de la medicina personalizada en nuestra población.

ABSTRACT

The pandemic influenza A H1N1 2009, originated in Mexico, was provoked by an RNA virus identified as A/California/04/2009 (H1N1) influenza virus. For treatment and prophylaxis, the Centers for Disease Control and Prevention of United States of America recommended the use of oseltamivir. This drug is transported into/out of cells by P-glycoprotein (P-gp) and the oligopeptide transporter (PepT1). Inside the cells, oseltamivir is metabolized by hepatic esterases to the active form as oseltamivir carboxylate. The P-gp transporter is encoded by the *ABCB1* gene, which have single nucleotide polymorphisms (SNPs) such as G2677T/A (rs2032582), C1236T (rs1128503), C/T in intron 3 (rs3789243). The PepT1 transporter is encoded by the gene *SLC15A1* and only Ser117Asn (rs2297322) polymorphism has been identified. The bioavailability of oseltamivir may be influenced by transporters gene variants in individuals undergoing treatment with this drug. Some of these polymorphisms have also been linked with other relevant clinical findings, such as susceptibility to colorectal cancer, ulcerative colitis, and neuropsychiatric effects by oseltamivir. Therefore, the objective of this study was to determine the genotype and allelic frequencies of 383 genomic DNA samples from patients belonging to the Mexican Social Security Institute at northeast of Mexico. Patients received oseltamivir treatment during influenza outbreak. The genetic analysis was performed with TaqMan® probes using real time PCR assays in 7500 Fast systems. The results showed that the population at northeast of Mexico have all polymorphisms evaluated in this study, and results showed significant differences with respect to other previously studied populations. The mutant allele frequency for *ABCB1* gene SNPs were the following, to the C/T intron 3 was 0.44, for the C1236T was 0.37 and for the G2677A/T was A = 0.08, T = 0.26; the SNP Ser117Asn of *SLC15A1* gene was 0.34. Furthermore, the data grouped 55 different haplotypes, some of them requiring attention due to their association with the susceptibility or predisposition to diseases or side effects by drugs, as oseltamivir. This study contributes to the start of a genomic database at northeast of Mexico and could permit the implementation of personalized medicine in our population.

1. INTRODUCCIÓN

La pandemia más reciente de influenza A H1N1 tuvo su origen en México y se presentó a finales de marzo de 2009; ésta fue causada por un virus de ARN perteneciente a la familia *Orthomyxoviridae*, y posteriormente fue clasificado como virus de influenza A/California/04/2009 (H1N1). La clasificación H1N1 se le otorgó debido a las 2 principales proteínas de superficie, la hemaglutinina (H) y la neuroaminidasa (N), de las cuales se han identificado varios tipos. Para el diagnóstico de la influenza A H1N1 2009, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América (CDC) establecieron un ensayo de RT-PCR en tiempo real para la detección cualitativa del virus. En México y todo el mundo, para el tratamiento de influenza se utilizó un inhibidor de neuroaminidasas, el fármaco oseltamivir, el cual fue aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés), y además está recomendado por los CDC como profiláctico. El fármaco oseltamivir se administra por vía oral, es absorbido en el tracto gastrointestinal y es transformado mediante las carboxilesterasas hepáticas a su forma activa, el carboxilato de oseltamivir. Una vez transformado, el carboxilato de oseltamivir se distribuye a diferentes áreas del cuerpo, como son el tracto respiratorio, oído medio, mucosa nasal y pulmones. Como la mayoría de los fármacos, el oseltamivir está asociado con efectos adversos, los cuales por lo general son leves y transitorios, como las náuseas y el vómito, aunque también se ha observado en los pacientes insomnio, vértigo, confusión mental, convulsiones, arritmia cardíaca, y algunos eventos neuropsiquiátricos como delirios o trastornos de la percepción. Dentro de las principales proteínas involucradas en el transporte del fármaco

oseltamivir se encuentran la glicoproteína-P (gp-P) y el transportador de oligopéptidos (PepT1).

Existen diversas variaciones en los genes *ABCB1* (gp-P) y el gen *SLC15A1* (PepT1) que codifican a estas proteínas transportadoras; estas variaciones también llamadas polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs, ocurren en regiones codificantes y no codificantes, las cuales pueden alterar la función de las proteínas. Estas variaciones han permitido inferir el efecto y/o la biodisponibilidad de los fármacos. El objetivo del presente trabajo fue determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de algunos polimorfismos presentes en el gen *ABCB1* (G2677T/A, rs2032582; C1236T, rs1128503; C/T en el intrón 3, rs3789243) y en el gen *SLC15A1* (Ser117Asn, rs2297322) en derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social que radican en el noroeste de México, a los cuales se les administró el fármaco oseltamivir.

2. HIPÓTESIS

Las variantes polimórficas G2677T/A, C1236T y C/T en el intrón 3 para el gen *ABCBI* y Ser117Asn del gen *SLC15A1* están presentes en la población del noreste de México.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los transportadores del fármaco oseltamivir, utilizado en el brote pandémico de influenza A H1N1, en una población del noreste de México.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen *ABCB1*, que codifica para el transportador glicoproteína P, en una población del noreste de México.
- 2) Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen *SLC15A1*, que codifica para el transportador PEPT1, en una población del noreste de México.
- 3) Identificar los haplotipos predominantes a partir del análisis de los genes *ABCB1* y *SLC15A1* en la población del noreste de México.

4. ANTECEDENTES

4.1. La influenza A H1N1

La influenza, llamada comúnmente gripe, es una infección del tracto respiratorio superior y es causada por un tipo de virus que puede ser transmitido a través de gotitas en aerosol, las cuales son emitidas al toser, al estornudar o simplemente al hablar, o también cuando una persona entra en contacto con una superficie contaminada y después se lleva las manos a la boca o nariz. Por lo general, la influenza es una enfermedad común y suele observarse como un simple resfriado, sin embargo, en individuos que se encuentran inmunocomprometidos pueden llegar a presentar graves complicaciones, incluso hasta fatales (Thorlund, 2011). El virus de influenza tiene una alta tasa de mutación, por lo que constantemente se puede observar la aparición de nuevas variantes que pueden generar pandemias.

A lo largo de la historia se han presentado 4 pandemias de influenza: en el año de 1918 (influenza A H1N1), la siguiente se presentó en 1957 (influenza A H2N2), después en el año 1968 (influenza A H3N2), y la última en el 2009 (influenza A H1N1). La primera pandemia de influenza en 1918 ha sido considerada como la más seria, pues llegó a reportarse una mortalidad superior a los 50 millones de personas en todo el mundo. Esta pandemia tuvo su origen en España, por lo que fue conocida como “la influenza española”, y fue provocada por el virus de la influenza A H1N1 (Belshe, 2005). Respecto a la cuarta epidemia, a finales de marzo de 2009, en México se reportó la aparición de un nuevo virus de influenza A H1N1 que dio origen a la nueva pandemia de influenza del milenio (C.D.C., 2009b, WHO, 2009b). Este brote se originó en el poblado de La Gloria, en el estado de Veracruz (López, 2009).

4.2. Características del virus

El virus de la Influenza A H1N1 pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* (Al-Muharrmi, 2010), contiene un genoma formado por 8 segmentos de ARN negativo, que codifica para 11 proteínas distintas (Figura 1). El virus que provocó la epidemia en 2009 fue clasificado como virus de influenza A/California/04/2009 (H1N1). La clasificación de influenza A H1N1 se le otorga debido a la antigenicidad de las 2 principales proteínas de superficie, la hemaglutinina (H) y la neuroaminidasa (N), de las cuales, hasta la fecha se han identificado 16 hemaglutininas y 9 neuroaminidasas (Sullivan, 2010).

A la fecha se han identificado otros tipos de virus de la influenza A, algunos de los cuales han causado pandemias de influenza, entre estos se encuentran el virus de la influenza A H1N1, H1N2, H2N2 y H3N2 (McCaughey, 2010); otro virus de influenza A importante de mencionar es el virus de influenza A H5N1, el cual a pesar de ser un virus exclusivo de las aves (influenza aviar) a partir del 2003 se comenzó a presentar en humanos, llegando a ocasionar hasta 600 casos en 15 países de Asia, África, Europa y el Cercano Oriente; en el 2011 se presentaron 62 casos y 34 muertes de influenza A H5N1 en seres humanos en 5 países (Flu.gov, 2012a).

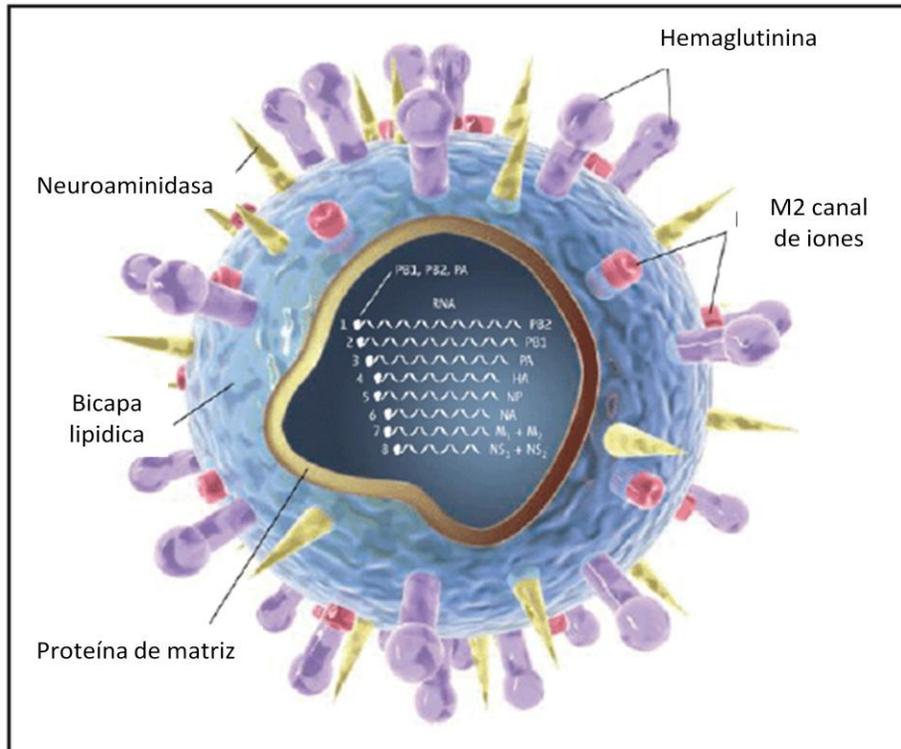


Figura 1. Diagrama estructural del virus de influenza A H1N1. Se señalan las proteínas principales que componen al virus. (Sullivan *et al* 2010)

Aunque México fue el epicentro de la influenza A H1N1, rápidamente comenzaron a observarse casos de infección por el virus en otros países, incluyendo a los Estados Unidos de América (C.D.C., 2009b, WHO, 2009b). Gracias a la cooperación internacional entre las autoridades de salud pública y científicas de los Estados Unidos de América, Canadá y México, se logró la rápida identificación de esta nueva cepa del virus (Del Rio, 2010). En muy poco tiempo, este virus se propagó por todo el mundo, y el 11 de junio de 2009 la Organización Mundial de la Salud otorgó a esta enfermedad el estatus de pandemia (Del Rio, 2010) debido a la presencia probada en un total de 74 países. En reportes publicados por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), se estimó que entre abril del 2009 y abril del 2010 los casos de influenza llegaron a presentarse en cerca de 89 millones de personas, presentándose además cerca de 18,300 muertes relacionada a la influenza A H1N1 (Flu.gov, 2012b).

4.2.1. Periodo de incubación y características clínicas

El periodo de incubación del virus de la influenza A H1N1 2009 es aproximadamente de 1.5-3 días, lo cual es muy similar al periodo de incubación de la influenza estacional (Cauchemez *et al.*, 2009, Lessler, 2009, Yang *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha observado que en una minoría de pacientes el periodo de incubación puede llegar a extenderse hasta 7 días (Writing Committee of the *et al.*, 2010). La sintomatología clínica que caracterizó a la influenza A H1N1 2009 es muy similar a la observada en la gripe estacional (Belshe, 2009), y de acuerdo a los CDC, la sintomatología incluye fiebre, tos, dolor de garganta, dolores corporales, dolor de cabeza y escalofríos (Merk, 2010, Thiebaut, 1987). Además se ha reportado que algunos pacientes pasan a un estado crítico debido a la progresión de la enfermedad hacia las vías respiratorias inferiores y la presencia de patógenos oportunistas causantes de neumonía (Patel, 2010).

En México, el Instituto Mexicano del Seguro Social reportó los signos y síntomas observados en la población mexicana que acudió a consulta durante la epidemia, siendo los principales, en casos sospechosos y confirmados, fiebre, cefalea, tos, insuficiencia respiratoria y rinorrea, (Tabla 1).

Tabla 1.

**Datos clínicos identificados en pacientes mexicanos con influenza A H1N1
Abril – mayo 2009**

Casos confirmados		Casos sospechosos	
	%		%
Tos	88.9	Fiebre	83.3
Cefalea	83.3	Tos	78.7
Fiebre	82.9	Cefalea	66.3
Insuficiencia respiratoria	79.2	Insuficiencia respiratoria	63.2
Rinorrea	74.0	Rinorrea	62.6
Odinofagia	70.6	Postración	58.9
Mialgias	68.6	Dolor torácico	47.5
Disnea	64.9	Mialgias	56.8
Dolor torácico	63.8	Artralgias	52.2
Artralgias	56.0	Odinofagia	55.4

Fuente: Coordinación de Vigilancia Epidemiológica y Apoyo a Contingencias, IMSS, mayo 13, 2009 (Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, 2009).

Por otra parte, referente a las co-infecciones, en un estudio post-mortem de pacientes infectados con el virus de la influenza A H1N1 2009 se encontró la presencia de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *S. mitis* o *Haemophilus influenzae* (C.D.C., 2009a).

Otra de las características de la influenza pandémica es que se presentó principalmente en adolescentes y adultos jóvenes, quienes tuvieron una tasa muy alta de hospitalización, y muchos de ellos ingresaron a cuidados intensivos, esto probablemente debido a que las personas menores de 30 años tenían poca presencia de anticuerpos que los protegiera de una infección por influenza A H1N1. Estudios recientes han confirmado que una parte de los adultos mayores presentan anticuerpos que tienen reacción cruzada contra el virus de la influenza pandémica del 2009, presumiblemente como resultado de la anterior exposición a las cepas de A H1N1 circulantes alrededor de 1957 (McIntosh, 2010).

4.2.2. Diagnóstico molecular

Para el diagnóstico del virus de la influenza A H1N1 2009, los CDC establecieron un protocolo para la detección y caracterización de la llamada también gripe porcina; esta metodología tiene como principio un ensayo de RT-PCR en tiempo real para la detección cualitativa de este virus en muestras respiratorias. Las muestras que se utilizan en el ensayo incluyen: lavado bronquio-alveolar, traqueal, nasofaríngeos entre otros. En este ensayo de RT-PCR se utilizan sondas y *primers* para la detección universal del virus de la influenza tipo A, así como para detectar específicamente todos los virus de influenza porcina tipo A y además para detectar el subtipo H1 de la influenza porcina (WHO, 2009a). Se incluye además la detección del gen ribonucleasa P humana como control del proceso de extracción de los ácidos nucleicos.

4.3. Tratamiento farmacológico

Cuando en el 2009 se presentó la pandemia de influenza A H1N1 fue necesario establecer un tratamiento efectivo contra este virus. La FDA aprobó dos clases de fármacos antivirales: los bloqueadores de canales de iones y los inhibidores de la neuroaminidasa para su uso en el tratamiento en las infecciones por virus de la influenza. En el primer caso, los adamantanos, específicamente amantadina y rimantidina, fueron declarados no aptos como tratamiento para esta pandemia pues los CDC reportaron resistencia farmacológica del virus de influenza H1N1 2009 a esta clase de fármacos (C.D.C., 2010b). Por otra parte, los inhibidores de la neuroaminidasa que han sido aprobados por la FDA son 2, el zanamivir, comercialmente conocido como Relenza®, producido por GlaxoSmithKline, y el oseltamivir, llamado comercialmente Tamiflu® y producido por Hoffman-Roche Ltd. Los inhibidores de la neuroaminidasa actúan en la última fase de la replicación viral, ya que estos inhiben a la enzima neuroaminidasa, la cual se encarga de romper los residuos de ácido siálico de los nuevos viriones, lo que les permite ser liberados y así poder infectar a células nuevas (Hetero Drugs, 2012, McNicholl, 2001, Kamps, 2006). En estudios clínicos se ha demostrado que la inhibición de la neuroaminidasa reduce la gravedad y la duración de los síntomas en personas con influenza (Oxford, 2005).

El fármaco zanamivir ha sido considerado poco efectivo para el tratamiento de la influenza A H1N1 2009, ya que su administración es por inhalación como polvo seco, lo cual limita su uso en niños. El fármaco zanamivir solo es recomendado para personas mayores de 7 años, y como profiláctico para niños mayores de 5 años (Bardsley-Elliot, 1999, Shigeta, 1999). El fármaco oseltamivir puede ser administrado en forma oral a partir de un año de edad, ya sea como tratamiento o como profiláctico. Se ha observado que el uso del zanamivir no es recomendado para personas que presenten enfermedades respiratorias como el asma (WHO, 2011), pudiendo ser éstas algunas de las causas por las cuales el oseltamivir fue el tratamiento recomendado y utilizado para la influenza A H1N1 2009.

La dosis recomendadas de oseltamivir es de 75 mg dos veces al día como tratamiento, y 75 mg una vez al día como profiláctico, en ambos caso por cinco días (C.D.C., 2010a). Una vez que el oseltamivir es administrado por vía oral, es absorbido en el tracto gastrointestinal y transformado (Figura 2) mediante las carboxilesterasas hepáticas a su forma activa, el carboxilato de oseltamivir (Dutkowski, 2003). Una vez ya como carboxilato de oseltamivir, éste se distribuye por todo el cuerpo a diferentes áreas, como son el tracto respiratorio, oído medio, mucosa nasal y pulmones (Kamps, 2006, Bardsley-Elliot, 1999, Roche, 2008, Schirmer, 2009, Doucette, 2001). La eliminación del carboxilato de oseltamivir en adultos es de aproximadamente de 6 a 8 horas, mientras en niños se ha reportado que el tiempo de eliminación es de hasta 13 horas (Barrett, 2001). En el caso de individuos con falla renal el tiempo de eliminación se incrementa hasta 36 horas (Robson, 2006).

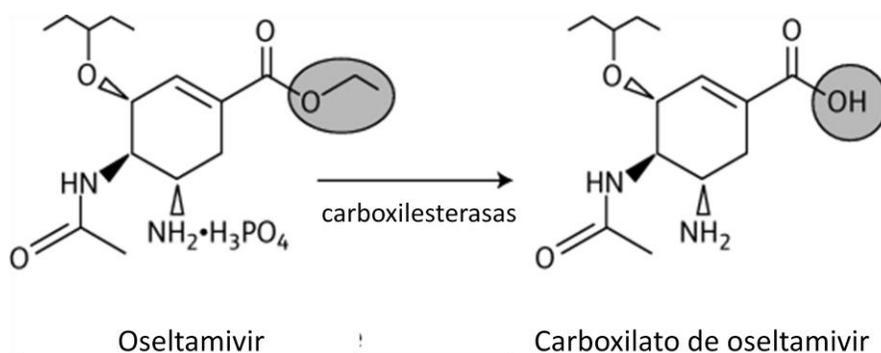


Figura 2. Ruta de transformación de oseltamivir. Se muestran las estructuras químicas de oseltamivir y su transformación por efecto de la carboxilesterasa 1 hepática a carboxilato de oseltamivir. (He G, 1999)

4.3.1. Efectos adversos al tratamiento por oseltamivir

El oseltamivir está asociado a efectos adversos, los cuales por lo general son leves y transitorios. Los efectos más comunes son las náuseas y el vómito, los cuales se presentan en el 10% de los pacientes, aunque también se ha reportado insomnio, vértigo, confusión mental, convulsiones, arritmia cardiaca entre otros, estos últimos en un porcentaje menor al 1% (Luna, 2010). Otros efectos adversos que pueden presentarse son diarrea, dolor abdominal, erupción cutánea, hinchazón de la cara o la lengua, y dolor de cabeza (Roche, 2008, Schirmer, 2009, Kamps, 2006). En algunos estudios se han documentado otros efectos adversos por la administración de oseltamivir, sobre todo en niños y jóvenes, donde se reportaron eventos neuropsiquiátricos durante la administración del oseltamivir en Japón, Estados Unidos y en menor escala en otros países. Aunque en la mayoría de los reportes de efectos neuropsiquiátricos han sido en poblaciones pertenecientes a Japón, se comenta que dichos efectos son más comunes en niños de 16 años de edad que en adultos, y generalmente ocurren dentro de las 48 horas después del inicio del tratamiento, presentándose principalmente delirios o trastornos de la percepción (Toovey, 2008, Jamieson, 2009, Fuyuno, 2007). También se ha mencionado, en otros estudios, que la aparición repentina de efectos adversos neuropsiquiátricos después de la administración de dosis normales y dosis altas de oseltamivir ha tenido como resultado varias muertes (Hama, 2008, Edwards, 2006, Hama, 2007).

De manera relevante, los efectos neuropsiquiátricos que se han relacionado con la administración del oseltamivir, no han sido reportados en los años recientes con la epidemia de influenza A H1N1. En el año 2005 se reportó un incremento en la aparición de dichos efectos en una población pediátrica, en Japón, donde se presentaron la mayoría de estos eventos. También se han documentado casos en otros países como Estados Unidos de América, Francia y Reino Unido (Toovey, 2008).

4.4. Transportadores del fármaco oseltamivir

Dentro de las principales proteínas involucradas en el transporte del fármaco oseltamivir se encuentra la glicoproteína-P (gp-P) y el transportador de oligopéptidos (PepT1). Las generalidades y la asociación de estos transportadores con el fármaco oseltamivir, dependiente de las variantes genéticas, se detallan a continuación.

4.4.1. La glicoproteína P

La gp-P funciona como bomba extractora al exportar fármacos citotóxicos al ambiente extracelular. La gp-P está codificada por el gen *ABCBI*, tiene un peso molecular de 170 kDa, se localiza en la membrana plasmática y es dependiente de ATP (Ruiz, 2002, Rosenberg, 1997, Lum, 1993, Kaye, 1988, Nuti, 2000, Booth, 2000). El gen *ABCBI*, también conocido como MDR1 (Ueda, 1986), se localiza en el brazo largo del cromosoma 7, banda 21.1, y consta de 28 exones (Sakaeda, 2003, Stouch, 2002, Nobili, 2006, Mathney, 2001). El gen transcribe un mRNA de 4.7 Kb (Sakaeda T, 2003b, Chin, 1989, Sakaeda, 2003). El gen *ABCBI* ha sido uno de los genes más ampliamente estudiado, probablemente a que presenta fuertes implicaciones clínicas. Se ha mostrado que la gp-P se encuentra en la membrana plasmática como dímero formado por dos unidades homólogas unidas entre sí, cada una de ellas presentan 6 dominios hidrofóbicos transmembranales (Harris, 1992, Roninson, 1992, Azzaria. M, 1989) los cuales están dispuestos en tres pares y se encuentran asociados con un dominio hidrofílico carboxilo-terminal. El dominio carboxilo-terminal contiene la secuencia consenso de unión e hidrólisis del ATP (Harris, 1992, Biedler, 1992, Gros, 1986), y este mismo dominio conforma parte de las estructuras que son las que se encargan de formar un canal por el cual atraviesan los fármacos que la célula exporta hacia el medio extracelular (Figura 3).

Se ha reportado que la gp-P se expresa en diferentes tejidos como el intestino delgado y grueso, hígado, riñón, sangre entre otros, y se ha visto que los niveles más altos de expresión de esta glicoproteína se encuentran en endotelio capilar cerebral, el cual comprende la barrera hematoencefálica (Sakaeda T, 2003a, Rebecchi, 2009, Thiebaut, 1987, Cordon-Cardo, 1989, Sakaeda, 2003).

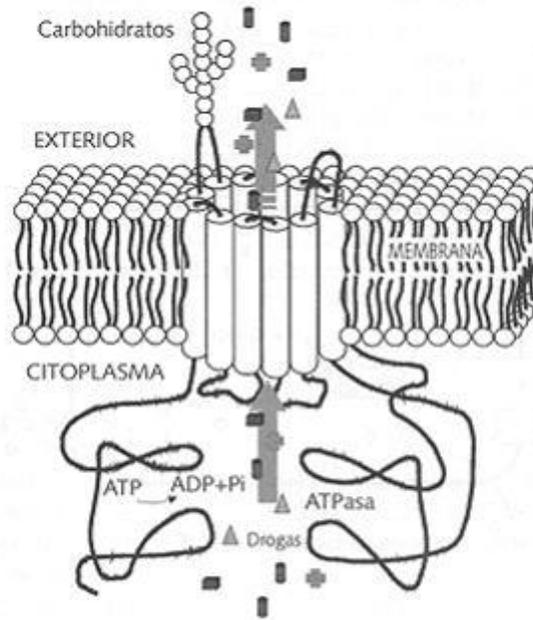


Figura 3. Conformación esquemática de la glicoproteína P. Se muestran los dominios carboxilo-terminal de unión e hidrólisis al ATP, la región hidrofóbica embebida en la membrana plasmática y su dominio extracelular modificado por carbohidratos (Ruiz, 2002).

La gp-P pertenece a la superfamilia de genes *ABC* (ATP-Binding Cassette, por sus siglas en inglés), las cuales codifican para proteínas transportadoras. En humanos se han identificado 48 transportadores ABC (Dean, 2001) que transportan iones, azúcares, aminoácidos, péptidos, proteínas, toxinas y fármacos (Tirona, 2002). Más específicamente, la gp-P realiza diferentes funciones dependiendo del sitio donde se ubique, por ejemplo, la gp-P se localiza en la superficie de la mucosa del tracto gastrointestinal, duodeno, íleon y yeyuno, donde su papel pudiera estar encaminado a

prevenir la concentración o el acumulo de sustancias tóxicas (Sparreboom, 1997, Van Asperen, 1998, Thiebaut, 1987); por otra parte, la gp-P que se expresa en el hígado y en el riñón podría ser la responsable de la secreción de agentes o sustancias xenobióticas hacia la bilis y la orina, respectivamente (Thiebaut, 1987, Schinkel, 1994). Otro lugar donde se localiza la gp-P es en la barrera hematoencefálica, donde su función estaría encaminada a prevenir el aumento en la acumulación de sustancias tóxicas en el cerebro (Schinkel, 1994, Borst, 1993, Schinkel, 1996, Schinkel, 1995, Van Asperen *et al.*, 1997, Van Asperen, 1998). También se ha reportado que la gp-P se expresa en células madre de la medula ósea, en donde puede estar protegiendo a estas células de sustancias tóxicas, y además de estar involucrada en transporte de algunos factores de crecimiento, así como también de la liberación de citocinas producidas por estas células (Gupta, 1993). Algunos autores además han sugerido que la citotoxicidad de las células NK (*Natural Killers*, por su siglas en inglés) requieren la presencia y funcionalidad de la gp-P para que exista el flujo de salida de los productos líticos, necesarios para el cumplimiento de la función de estas células, pues en la evidencia experimental ha demostrado que la inhibición de la gp-P en estas células resulta en la disminución de la citotoxicidad de las células NK (Yamashiro, 1998, Chong, 1993). Algunas de las funciones mencionadas y otras relacionadas a la gp-P se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Localización y posible función de la gp-P en diversos órganos o tejidos

Órgano o Tejido	Localización subcelular	Posible(s) función(es)
Yeyuno, íleon, colon	Superficie Mucosa	Prevención de la captación y la facilitación de la excreción a través de la mucosa
Hígado	Superficies biliares caniculares de los hepatocitos y las superficies apicales de las células que recubren los ductos biliares pequeños	Excreción de xenobióticos en la bilis
Riñón	Superficies apicales de las células epiteliales del túbulo proximal	Excreción de xenobióticos en la orina
Páncreas	Superficies apicales de las células epiteliales que revisten los ductos pequeños	Desconocido
Pulmón	Endotelio capilar	Desconocido
Corazón	Membranas endoteliales lumenales de las arteriolas y capilares cardíacos	Protección contra la toxicidad cardíaca de ciertos fármacos
Glándula suprarrenal	Superficies de las células en la corteza y la médula	Secreción de cortisol y aldosterona en la corteza
Cerebro	Endotelio capilar	Protección contra sustancias tóxicas
Testículos	Capilares	Protección contra sustancias tóxicas
Útero	Placenta	Protección del feto contra sustancias tóxicas
Medula ósea	Células madre hematopoyéticas	protección contra sustancias tóxicas; un papel en la diferenciación y la proliferación de las células madre, influyendo sustancias reguladoras; secreción de ciertos factores de crecimiento y citocinas
Células del sistema inmune	Células naturales asesinas (NK) Linfocitos B Células T CD4 Células T CD8	Toxicidad mediada por células NK Desconocido Secreción de citocinas Secreción de moléculas citotóxicas

Fuente: Sanjay *et al.* (Sanjay, 2004)

Se ha determinado que la gp-P juega un papel muy importante en la protección neurológica, desintoxicación del cerebro y sobre todo en mantener la homeostasis del sistema nervioso central (Schinkel, 1999, Schinkel and Jonker, 2003). El hecho de que

ocurra una alteración genética donde la proteína no sea funcional puede resultar en un incremento en la acumulación de los sustratos específicos para la gp-P, y consecuentemente esto ocasionaría serios daños en el cerebro. Aunado a esto, el oseltamivir ha sido considerado uno de los sustratos de la gp-P más relacionado con las reacciones neuropsiquiátricas y al comportamiento suicida en adolescentes (Izumi, 2007). Se han realizado estudios donde se corrobora que el oseltamivir pertenece a los sustratos de la gp-P y que niveles bajos en la actividad de esta proteína puede dar lugar al aumento de la acumulación de oseltamivir en el cerebro, y esto podría a su vez causar los efectos en el sistema nervioso central que han sido observados en algunos pacientes (Morimoto, 2008). Por otra parte, estudios en modelos animales han demostrado que la ausencia de la gp-P aumenta los niveles de acumulación de muchos fármacos en el cerebro (Schinkel, 1994, Borst, 1993, Schinkel, 1996, Schinkel, 1995, Huisman, 2001).

4.4.1.1. Polimorfismos genéticos en el gen *ABCB1*

Uno de los cambios o variaciones más frecuentes, a nivel molecular, que se pueden presentar en las poblaciones humanas son los cambios de un nucleótido en la secuencia genómica. Estos cambios son conocidos como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés de *Single Nucleotide Polymorphism*) y se observan en una frecuencia de 1 en cada 1000 pares de bases en el genoma humano (HapMap, 2005). Si el SNP ocurre en regiones codificantes pueden ocasionar un cambio en la secuencia aminoacídica de la proteína, y con ello alterar su función (Botstein, 2003). Diversos estudios han logrado la identificación de 76 SNPs en el gen *ABCB1*, de los cuales 47 cambian la composición aminoacídica y los 29 restantes son considerados como silenciosos (Rüstemoglu, 2011).

Los SNPs del gen *ABCB1* con una relación clínica más relevante son C3435T, G2677T/A, C1236T y la variación Citocina/Timina en el intron 3, entre otros.

4.4.1.1.1. Polimorfismo G2677T/A en el gen *ABCB1*

El polimorfismo G2677T/A es uno de los más estudiados, y se encuentra presente en el exón 21 (Schwab, 2003, Sakaeda T, 2003a, Sakaeda, 2003). Su registro en la base de datos de SNP es rs2032582. Este SNP consiste en un cambio de guanina, que

es considerado el nucleótido ancestral, ya sea por timina o por adenina, lo que a su vez provoca un cambio en el aminoácido de alanina por serina o treonina, respectivamente (Balcerczak, 2010). La evidencia experimental ha mostrado que la mutación G2677T está asociada a otro polimorfismo clave del gen *MDR1*, el SNP C3435T, el cual se ha relacionado con la reducción de la capacidad de la gp-P en cuanto a su capacidad transportadora (Ameyaw Mm, 2001, De la Haba-Rodriguez, 2011, Ameyaw, 2001). Otros estudios, por el contrario, han demostrado que la gp-P muestra una alta actividad cuando se presenta el SNP G2677A (Yi, 2004). Algunas de las enfermedades o circunstancias clínicas en las que ha sido abordado el efecto del SNP G2677T/A son estudios que lo relacionan con efectos neuropsiquiátricos (Arnaud, 2011), cáncer colorectal (Osswald, 2007), obesidad (Ichihara, 2008), respuesta clínica al fármaco antidepressivo paroxetina (Kato, 2008), y en la leucemia linfoblástica aguda (Urayama, 2007). Además, múltiples reportes han determinado las frecuencias genotípicas y alélicas de este polimorfismo en diferentes poblaciones, como lo son en la población europea, afroamericana, africana y mexicana (N.C.B.I., 2012b).

4.4.1.1.2. Polimorfismo C1236T en el gen *ABCB1*

El polimorfismo C1236T se encuentra en el exón 12 del gen *ABCB1*, y es considerado como un polimorfismo que no ocasiona un cambio de aminoácido, manteniéndose el aminoácido glicina (Rüstemoglu, 2011), ya que este polimorfismo ocupa una posición denominada de “bamboleo” en la tercera base del codón (Schwab, 2003). Su efecto se ha relacionado con un plegamiento anormal de la proteína, además que existe una hipótesis acerca de la presencia de codones raros o poco comunes pueden afectar la inserción de la gp-P en la membrana (Kimchi-Sarfaty *et al.*, 2007). Su número de referencia en la base de datos de SNPs es rs1128503. Este SNP se ha agrupado por su segregación conjunta con los polimorfismos C3435T y G2677T/A en poblaciones euroamericanas, afroamericanas y asiáticas (Tanabe, 2001, Kim, 2001, Ameyaw Mm, 2001, Ameyaw, 2001). A este SNP se le ha relacionado con diversas manifestaciones clínicas, como lo son epilepsia (Oros, 2011), leucemia mieloide aguda (Scheiner, 2012), así como con reacciones adversas en el tratamiento del cáncer colorectal (Gonzalez-Haba, 2010), entre otras. Las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo

C1236T se ha estudiado en una diversidad de poblaciones, en la que se encuentran la europea, la asiática, la africana, la hispana y, particularmente, la población mexicana (N.C.B.I., 2012a).

4.4.1.1.3. Polimorfismo Citocina/Timina en el intrón 3 del gen *ABCB1*

El Polimorfismo rs3789243, es una variación genómica Citocina/Timina presente en el intrón 3 del gen *ABCB1*, y su potencial efecto es aún desconocido (Ho, 2006, Ostergaard, 2009). Este polimorfismo ha si poco estudiado, sin embargo a pesar de la poca información que existe al respecto, se han realizado diversos estudios donde se busca la relación con algunas enfermedades o manifestaciones clínicas. En estos estudios se busca relacionar el SNP con la respuesta al tratamiento de la epilepsia (Haerian, 2011), así como con el riesgo de padecer cáncer colorectal (Andersen, 2009). Las frecuencias genéticas y alélicas para el SNP Citocina/Timina en el intrón 3 han sido estudiadas en diferentes poblaciones tales como la europea, asiática, africana, afroamericana y mexicana (N.C.B.I., 2012d).

4.4.2. El transportador de oligopéptidos

Como se mencionó anteriormente, también el fármaco oseltamivir es transportado por PepT1, el cual se encuentra principalmente en la membrana del intestino delgado (Saito, 1995) y en el riñón (Matthews, 1991). PepT1 es codificado por el gen *SLC15A1*, el cual codifica para una proteína de 708 aminoácidos (Covitz, 1998) que tiene una estructura con 12 dominios transmembranales, y sus regiones amino y carboxilo-terminal se encuentran en la parte intracelular (Figura 4) (Covitz, 1998, Hagting, 1997). La función principal de PepT1 es la absorción de péptidos consistentes en 2 o 3 aminoácidos (Matthews, 1991), los cuales se derivan de la digestión de las proteínas que se obtienen de los alimentos consumidos, participando además en la reabsorción de péptidos que se encuentran presentes en el filtrado glomerular (Ganapathy, 1986, Ganapathy, 1994, Silbernagl, 1988). El transportador PepT1 utiliza principalmente un gradiente electroquímico de protones localizado transmembranalmente, el cual se mantiene por el intercambio de Na⁺/H⁺ y de donde se obtiene energía de la ATPasa Na⁺/K⁺ (Botstein, 2003).

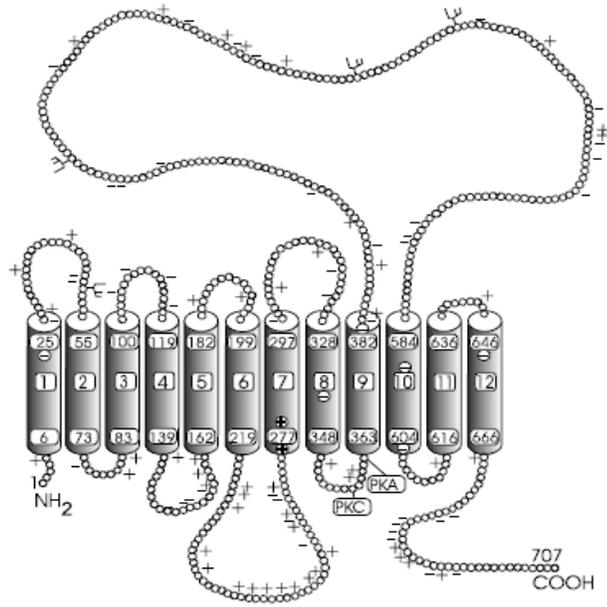


Figura 4. Conformación esquemática del transportador de oligopéptidos o PepT1. Se observan los 12 dominios transmembranales y una región conocida como bucle hidrófilico extracelular asociado a carbohidratos. Se señalan los sitios de fosforilación por las enzimas PKA y PKC, los extremos amino- (NH₂) y carboxilo-terminal (COOH). (Hediger, 1994).

PepT1 también participa en el transporte de fármacos similares a algunos péptidos, como por ejemplo los antibióticos β -lactámicos (Saito, 1995, Daniel, 2004). Aunado a lo anterior, varios investigadores han encontrado que el PepT1, además de transportar antibióticos, también tiene la capacidad de transportar profármacos de tipo éster, como el valaciclovir y valganciclovir (Balimane, 1998, Han, 1998, Sugawara, 2000). El oseltamivir es un profármaco de tipo éster que se ha identificado como sustrato del PepT1 a través del epitelio intestinal. El análisis realizado en líneas celulares derivadas de carcinoma humano y epitelial demostraron que oseltamivir es transportado eficientemente al interior de la célula por PepT1 (Takuo, 2009).

4.4.2.1. Polimorfismo genético Ser117Asn en el gen *SLC15A1*

El gen *SLC15A1*, que codifica para PepT1, pertenece a la superfamilia de genes de transportadores de solutos (*SLC* por sus siglas en inglés de *solute carrier*). Esta familia está integrada por más de 300 genes (Genetics, 2012). El gen *SLC15A1* se localiza en el brazo largo del cromosoma 13, banda 32.3 (N.C.B.I., 2012f). Al igual que otros genes, *SLC15A1* no está exento de presentar variaciones genéticas, y uno de los más estudiados es el que ocurre por la sustitución del nucleótido citocina por timina, lo que conduce a un cambio de aminoácido de serina por asparagina (Ser117Asn). La sustitución ocurre en el segundo bucle extracelular del transportador PepT1 (Zucchelli, 2009). Su número de referencia en el banco de SNP es rs2297322. Al polimorfismo Ser117Asn se le ha asociado con el SNP Gly419Ala debido a implicaciones funcionales que se pudieran presentar en la función del transportador PepT1. Ambos polimorfismos codifican para aminoácidos localizados en la región extracelular (Fig 5).

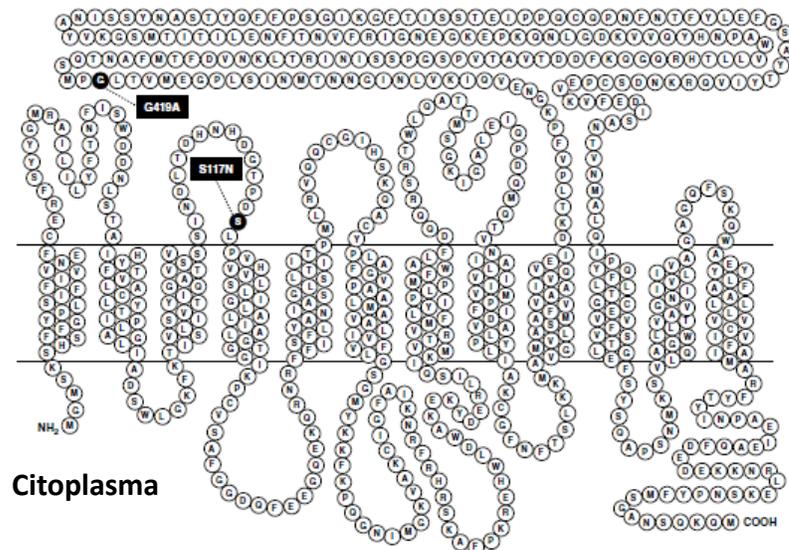


Figura 5. Ubicación de las variantes genéticas en el transportador de oligopéptidos PepT1. Se señalan los polimorfismos más comunes Ser117Asn (S117N) y el Gly419Ala (G419A), ambos localizados en la región extracelular. (Sala-Rabanal, 2006).

El polimorfismo Ser117Asn ha sido evaluado en poblaciones humanas para conocer si tiene relación con la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa. Resultados obtenidos de estas asociaciones han demostrado un riesgo en la susceptibilidad de desarrollar colitis ulcerativa en poblaciones de Suecia y Finlandia (Zucchelli, 2009). A pesar de su importancia, no existen muchos reportes acerca de las frecuencias genéticas para este SNP, pero han sido documentados algunos en poblaciones europea, africana, asiática y mexicana (N.C.B.I., 2012c).

5. MÉTODOS

5.1. Muestras biológicas

En el presente trabajo se utilizaron 383 muestras faríngeas, nasofaríngeas y secreciones bronquiales provenientes de pacientes residentes en el estado de Nuevo León, las cuales fueron recolectadas durante la pandemia de Influenza A H1N1 del 2009 (periodo comprendido de diciembre de 2009 a diciembre de 2010). Las muestras provienen de individuos no relacionados entre sí que fueron tratados farmacológicamente con oseltamivir. Las muestras pertenecen al banco del Laboratorio de Diagnóstico Molecular, ubicado en el Centro de Investigación Biomédica del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social.

5.2. Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN genómico se llevó a cabo mediante un proceso automatizado utilizando el equipo MagNA Pure LC 2.0 System (Roche, Mannheim, Alemania), el cual se basa en el uso de esferas magnéticas a las cuales se unen los ácidos nucleicos presentes en las muestras y que pueden ser separados de los demás residuos celulares mediante una serie de lavados. Posteriormente las perlas son resuspendidas en 100 µl de buffer de elución para separar los ácidos nucleicos. Los procedimientos están descritos en el manual de operación de MagNA Pure LC 2.0.

5.3. Ensayos de discriminación alélica

Una vez obtenido el ADN genómico se llevó a cabo los ensayos de discriminación alélica mediante el sistema de PCR en tiempo real usando sondas TaqMan®. Se utilizó el equipo 7500 Fast de Applied Biosystems (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, Estado Unidos de América).

La mezcla de reacción se llevo a cabo en placas de 96 pozos, donde se incluyeron controles negativos y positivos de acuerdo a los siguientes procedimientos:

- A) Se prepararon reacciones de amplificación en un volumen total de 5 μ L para cada muestra de ADN genómico como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3.

Mezcla de reacción para ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real

Reactivo	Volumen (μ L)
Mezcla maestra universal para PCR 2 \times	2.5
<i>Primers</i> /sondas TaqMan® 40 \times	0.125
Agua libre de nucleasas c.b.p. 5 μ L	1.375
ADN genómico (concentración variable)	1.0

- B) Los *primers* y las sondas que se utilizaron para la discriminación alélica fueron específicas para la identificación de los alelos normales y mutados para las variantes de los genes señalados en la Tabla 4. Las secuencias de *primers* y/o sondas para dichos polimorfismos se muestran en la Tabla 5 y 6.

Tabla 4.

Variantes polimórficas evaluadas en este estudio para los genes *ABCBI* y *SLC15A1*

Gen	SNP de referencia
<i>ABCBI</i>	rs3789243
	rs2032582
	rs1128503
<i>SLC15A1</i>	rs2297322

Tabla 5.

Secuencias nucleotídicas de primers o sondas utilizadas en los ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real para los polimorfismos del gen *ABCBI*

SNP	Primers o sondas
rs1128503	(wt) FAM 5'-GCCCACTCTGCACCTTCAGGTTCAGG <u>G</u> CCCTTCAAGATCTACCAGGACGAGT-3' (mut) VIC 5'-GCCCACTCTGCACCTTCAGGTTCAGG <u>A</u> CCCTTCAAGATCTACCAGGACGAGT-3'
rs3789243	Forward TTGTGGTCAAAGACTGATACACG Reverse TTTGGCATTGATTGCTTCT
rs2032582	(wt) VIC 5'-TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCAG <u>C</u> ACCTTCTAGTTCTTTCTTATCTTTC-3' (mut) FAM 5'-TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCAG <u>T</u> ACCTTCTAGTTCTTTCTTATCTTTC-3'
rs2032582	(wt) VIC 5'-TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCAG <u>C</u> ACCTTCTAGTTCTTTCTTATCTTTC-3' (mut) FAM 5'-TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCAG <u>A</u> ACCTTCTAGTTCTTTCTTATCTTTC-3'

Tabla 6.

Secuencias nucleotídicas de primers y sondas utilizadas en los ensayos de discriminación alélica por PCR en tiempo real para el polimorfismo del gen *SLC15A1*

SNP	Primers	Sondas
rs2297322	Forward CAGCAGTGAGCACCAACTC Reverse CCTCACAGACCACAACCATGATG	(wt)VIC 5'-CCGACAGCCTTCC-3' (mut) FAM 5'-CCGACAACCTTCC-3'

Antes de llevar a cabo los ensayos de amplificación se realizó una pre-lectura a 60 °C por 30 s de la placa de 96 pozos conteniendo las muestras, los controles positivos y negativos. Posteriormente se realizó la amplificación por PCR de acuerdo a las condiciones mostradas en la Tabla 7, y al finalizar esta, se llevó a cabo una post-lectura a 60 °C por 30s, donde se obtuvo la fluorescencia final para cada muestra mediante el software Sequence Detection versión 1.4 (Applied Biosystems). Los datos obtenidos permitieron realizar una discriminación alélica por agrupamientos en forma gráfica.

Tabla 7.

Condiciones de amplificación para los ensayos de PCR en tiempo real

Tiempo	Temperatura	Ciclos
120 s	50 °C	1
10 min	95 °C	1
15 s	95 °C	50
60 s	60 °C	

5.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de las muestras mediante χ^2 y se determinó si la población de estudio estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg. Para las comparaciones entre otras poblaciones se utilizó el programa SNP Tools versión 1.7 (<http://www.bioinformatics.org/snp-tools-excel/>) que permite obtener la relación de momios, intervalos de confianza y el valor de P. Se considero una significancia estadística cuando $P < 0.05$.

6. RESULTADOS

En este estudio fueron utilizadas 383 muestras de ADN genómico de individuos que residen en la región noreste de México y son derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social. Estos individuos presentaron síntomas característicos de la influenza A H1N1 pandémica y fueron tratados farmacológicamente con oseltamivir.

El ADN genómico fue extraído de muestras faríngeas, nasofaríngeas y secreciones bronquiales (Tabla 8).

Tabla 8
Tipo de muestras utilizadas en este estudio

Tipo de Muestras	Numero de muestras
Exudado faríngeo y nasofaríngeo	377
Secreción bronquial	6

Las características de la población de estudio se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9
Características de la población de este estudio.

Género	n (%)	Edad promedio (rango)
Masculino	169 (44.12)	27 (0-86)
Femenino	214 (55.88)	28 (0-84)

Las muestras fueron procesadas para identificar los polimorfismos Citocina/Timina en el intrón 3, C1236T y el G2677T/A del gen *ABCB1* y además del polimorfismo Ser117Asn del gen *SCL15A1*. Se determinaron los genotipos usando el sistema de PCR en tiempo real 7500 Fast de Applied Biosystems. En la Figura 6 se muestra en perfil de amplificación para un individuo con genotipo homocigoto silvestre, donde sólo se observa la señal emitida por la sonda que reconoce al alelo silvestre (sonda VIC, color verde). En la Figura 7 se observa la curva de amplificación para un individuo con genotipo homocigoto mutado, la cual se determina por la señal emitida por la sonda que reconoce al alelo mutado (sonda FAM, color rojo), y en la Figura 8 se muestran las curvas de amplificación para un individuo heterocigoto, donde se observan las señales de las sondas que reconocen tanto al alelo silvestre como al mutado. La señal observada en color azul corresponde a un control pasivo (ROX, azul).



Figura 6. Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo homocigoto silvestre. Se observa la señal generada por la sonda VIC (verde), la cual reconoce al alelo silvestre. La señal para la sonda FAM (rojo) no se modifica, pues no se encuentra en la muestra el alelo mutado. El marcador ROX (azul) se usa como un control de referencia pasivo.

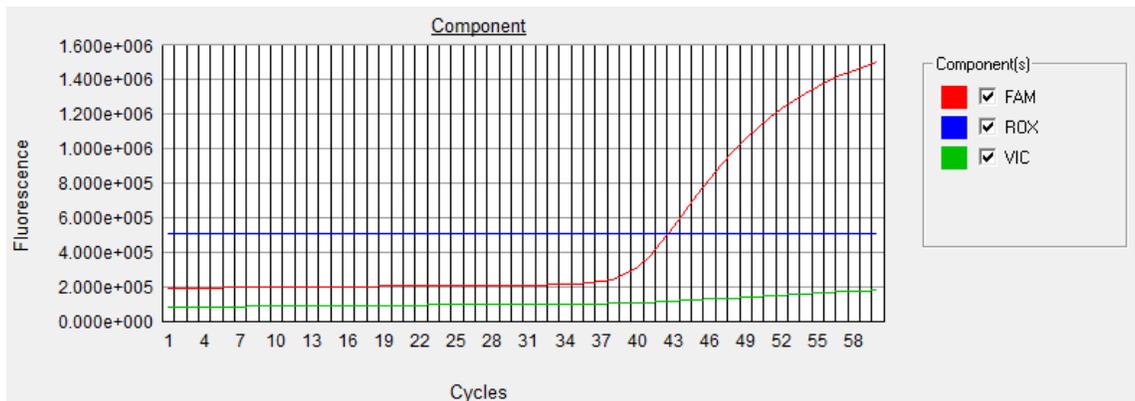


Figura 7. Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo homocigoto mutado. Se observa la señal generada por la sonda FAM (roja), la cual reconoce al alelo mutado. La señal para la sonda VIC (verde) no se modifica, pues no se encuentra en la muestra el alelo silvestre. El marcador ROX (azul) se usa como un control de referencia pasivo.

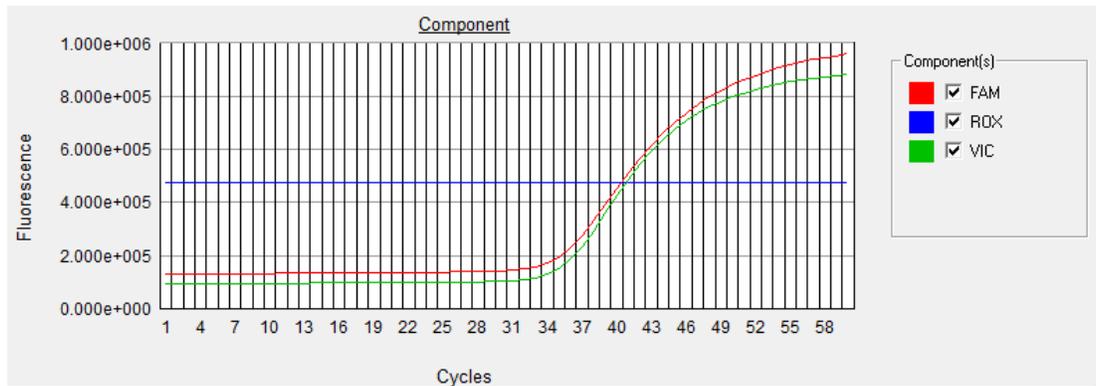


Figura 8. Gráfica que representa el componente de PCR tiempo real para el genotipo heterocigoto. Se observan las señales generadas por las sondas VIC (verde) y FAM (roja), la cual reconoce al alelo silvestre y al mutado, respectivamente. El marcador ROX (azul) se usa como un control de referencia pasivo.

Se realizó la discriminación alélica para cada uno de los polimorfismos en las 383 muestras. Para la determinación de los genotipos, en cada placa de 96 pozos fueron incluidos además 3 controles negativos y 3 controles positivos (muestras a las que previamente se había determinado el genotipo), distribuidos de manera aleatoria. En la Figura 9 se muestra una gráfica con la distribución de genotipos generados de una placa representativa, donde los rombos azules corresponden a genotipos de homocigotos mutantes, los círculos rojos corresponden a genotipos de homocigotos silvestres, y los triángulos verdes corresponden a genotipos heterocigotos. Los cuadros grises corresponden a los controles negativos o muestras que no amplificaron.

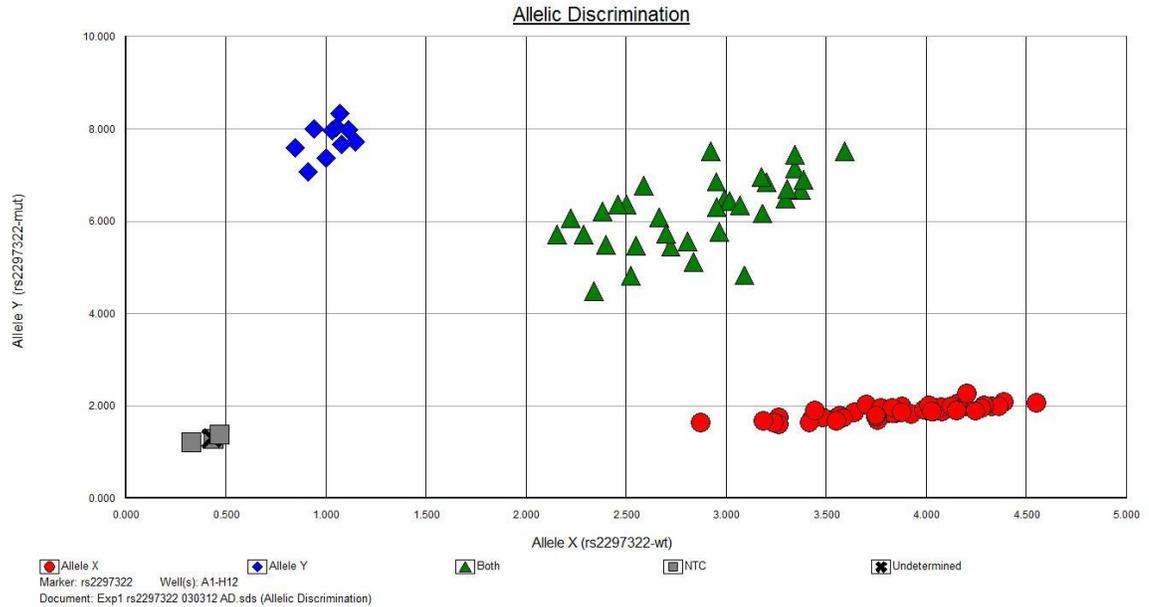


Figura 9. Gráfica representativa de discriminación alélica. Se muestran los genotipos de homocigotos mutantes (◆), homocigotos silvestres (●) y heterocigotos (▲). Además también se muestran los controles negativos (■) y muestras que no amplificaron (⊠).

6.1. Frecuencias genotípicas y alélicas

Los datos de las frecuencias genotípicas y alélicas, obtenidas de la población en estudio, se muestran de manera independiente para cada uno de los polimorfismos de los genes *ABCB1* y *SCL15A1*.

6.1.1. Polimorfismo C/T en el intrón 3 del gen *ABCB1*.

En los resultados obtenidos para el polimorfismo C/T se encontró que 117 individuos presentaron el genotipo homocigoto silvestre (CC), siendo estos el 30 % de la población estudiada; por otra parte, el 51 % lo conformaron 194 individuos con el genotipo heterocigoto (CT), y finalmente 72 individuos presentaron el genotipo homocigoto mutante (TT), conformando así el 19 % del total de los 383 individuos estudiados. En cuanto a la frecuencia del alelo mutado se determinó en 0.44 (Tabla 10).

Tabla 10.

Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo C/T del intrón 3 del gen *ABCB1* en una población del noreste de México

Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		
Genotipo	n	%	Alelo	n	%
CC	117	30	C	428	56
CT	194	51	T	338	44
TT	72	19			
Total	383	100	Total	766	100

Así mismo, para determinar si la población que se utilizó se encontraba en equilibrio Hardy-Weinberg, se realizó la prueba de χ^2 (tabla 11) con los datos obtenidos del análisis genotípico para el polimorfismo C/T del intrón 3; el valor de χ^2 que obtuvimos fue de 0.47, siendo este menor que el valor de tablas que es de 6.63, lo que nos indica que la población utilizada está en equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla 11.

Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo C/T del intrón 3 del gen *ABCB1*

	N _{CC}	N _{CT}	N _{TT}	
A	117	194	72	
	$E=(V_C^2 \cdot N_{total})$	$E=(2V_C \cdot V_T \cdot N_{total})$	$E=(V_T^2 \cdot N_{total})$	
E	115.85	185.3	74.14	
$(A - E)^2 / E$	0.01	0.40	0.06	$\Sigma\Sigma = 0.47$

$$V_C = (2N_{CC} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 117 + 194) / (2 \times 383) = 0.55$$

$$V_T = (2N_{TT} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 72 + 194) / (2 \times 383) = 0.44$$

Donde,

N_{CC} , N_{CT} y N_{TT} , número de personas con genotipos CC, CT y TT respectivamente.

N_{Total} , número total de muestras;

V_C y V_T , valores para los alelos C y T;

A, número real de casos de cada genotipo;

E, número esperado de cada genotipo.

G.L, numero de categorías menos el numero de alelos (3-2=1)

$$X^2_{0.01}(1) = 6.63$$

$$X^2 = 0.47 < 6.63$$

Por otra parte, las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C/T del intrón 3 fueron comparadas con las frecuencias reportadas previamente en otras poblaciones (tabla 12). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa de la población del noreste de México con poblaciones de Europa ($p=0.022$) y con una población mexicana reportada previamente ($p=0.024$), sin embargo, con una población de África ($p=2.66^{-8}$) y una de Asia ($p=9.38^{-5}$) se observó una diferencia altamente significativa; por otra parte, no se encontró una diferencia significativa con poblaciones afroamericanas ($p=0.361$) ni asiáticas ($p=0.20$).

Tabla 12.

Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C/T del intrón 3 del gen *ABCB1* en diversos grupos de poblaciones

Población (N)	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Alélica		Valor P	OR	IC 95%	Referencia
	CC	CT	TT	C	T				
Mexicana (383)	0.300	0.510	0.190	0.560	0.440	-	-	-	Este estudio
Europea (224)*	0.196	0.589	0.214	0.491	0.509	0.022	1.31	1.03-1.65	1
Asiática (170)	0.353	0.494	0.153	0.600	0.400	0.20	0.84	0.65-1.09	1
Africana (226)**	0.159	0.469	0.372	0.394	0.606	2.66 ⁻⁸	1.94	1.53-2.46	1
Afroamericana (46)	0.391	0.435	0.174	0.609	0.391	0.361	0.81	0.52-1.26	1
Asiática (86)**	0.488	0.465	0.047	0.721	0.279	9.38 ⁻⁵	0.49	0.34-0.70	1
Mexicana (100) *	0.160	0.620	0.220	0.470	0.530	0.024	1.427	1.04-1.95	1

(1) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=3789243

CC, CT y TT, corresponden a los genotipos.

C y T, corresponden a los alelos.

OR, significa relación de momios.

IC, significa el intervalo de confianza.

* Diferencia significativa ($P < 0.05$)

** Diferencia altamente significativa ($P < 0.001$)

6.1.2. Polimorfismo Gly412Gly del gen *ABCB1*

En los resultados obtenidos para el polimorfismo C1236T se encontró que 133 individuos presentaron el genotipo homocigoto silvestre (CC), siendo estos el 35 % de la población estudiada; por otra parte el 57% lo conformaron 218 individuos con el genotipo heterocigoto (CT), y finalmente 32 individuos presentaron el genotipo homocigoto mutante (TT), conformando así el 8% del total de los 383 individuos estudiados (Tabla 13). La frecuencia del alelo mutado fue de 0.37 en la población de estudio.

Tabla 13.**Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo C1236T del gen *ABCBI* en una población del noreste de México**

Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		
Genotipo	n	%	Alelo	n	%
CC	133	35	C	484	63
CT	218	57	T	282	37
TT	32	8			
Total	383	100	Total	766	100

Para determinar si la población se encontraba en equilibrio Hardy-Weinberg, se realizó la prueba de χ^2 con los datos obtenidos del análisis genotípico para el polimorfismo C1236T (Tabla 14). El valor de χ^2 que se obtuvo fue de 19.91, siendo este mucho mayor que el valor de tablas que es de 6.63, lo que nos indica que la población utilizada en nuestro estudio no estaba en equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla 14**Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo C1236T del gen *ABCBI***

	N _{CC}	N _{CT}	N _{TT}	
A	133	218	32	
	E=(V _C ² *N _{total})	E=(2V _C *V _T *N _{total})	E=(V _T ² *N _{total})	
E	152.01	173.72	49.63	
(A - E) ² / E	2.37	11.28	6.26	ΣΣ =19.91

$$V_C = (2N_{CC} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 133 + 218) / (2 \times 383) = 0.63$$

$$V_T = (2N_{TT} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 32 + 218) / (2 \times 383) = 0.36$$

Donde,

N_{CC} , N_{CT} y N_{TT} , número de personas con genotipos CC, CT y TT respectivamente.

N_{Total} , número total de muestras;

V_C y V_T , valores para los alelos C y T;

A, número real de casos de cada genotipo;

E, número esperado de cada genotipo.

G.L, numero de categorías menos el numero de alelos (3-2=1)

$$X^2_{0.01}(1) = 6.63$$

$$X^2 = 19.91 > 6.63$$

Las frecuencias genotípicas y alélicas, que se obtuvieron en este estudio, para el polimorfismo C1236T del gen *ABCB1* fueron comparadas con las frecuencias reportadas previamente en otras poblaciones (tabla 15). Se encontró que existe una diferencia altamente significativa con poblaciones asiáticas ($p=1.00^{-11}$), africanas (3.68^{-20}) y afroamericanas (1.46^{-5}). También se observó una diferencia significativa con poblaciones hispanas ($p=0.0012$) y una población europea ($p=0.004$). Sorpresivamente, se observó una diferencia significativa con una población mexicana ($p=0.017$). No se encontró una diferencia estadísticamente significativa con otra población europea ($p=0.375$).

Tabla 15.

Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C1236T del gen *ABCB1* en diversos grupos de poblaciones

Población (N)	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Alélica		Valor P	OR	IC 95%	Referencia
	CC	CT	TT	C	T				
Mexicana (383)	0.350	0.570	0.080	0.630	0.370	-	-	-	Este estudio
Europea (102)	0.216	0.765	0.020	0.598	0.402	0.3753	1.15	0.84-1.58	1
Asiática (172)**	0.174	0.477	0.349	0.413	0.587	1.00 ⁻¹¹	2.44	1.88-3.16	1
Africana (226)**	0.752	0.248	-	0.876	0.124	3.68 ⁻²⁰	0.24	0.17-0.33	1
Afroamericana** (44)	0.727	0.273	-	0.864	0.136	1.46 ⁻⁵	0.27	0.14-0.50	1
Hispana (44)*	0.182	0.545	0.273	0.455	0.545	0.0012	2.05	1.32-3.21	1
Europea (226)*	0.265	0.566	0.168	0.549	0.451	0.004	1.41	1.11-1.78	1
Mexicana (100)*	0.260	0.560	0.180	0.540	0.460	0.017	1.46	1.06-2.00	1

(1) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1128503

CC, CT y TT, corresponden a los genotipos.

C y T, corresponden a los alelos.

OR, significa relación de momios.

IC, significa el intervalo de confianza.

* Diferencia significativa ($P < 0.05$)

** Diferencia altamente significativa ($P < 0.001$)

6.1.3. Polimorfismo Ala893Ser/Thr del gen *ABCB1*

En los resultados obtenidos para el polimorfismo Ala893Ser/Thr del gen *ABCB1*, debido a que este polimorfismo SNP es trialélico, se presentaron 4 diferentes genotipos (Tabla 16) de los cuales el genotipo con un mayor porcentaje de presencia en la población de estudio fue el heterocigoto GT, el cual se observó en 169 individuos (44% de la población de estudio), el segundo genotipo predominante fue el silvestre GG y se observó en 153 individuos (40%), el tercer genotipo mas frecuente fue el heterocigoto TA el cual se observó en 33 individuos (9%), y finalmente el genotipo menos frecuente fue el heterocigoto GA, que se observó en 28 individuos (7%). Por otra parte las frecuencias alélicas se encontraron de la siguiente manera: el alelo G, el cual es considerado como el alelo ancestral, se encontró en 503 alelos (0.66); el alelo A se observó 61 veces (0.08), y el alelo T estuvo presente 202 veces (0.26).

Tabla 16

Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo G2677A/T del gen *ABCBI* en una población del noreste de México

Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		
Genotipo	n	%	Alelo	n	%
GG	153	40	G	503	66
GA	28	7	A	61	8
GT	169	44	T	202	26
TA	33	9			
Total	383	100	Total	766	100

6.1.4. Polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1*.

En los resultados obtenidos para el polimorfismo Ser117Asn, mostrados en la Tabla 17, se encontró que 176 individuos presentaron el genotipo homocigoto silvestre (CC), siendo estos, el 46 % de la población estudiada; por otra parte el 39 % lo conformaron 151 individuos con el genotipo heterocigoto (CT), y finalmente 56 individuos presentaron el genotipo homocigoto mutante (TT), conformando así el 15 %, del total de los 383 individuos estudiados. En cuanto a la frecuencia alélica del alelo T, el cual es el alelo considerado como el mutado, fue de 0.34.

Tabla 17

Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1* en una población del noreste de México.

Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		
Genotipo	n	%	Alelo	n	%
CC	176	46	C	503	66
CT	151	39	T	263	34
TT	56	15			
Total	383	100	Total	766	100

Para determinar si la población de estudio, conformada por 383 muestras, se encuentra en equilibrio, se llevó a cabo la determinación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante la prueba de χ^2 (tabla 18) con los datos obtenidos del análisis genotípico para el polimorfismo Ser117Asn. El valor de χ^2 que obtuvimos fue de 6.31, siendo este menor que el valor de tablas que es de 6.63, lo que nos indica que la población utilizada se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla 18

Cálculos para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de un análisis de la χ^2 , para el polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1*

	N _{CC}	N _{CT}	N _{TT}	
A	176	151	56	
E	E=(V _C ² *N _{total})	E=(2V _C *V _T *N _{total})	E=(V _T ² *N _{total})	
	161.81	169.28	44.27	
(A - E) ² / E	1.24	1.97	3.10	ΣΣ =6.31

$$V_C = (2N_{CC} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 176 + 151) / (2 \times 383) = 0.65$$

$$V_T = (2N_{TT} + N_{CT}) / 2N_{Total} = (2 \times 56 + 151) / (2 \times 383) = 0.34$$

Donde,

N_{CC} , N_{CT} y N_{TT} , número de personas con genotipos CC, CT y TT respectivamente.

N_{Total} , número total de muestras;

V_C y V_T , valores para los alelos C y T;

A, número real de casos de cada genotipo;

E, número esperado de cada genotipo.

G.L, numero de categorías menos el numero de alelos (3-2=1)

$$X^2_{0.01,1} = 6.63$$

$$X^2 = 6.31 < 6.63$$

Por otra parte, las frecuencias genotípicas y alélicas que se obtuvieron para el polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1*, fueron comparadas con las frecuencias reportadas previamente en otras poblaciones. En la Tabla 19 se muestran las frecuencias genotípicas, frecuencias alélicas, valores de P, intervalos de confianza y la relación de momios para la población europea, asiática y africana, así como para una pequeña población mexicana. Así mismo, estos resultados nos indican que existe una diferencia altamente significativa con una población de Europa ($p=1.46^{-18}$, $p=4.33^{-14}$), además se observa una diferencia significativa con poblaciones de África ($p=0.011$) y de Asia ($p=0.009$, $p=0.002$); y no así con una población mexicana ($p=0.208$) con la que no se observa una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 19

Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1* en diversos grupos de poblaciones.

Población (N)	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Alélica		Valor P	OR	IC 95%	Referencia
	CC	CT	TT	C	T				
Mexicana (383)	0.460	0.390	0.150	0.660	0.340	-	-	-	Este estudio
Europea (226)**	0.779	0.212	0.009	0.885	0.115	1.48 ⁻¹⁸	0.24	0.17-0.34	1
Africana (226)*	0.31	0.549	0.142	0.584	0.416	0.011	1.36	1.07-1.73	1
Asiática (172)*	0.337	0.477	0.186	0.576	0.424	0.009	1.41	1.08-1.83	1
Europea (120)**	0.833	0.150	0.017	0.908	0.092	4.33 ⁻¹⁴	0.19	0.12-0.30	1
Asiática (90)*	0.267	0.533	0.200	0.533	0.467	0.002	1.67	1.20-2.32	1
Mexicana (98)	0.510	0.388	0.102	0.704	0.296	0.208	0.80	0.57-1.13	1

(1) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2297322

CC, CT y TT, corresponden a los genotipos.

C y T, corresponden a los alelos.

OR, relación de momios.

IC, intervalo de confianza.

* Diferencia significativa ($P < 0.05$)

** Diferencia altamente significativa ($P < 0.001$)

6.2. Haplotipos

Con base en los polimorfismos genéticos encontrados en la población de estudio para los genes *ABCBI* y *SLC15A1*, se realizó el agrupamiento mediante haplotipos. Se determinaron 55 haplotipos diferentes (tabla 20), los cuales fueron encontrados en la población de estudio, llegando a observar que el haplotipo conformado por individuos heterocigotos para los polimorfismos Ser117Asn, C/T del intrón 3, C1236T y heterocigoto GT para el polimorfismo G2677A/T es el más frecuente, encontrándose en 52 individuos de los 383 pertenecientes al estudio, este haplotipo corresponde al 13.58 % de los haplotipos presentes en esta población. Por otra parte el segundo haplotipo más frecuente en esta población, formando un 12.01%, es el de individuos que son heterocigotos para los polimorfismo C/T del intrón 3, C1236T, homocigoto silvestre para los polimorfismo Ser117Asn, y heterocigoto GT para el polimorfismo G2677A/T, el número de individuos que presentaron este haplotipo fue de 46 de los 383 estudiados. Por otra parte 34 individuos resultaron tener el genotipo homocigoto silvestre para los polimorfismos Ser117Asn, C/T del intrón 3, G2677A/T y para el polimorfismo C1236T; este haplotipo se encontró en un 8.8 % de la población de estudio. Además, en este estudio, encontramos haplotipos con una mínima presencia en esta población, como es el caso de 15 haplotipos diferentes que solo se encontraron en un individuo, constituyendo, cada uno de estos haplotipos, el 0.26 % de los 55 haplotipos encontrados.

Tabla 20

**Haplotipos presentes en una población del noreste de México usando los genes
ABCBI y *SLC15A1*.**

#	No. de individuos	Gen <i>ABCBI</i>			Gen <i>SLC15A1</i>	%
		Polimorfismo C/T en el intrón 3	C1236T	G2677A/T	Ser117Asn	
1	52	HET	HET	HET GT	HET	13.58
2	46	HET	HET	HET GT	SILV	12.01
3	34	SILV	SILV	SILV	SILV	8.88
4	28	SILV	SILV	SILV	HET	7.31
5	15	HET	HET	HET GT	MUT	3.92
6	12	MUT	HET	MUT TA	SILV	3.13
7	12	HET	SILV	SILV	SILV	3.13
8	11	MUT	HET	HET GT	SILV	2.87
9	11	HET	MUT	HET GT	SILV	2.87
10	11	HET	SILV	SILV	HET	2.87
11	10	MUT	HET	MUT TA	HET	2.61
12	10	SILV	HET	SILV	SILV	2.61
13	9	SILV	SILV	SILV	MUT	2.35
14	7	HET	SILV	HET GA	HET	1.83
15	7	MUT	HET	HET GT	HET	1.83
16	7	HET	MUT	HET GT	HET	1.83
17	7	SILV	HET	SILV	HET	1.83
18	7	SILV	HET	SILV	MUT	1.83
19	6	HET	SILV	HET GA	SILV	1.57
20	5	MUT	HET	MUT TA	MUT	1.31
21	5	MUT	SILV	SILV	SILV	1.31
22	4	HET	HET	HET GA	HET	1.04
23	4	SILV	HET	HET GT	SILV	1.04
24	4	HET	HET	SILV	HET	1.04
25	4	HET	HET	SILV	SILV	1.04
26	4	MUT	SILV	SILV	MUT	1.04
27	3	MUT	HET	HET GT	MUT	0.78
28	3	SILV	HET	HET GT	HET	0.78
29	3	SILV	SILV	HET GT	SILV	0.78
30	3	SILV	MUT	HET GT	SILV	0.78
31	3	HET	SILV	SILV	MUT	0.78
32	3	MUT	SILV	SILV	HET	0.78
33	3	SILV	MUT	SILV	HET	0.78

Tabla 20. (continuación)

#	No. de individuos	Gen <i>ABCB1</i>			Gen <i>SLC15A1</i>		%
		Polimorfismo C/T en el intrón 3	C1236T	G2677A/T	Ser117Asn		
34	3	SILV	MUT	SILV	SILV	0.78	
35	2	SILV	HET	HET GA	SILV	0.52	
36	2	HET	SILV	HET GA	MUT	0.52	
37	2	MUT	SILV	HET GA	MUT	0.52	
38	2	HET	HET	MUT TA	HET	0.52	
39	2	HET	HET	MUT TA	SILV	0.52	
40	2	MUT	HET	SILV	SILV	0.52	
41	1	HET	HET	HET GA	SILV	0.26	
42	1	MUT	HET	HET GA	HET	0.26	
43	1	MUT	HET	HET GA	SILV	0.26	
44	1	MUT	SILV	HET GA	HET	0.26	
45	1	MUT	SILV	HET GA	SILV	0.26	
46	1	SILV	HET	HET GT	MUT	0.26	
47	1	MUT	SILV	HET GT	SILV	0.26	
48	1	HET	MUT	HET GT	MUT	0.26	
49	1	MUT	MUT	HET GT	MUT	0.26	
50	1	HET	HET	MUT TA	MUT	0.26	
51	1	MUT	SILV	MUT TA	SILV	0.26	
52	1	HET	HET	SILV	MUT	0.26	
53	1	HET	MUT	SILV	MUT	0.26	
54	1	HET	MUT	SILV	SILV	0.26	
55	1	MUT	MUT	SILV	HET	0.26	

HET, heterocigoto, SILV, silvestre, MUT, mutado, HET TA, heterocigoto TA, HET GT, heterocigoto GT, HET GA, heterocigoto GA.

7. DISCUSIÓN

Para contrarrestar la pandemia de influenza, acaecida en años pasados, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América recomendaron la administración de un inhibidor de la neuroaminidasa, el oseltamivir, el cual es sustrato de dos transportadores, la glicoproteína-P (gp-P), que es codificada por el gen *ABCBI* (Ruiz, 2002, Rosenberg, 1997, Lum, 1993, Kaye, 1988, Nuti, 2000, Booth, 2000) y el transportador de oligopéptidos (PepT1) que es codificado por el gen *SCL15A1* (Covitz, 1998). Los genes *ABCBI* y el *SCL15A1* presentan variantes genéticas, cuyas frecuencias alélicas y genotípicas no han sido publicadas para la población mexicana, particularmente la que se encuentra en el noreste del país. Por tal razón, en este trabajo se abordó un estudio poblacional para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los genes mencionados. Se analizaron los polimorfismos Citocina/Timina en el intron 3, C1236T y el G2677T/A, en el gen *ABCBI*, mientras que en el gen *SLC15A1* se analizó el polimorfismo Ser117Asn. Con respecto al polimorfismo C/T en el intrón 3 del gen *ABCBI*, en nuestros resultados (tabla 12) se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa con respecto a una población europea ($p = 0.022$) y como se ha publicado previamente, éstos no son los únicos orígenes que conforman a la población mexicana (Silva-Zolezzi, 2009). Además, también se observaron diferencias significativas con una población mexicana ($p=0.024$), la cual pudiera deberse a que los datos previos provienen del proyecto HapMap fase 3 (N.C.B.I., 2012e), en donde se determinaron las frecuencias alélicas de 100 personas con orígenes mexicanos ancestrales, pero que radican en los Ángeles California, y cuyo requisito para formar

parte de este grupo de muestras fue que 3 de sus 4 abuelos fueran de origen mexicano(Coriell, 2012), sin especificar la región de México que representan. Por otro parte, se observaron diferencias altamente significativas de la población de estudio con las correspondientes en África ($p=2.66^{-8}$) y Asia ($p=9.38^{-5}$), lo cual probablemente se deba a que la población mexicana, como ya se mencionó anteriormente, es un población mestiza que presenta diversos orígenes ancestrales de los cuales los africanos se encuentran en una menor proporción (Silva-Zolezzi, 2009); en cuanto a la población de Asia, algunos autores han mencionado que los asiáticos también han contribuido como origen ancestral para la población mexicana, ya que algunos grupos de americanos nativos descienden de inmigrantes provenientes de Asia (Mendoza, 2004). Dentro de las comparaciones realizadas, se observó que algunas poblaciones afroamericanas ($p=0.361$) y asiáticas ($p=0.20$) no presentaron una diferencia significativa con respecto a los resultados obtenidos en este estudio. Respecto a las poblaciones afroamericanas, esto puede deberse a que los llamados afroamericanos son ya una mezcla de africanos y americanos, lo cual los distancia de la población mexicana. Por otra parte, en lo que se refiere a la población asiática, puede ser que el hecho de presentar una n mayor ($n=170$) que la población asiática mencionada anteriormente ($n=86$), sea determinante para no presentar diferencias estadísticamente significativas con los resultados obtenidos en este trabajo.

Por otra parte, al analizar las frecuencias del polimorfismo C1236T del gen *ABCB1* obtenidas en nuestro estudio (tabla 15), se observaron diferencias altamente significativas con poblaciones asiáticas ($p=1.00^{-11}$), africanas ($p=3.68^{-20}$) y afroamericanas ($p=1.46^{-5}$). Como se mencionó anteriormente, estas tres razas o poblaciones son consideradas como parte de los orígenes ancestrales que preceden a la actual población mexicana (Mendoza, 2004, Silva-Zolezzi, 2009), pero que no se mantienen en la misma proporción por las combinaciones de otras poblaciones europeas. Por otra parte, pudiera ser que la diferencia altamente significativa de la población afroamericana sea un poco menor de estas tres población debido tal vez a que los afroamericanos son ya una mezcla de africanos y americanos, lo cual pudiera contribuir a esta pequeña diferencia, misma que también pudiera variar si la n de la población utilizada ($n=44$) fuera mayor. Con respecto a las otras poblaciones, se observó una

diferencia significativa con poblaciones hispanas ($p=0.0012$), lo cual podría deberse a que las muestras que se utilizaron como muestras hispanas fueron obtenidas de un panel de muestras mexicoamericanas (HD24MEX) de la comunidad de Los Ángeles, este panel lo obtuvieron del catalogo de la colección de poblaciones humanas del Instituto Coriell (<http://ccr.coriell.org/Sections/BrowseCatalog/Populations.aspx?PgId=4>), ya que esta comunidad mexicoamericana que radica en Los Ángeles podría ser también una mezcla de diferentes poblaciones y que solo presentan ancestros de origen mexicano. Y en cuanto a la población europea ($p=0.004$), que como ya se mencionó previamente, es una de las principales poblaciones que forman los orígenes ancestrales de la población mexicana (Silva et al 2009), de ahí que la diferencia de esta población con respecto a nuestros resultados obtenidos sea significativa. Por otra parte, se observó una diferencia significativa con una población mexicana ($p=0.017$), pero como se comentó anteriormente, pudiera deberse a que las muestras provienen de individuos que son de ascendencia mexicana pero que radican en Los Ángeles, California, EE.UU. y con características específicas (N.C.B.I., 2012e); sin embargo, en nuestro estudio observamos que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa con otra población europea ($p=0.375$), la cual consta de una n menor ($n=102$) a la primer población europea ($n=226$) comparada en este apartado.

Por último, se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1* (Tabla 19), y al compararlas con las frecuencias reportadas previamente en otras poblaciones encontramos que existe una diferencia altamente significativa con dos poblaciones de Europa ($p=1.46^{-18}$, $p=4.33^{-14}$), lo cual podría deberse, como ya se mencionó, a que la población mexicana está formada principalmente por mestizos que conforman el 95% de la población total (Serrano, 1996). Por otra parte con respecto a las poblaciones de África ($p=0.011$) y de Asia ($p=0.009$, $p=0.002$), se encontró que éstas presentan solo diferencia significativa con respecto a nuestros resultados. Las poblaciones asiática y africana forman una parte importante de la formación de mestizos en nuestro país, ya que se consideran como parte de los orígenes ancestrales de la población mexicana (Mendoza, 2004, Silva-Zolezzi, 2009); las poblaciones africanas usadas para realizar las comparaciones son provenientes de Nigeria (Yoruba in Ibadan, Nigeria, YRI), y de una población de Tokio (Japanese in

Tokyo, Japan, JPT). Con respecto a la población mexicana anteriormente reportada y con la cual comparamos nuestro estudio, se observó que ésta no presentó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.208$), mostrando así una gran similitud entre estas dos poblaciones, lo cual es esperado, ya que la población utilizada fue obtenida de una población residente del noreste de México mientras que la población utilizada en el estudio anteriormente reportado, utilizaron una población que presenta orígenes mexicanos ancestrales (Coriell, 2012), por lo cual no es extraño que no presenten diferencia estadística.

De los polimorfismos que se analizaron en este estudio, se observó que el polimorfismo C1236T y el polimorfismo G2677A/T presentaron una relación del 70.64%, es decir en 271 muestras concordaron ya sea presentando el genotipo silvestre o genotipo heterocigoto. Esta asociación evidencia la segregación conjunta en población mexicana, la cual también ha sido observada de manera similar en poblaciones euroamericanas, afroamericanas y asiáticas (Mendoza, 2004, Silva-Zolezzi, 2009); estas poblaciones se encuentran relacionadas con la población mexicana al formar parte de los orígenes ancestrales (Mendoza, 2004, Silva-Zolezzi, 2009).

Derivado del análisis de haplotipos, se observó que la combinación de varios de ellos contribuiría a predecir la función de los transportadores gp-P y PepT1, y por lo tanto influir en el funcionamiento, no solo para el transporte del fármaco oseltamivir sino también de otros fármacos considerados como sustratos de éstos. Considerando lo anterior, los haplotipos que creemos conveniente tomar en cuenta están representados en los renglones 21, 26, 32, 37, 44, 45, 47 y 51 de la tabla 20. Por ejemplo, la combinación de polimorfismos que hace a las personas más susceptibles a desarrollar en un futuro cáncer colorectal se basa en la presencia del alelo mutante T en el intrón 3 (Andersen, 2009). Por el contrario, el polimorfismo C1236T del mismo gen *ABCB1* en su forma silvestre es considerado como factor de riesgo para este mismo tipo de cáncer, ya que su polimorfismo en forma mutante proporciona protección para el cáncer colorectal (Balcerczak, 2010). Por otra parte, 34 de los 55 diferentes haplotipos que se determinaron en este estudio presentaron variantes en el polimorfismo G2677A/T, lo cual podríamos considerar como otro punto de importancia, ya que Arnaud G L'Huillier (Arnaud, 2011) han relacionado al 38% (10/26) de los pacientes tratados con

oseltamivir, portadores de al menos uno de los alelos variantes GT, GA, TT o TA, como los individuos que presentaron eventos adversos neuropsiquiátricos, en comparación con el 31% (5/16) de los que portaran al genotipo silvestre GG. Por lo anterior, y debido a que los 34 haplotipos encontrados en nuestro estudio que presentan estas variantes corresponden a 230 muestras de las 383 utilizadas, correspondiendo al 60.05 % de las muestras totales, se puede inferir que la población residente del noreste de México presenta una predisposición a mostrar efectos adversos neuropsiquiátricos. Sin embargo, estos resultados de los haplotipos requieren de mas estudios, puesto que para algunos polimorfismo, a pesar de que se han relacionando con algunas situaciones clínicas, no se tiene bien definido su participación en las mismas, como es el caso del polimorfismo Ser117Asn, del cual algunos autores mencionan que en una población puede ser de riesgo para la enfermedad de Crohn, mientras que en otras poblaciones lo relacionan mas con la protección a esta misma enfermedad (Zucchelli, 2009).

Los resultados obtenidos en este estudio se concentraran con otros obtenidos en otros trabajos con las mismas muestras para evaluar la asociación clínica con los eventos adversos observados y reportados en la población de estudio.

8. CONCLUSIONES

8.1. Conclusión

En este trabajo se determinó que las variantes genéticas G2677T/A, C1236T, y C/T en el intrón 3, localizadas en el gen *ABCB1* se encuentran presente en una población residente en el noreste de México en una proporción 0.34, 0.37 y 0.44, respectivamente. Además el polimorfismo Ser117Asn del gen *SLC15A1* también se encontró en una proporción de 0.34 en la misma población de estudio. La identificación de dichas mutaciones puede contribuir a predecir la susceptibilidad de los individuos a enfermedades o reacciones adversas por fármacos administrados que son transportados por gp-P y el PepT1.

9. PERSPECTIVAS

9.1. Perspectivas

Relacionar los resultados obtenidos en este estudio con los hallazgos clínicos en los individuos, a fin de confirmar o refutar la asociación genética de los polimorfismos con los efectos adversos de fármacos.

Iniciar el establecimiento de una base de datos, con todos los resultados concentrados de estas muestras, que nos proporcione la composición de las variantes genéticas presentes en individuos residentes en el noreste de México, para así contribuir al inicio de la implementación de la medicina personalizada en nuestra población.

LITERATURA CITADA

- Al-Muharrmi Z. 2010. Understanding the Influenza A H1N1 2009 Pandemic. Sultan Qaboos Univ Med J 10: 187-95.
- Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek a, . 2001. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435 T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. Pharmacogenetics 11: 217–221.
- Ameyaw Mm RF, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A 2001. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. Pharmacogenetics 11: 217-221.
- Andersen V, Ostergaard M, Christensen J, Overvad K, Tjønneland a, Vogel U. 2009. Polymorphisms in the xenobiotic transporter Multidrug Resistance 1 (MDR1) and interaction with meat intake in relation to risk of colorectal cancer in a Danish prospective case-cohort study. BMC Cancer 9: 407.
- Arnaud GLHKIL, Pierre-Alex Crisinel, Michela C Rebsamen, Joel Fluss, Christian M Korff, Remy P Barbe, Claire-Anne Siegrist, Pierre Dayer, Klara M Posfay-Barbe, Jules a Desmeules and the H1n1 Pediatric Epidemiology Study Group of Geneva. 2011. ABCB1 polymorphisms and neuropsychiatric adverse events in oseltamivir-treated children during influenza H1N1/09 pandemia. Pharmacogenomics 12: 1493–1501.
- Azzaria. M SE, Gros P. 1989. Discrete mutations introduced in the predicted nucleotide-binding sites of the *mdr1* gene abolish its ability to confer multidrug resistance. Mol Cell Biol 9: 5289-5297.
- Balcerczak EMP, Sylwester Piaskowski, Grażyna Pasz-Walczak, Aleksandra Sałagacka, Marek Mirowski. 2010. ABCB1/MDR1 gene polymorphisms as a prognostic factor in colorectal cancer. Int J Colorectal Dis 25: 1167–1176.
- Balimane PTI, Guo a, Nakanishi T, Kitada H, Leibach Fh, Tsuji a, and Sinko Pj 1998. Direct evidence for peptide transporter (PepT1)-mediated uptake of a nonpeptide prodrug, valacyclovir Biochem Biophys Res Commun 250: 246–251.
- Bardsley-Elliot A, Noble S. 1999. Oseltamivir. Drugs 58: 851-60.
- Barrett CJ, G. Hill, J. Mann, A. Dorr, R. Dutkowski, and P. Ward. 2001. Pharmacokinetics and dosage recommendations for an oseltamivir oral Suspension for the treatment of influenza in children. Pediatr. Drugs 3: 229–236.

- Belshe R. 2005. The origins of pandemic influenza-lessons from the 1918 virus. *N Engl J Med* 353: 2209–11.
- Belshe RB. 2009. Implications of the emergence of a novel H1 influenza virus. *N Engl J Med* 360: 2667-8.
- Biedler J. 1992. Genetic aspects of multidrug resistance. *Cancer* 70: 1799-1809.
- Booth CL, Pulaski L, Gottesman Mm, Pastan I. 2000. Analysis of the properties of the N-terminal nucleotide-binding domain of human P-glycoprotein. *Biochemistry* 39: 5518-5526.
- Borst P, A. H. Schinkel, J. J. Smit, E. Wagenaar, L. Van Deemter, A. J. Smith, E. W. Eijdens, F. Baas, and G. J. Zaman. 1993. Classical and novel forms of multidrug resistance and the physiological functions of P-glycoproteins in mammals. *Pharmacol. Ther* 60: 289–299.
- Botstein D, Risch N. 2003. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet* 33: 228-237.
- C.D.C. 2009a. Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1). *Morb Mortal Wkly Rep* 2009.
- C.D.C. 2009b. Outbreak of swine-origin influenza A (H1N1) virus infection—Mexico, March– April 2009. *Morb Mortal Wkly Rep* 58: 467.
- C.D.C., 2010a. *Dosis* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://espanol.cdc.gov/enes/flu/professionals/antivirals/antiviral-dosage.htm>. [Revisado junio 2012]
- C.D.C., 2010b. *Influenza Season Week 19 ending May 15, 2010* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.cdc.gov/flu/weekly/> [Revisado Julio 2012]
- Cauchemez S, Donnelly CA, Reed C, Ghani AC, Fraser C, Kent CK, Finelli LFerguson NM. 2009. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in the United States. *N Engl J Med* 361: 2619-27.
- Coordinación De Vigilancia Epidemiológica I. 2009. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Influenza A (H1N1). Mayo 13 2009.
- Cordon-Cardo C, O'brien,J.P.,Casals,D.,Rittman-Grauer,L.,Biedler,J.L., Melamed, M.R.,and Bertino, J.R. 1989. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc .Natl Acad. Sci* 86: 695–698.
- Coriell I, 2012. *Mexican Ancestry in Los Angeles, CA, USA [MXL]* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://ccr.coriell.org/Sections/Collections/NHGRI/Mexican.aspx?PgId=364&coll=HG> [Revisado julio 1012]
- Covitz KM, Amidon GI, Sadee W. 1998. Membrane topology of the human dipeptide transporter, hPEPT1, determined by epitope insertions. *Biochemistry* 37: 15214–15221.
- Chin JE, Soffir R, Noonan Ke. 1989. Structure and expression of the human MDR1 (P-glycoprotein) gene family. *Mol Cell Biol* 9: 3808–3820.
- Chong AS, P. N. Markham, H. M. Gebel, S. D. Bines, and J. S. Coon. 1993. Diverse multidrug-resistance-modification agents inhibit cytolytic activity of natural killer cells. *Cancer Immunol. Immunother* 36: 133–139.
- Daniel H. 2004. Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport *Ann Rev Physiol* 66: 361–384.

- De La Haba-Rodriguez J. 2011. Polimorfismo de ABCB1 en pacientes diagnosticados de Charcot-Marie Tooth. Una posible relación con la neurotoxicidad a tratamiento citostático. *Med Clin (Barc)*
- Dean M, Hamon Y, Chimini G. 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J. Lipid Res* 42: 1007–1017.
- Del Rio C, Guarner J. 2010. The 2009 Influenza A (H1N1) Pandemic: What Have We Learned In The Past 6 Months. *Transactions Of The American Clinical And Climatological Association* 121:
- Doucette KE, Aoki Fy. 2001. Oseltamivir: A clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacother* 2: 1671-83.
- Dutkowski R, Thakrar B, Froehlich E, Suter P, Oo C, Ward P. 2003. Safety and pharmacology of oseltamivir in clinical use. *Drug Saf* 26: 787–801.
- Edwards E, Truffa Mm, Mosholder Ad. 2006. Postmarketing safety evaluator: Division of Drug Risk Evaluation (DDRE). Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research
- Flu.Gov, 2012a. *Gripe aviaria H5N1 (gripe de las aves H5N1)* [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://espanol.flu.gov/about_the_flu/h5n1/index.html [Revisado septiembre 2012]
- Flu.Gov, 2012b. *Pandemic Flu History* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.flu.gov/pandemic/history/index.html> [Revisado agosto en 2012]
- Fuyuno I. 2007. Tamiflu side effects come under scrutiny. *Nature* 446: 358-359.
- Ganapathy V, And Leibach, F. H. 1986. Carrier-mediated reabsorption of small peptides in renal proximal tubule. *Am. J. Physiol* 251: F945–F953.
- Ganapathy V, Brandsch, M., and Leibach, F. H. 1994. Intestinal transport of amino acids and peptides. *In: Physiology of the Gastrointestinal Tract* JOHNSON, L. R., ED. New York, pp. 1773–1794.
- Genetics H, 2012. *SLC gene family* [Internet]. Disponible en el sitio de red: . <http://ghr.nlm.nih.gov/geneFamily/slc> [Revisado junio 2012]
- Gonzalez-Haba E, García Mi, Cortejoso L, López-Lillo C, Barrueco N, García-Alfonso P, Alvarez S, Jiménez JI, Martín MI, Muñoz-Fernández Ma, Sanjurjo M, López-Fernández La. 2010. ABCB1 gene polymorphisms are associated with adverse reactions in fluoropyrimidine-treated colorectal cancer patients. *Pharmacogenomics* 11: 1715-1723.
- Gros PCJ, Housman D. 1986. Mammalian drug resistance gene: complete cDNA sequence indicates a strong homology to bacterial transport proteins. *Cell Res* 47: 371-380.
- Gupta S, And S. Gollapudi. 1993. P-glycoprotein (MDR 1 gene product) in cells of the immune system: its possible physiologic role and alteration in aging and human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) infection. *J. Clin. Immunol* 13: 289–301.
- Haerian BS, Lim Ks, Mohamed Eh, Tan Hj, Tan Ct, Raymond Aa, Wong Cp, Wong Sw, Mohamed Z. 2011. Lack of association of ABCB1 haplotypes on five loci with response to treatment in epilepsy. *Seizure* 20: 546-553.
- Hagting A, Vd Velde J, Poolman B, Konings Wn. 1997. Membrane topology of the di- and tripeptide transport protein of *Lactococcus lactis*. *Biochemistry* 36: 6777–6785.
- Hama R. 2007. Oseltamivir's adverse reactions: fifty sudden deaths may be related to central suppression. *BMJ* 335: 59.

- Hama R. 2008. Fatal neuropsychiatric adverse reactions to oseltamivir: case series and overview of causal relationships. *Int J Risk Safety Med* 20: 5–36.
- Han H, De Vruhe RI, Rhie Jk, Covitz Km, Smith PI, Lee Cp, Oh Dm, Sade E W, and Amidon GI 1998. Cellular uptake mechanism of amino acid ester prodrugs in Caco-2/hPEPT1 cells overexpressing a human peptide transporter. *Pharm Res* 15: 1154–1159.
- Hapmap I. 2005. A haplotype map of the human genome. *Nature* 437: 1299-1320.
- Harris AL, Hochhauser D. 1992. Mechanisms of multidrug resistance in cancer treatment. *Acta Oncologica* 31: 205-213.
- He G MJ, Ward P. 1999. Clinical pharmacokinetics of the prodrug oseltamivir and its active metabolite Ro 64-0802. *Clin Pharmacokinet* 37 471–84
- Hediger MA. 1994. Structure, Function and Evolution of Solute Transporters in Prokaryotes and Eukaryotes. *J. exp. Biol* 196: 15–49.
- Hetero Drugs L. 2012. Fluvir (Oseltamivir Capsules 75 mg). Hetero Drugs Limited
- Ho GT, Soranzo N, Nimmo Er, Tenesa a, Goldstein Db, Satsangi J. 2006. ABCB1/MDR1 gene determines susceptibility and phenotype in ulcerative colitis: discrimination of critical variants using a gene-wide haplotype tagging approach *Hum Mol Genet* 15: 797-805.
- Huisman MT, J. W. Smit, H. R. Wiltshire, R. M. Hoetelmans, J. H. Beijnen, and A. H. Schinkel. 2001. P-glycoprotein limits oral availability, brain, and fetal penetration of saquinavir even with high doses of ritonavir *Mol. Pharmacol* 59: 806–813.
- Ichihara S, Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K, Matsuo H, Kojima T, Watanabe S, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Aoyagi Y, Yasunaga a, Park H, Tanaka M, Nozawa Y. 2008. Association of a polymorphism of ABCB1 with obesity in Japanese individuals. *Genomics* 91: 512-516
- Izumi Y, Tokuda K, O'dell Ka, Zorumski Cf, Narahashi T. 2007. Neuroexcitatory actions of Tamiflu and its carboxylate metabolite. *Neurosci Lett* 426: 54-58.
- Jamieson B, Jain R, Carleton B, Goldman Rd. 2009. Use of oseltamivir in children. *Can Fam Physician* 55: 1199-1201.
- Kamps BS, Hoffmann C 2006. Oseltamivir (Drug profiles). *Influenza report 2006*. Flying Publisher.
- Kato M, Fukuda T, Serretti a, Wakeno M, Okugawa G, Ikenaga Y, Hosoi Y, Takekita Y, Mandelli L, Azuma J, Kinoshita T. 2008. ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32: 398-404.
- Kaye S. 1988. The multidrug resistance phenotype. *Br J Cancer* 58: 691-694.
- Kim R, Leake B, Choo E, Dresser G, Kubba S, Schwarz U. 2001. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 70: 189-199.
- Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, Gottesman MM. 2007. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science* 315: 525-8.
- Lessler J, Reich Ng, Cummings Da. 2009. Outbreak of 2009 pandemic influenza A (H1N1) at a New York City school. *N Engl J Med* 361:2628-36: 2628-36

- López CM, Venado A., Moreno A., Pacheco Domínguez R.L., Ortega Pierres G. 2009. Emerging Problems in Infectious Diseases On the Spread of the Novel Influenza A (H1N1) Virus in Mexico. *J Infect Dev Ctries* 3: 327-330.
- Lum BL, Fisher Ga, Brophy Na. 1993. Clinical trials of modulation of multidrug resistance, pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Cancer* 72: 3502-14.
- Luna P, Zuazag M., Chede C., Entin E. Y Larralde M. 2010. Necrólisis epidérmica tóxica postratamiento con oseltamivir. *Arch Argent Pediatr* 108: e76-e78 / e76.
- Mathney C, Lamb Mw, Brouwer Klr, Pollack Gm. 2001. Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmacotherapy* 21: 778–796.
- Matthews DM. 1991. *Protein Absorption: Development and Present State of the Subject*. New York, pp.
- Mccaughey C. 2010. Influenza: a virus of our times. *Ulster Med J* 79: 46-51.
- Mcintosh SaHaK. 2010. The first influenza pandemic of the 21st century *Ann Saudi Med* 30: 1-10.
- Mcnicholl IR, McNicholl, J.J. 2001. Neuraminidase inhibitors: Zanamivir and oseltamivir. *Ann Pharmacother* 35: 57-70.
- Mendoza CA, Castorena Torres Fabiola, Bermudez Mario, Martínez Hernández Roberto, Ortega Arturo, Salinas Juan E. Y Albores Arnulfo. 2004. Genotype and Allele Frequencies Of Polymorphic Cytochromes P450 CYP1A2 And CYP2E1 In Mexicans. *Cell Biochem Funct* 22: 29–34.
- Merk M, 2010. *Swine influenza update* [Internet]. Disponible en el sitio de red: [:http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/121407.htm](http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/121407.htm). [Revisado
- Morimoto KMN, Yoshiyuki Shirasaka, Chihaya Kakinuma, Takuya Fujita, Ikumi Tamai and Takuo Ogihara. 2008. Oseltamivir (Tamiflu) Efflux Transport at the Blood-Brain Barrier via P-Glycoprotein. *Drug Metabolism And Disposition*. 36: 6–9.
- N.C.B.I., 2012a. *Cluster Report: rs1128503*. [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1128503. [Revisado febrero 2012
- N.C.B.I., 2012b. *Cluster Report: rs2032582* [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2032582. [Revisado febrero 2012
- N.C.B.I., 2012c. *Cluster Report: rs2297322*. [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2297322 [Revisado febrero 2012
- N.C.B.I., 2012d. *Cluster Report: rs3789243*. [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=3789243. [Revisado febrero 2012
- N.C.B.I., 2012e. *Short Genetics Variations* [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_viewTable.cgi?pop=12161 [Revisado julio 2012
- N.C.B.I., 2012f. *SLC15A1. Solute carrier family 15* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=6564> [Revisado

- Nobili S, Landini I, Gigloni B, Mini E. 2006. Pharmacological strategies for overcoming multidrug resistance. *Curr Drug Targets* 7: 861–879.
- Nuti SL, Mehdi a, Rao Us. 2000. Activation of the human P-glycoprotein ATPase by trypsin. *Biochemistry* 39: 3424-3432.
- Oros MM. 2011. Genetic performance criteria for valproate in patients with epilepsy. *Lik Sprava* Apr-Jun: 113-119.
- Osswald E, Johne a, Laschinski G, Arjomand-Nahad F, Malzahn U, Kirchheiner J, Gerloff T, Meisel C, Mrozikiewicz Pm, Chernov J, Roots I, Köpke K. 2007. Association of MDR1 genotypes with susceptibility to colorectal cancer in older non-smokers. *Eur J Clin Pharmacol* 63: 9-16
- Ostergaard M, Ernst a, Labouriau R, Dagiliene E, Krarup Hb, Christensen M. 2009. Cyclooxygenase-2, multidrug resistance 1, and breast cancer resistance protein gene polymorphisms and inflammatory bowel disease in the Danish population. *Scand J Gastroenterol* 44: 65-73.
- Oxford J. 2005. Oseltamivir in the management of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 6: 2493-500.
- Patel M, A. Dennis, C. Flutter and Z. Khan. 2010. Pandemic (H1N1) 2009 influenza *British Journal of Anaesthesia* 104 128-42.
- Rebecchi IM, Rodrigues Ac, Arazi Ss, Genvigir Fd, Willrich Ma, Hirata Mh, Soares Sa, Bertolami Mc, Faludi Aa, Bernik Mm, Dorea El, Dagli MI, Avanzo JI, Hirata Rd. 2009. ABCB1 and ABCC1 expression in peripheral mononuclear cells is influenced by gene polymorphisms and atorvastatin treatment. *Biochem Pharmacol* 77: 66–75.
- Robson R, A. Buttimore, K. Lynn, M. Brewster, and P. Ward. 2006. The pharmacokinetics and tolerability of oseltamivir suspension in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol. Dial. Transplant* 21: 2556–2562.
- Roche LI, Gilead Sciences Inc, 2008. *Tamiflu (Oseltamivir phosphate) capsules and oral suspension* [Internet]. California, Disponible en el sitio de red: <http://www.rocheusa.com/products/tamiflu/pi.pdf> [Revisado julio 2012]
- Roninson I. 1992. The role of the MDR1 (P-Glycoprotein) gene in multidrug resistance in vitro and in vivo *Biochem Pharmacol* 43: 95 - 102.
- Rosenberg MF, Callaghan R, Ford Rc, Higgins Cf. 1997. Structure of the multidrug resistance Pglycoprotein to 2.5nm resolution determined by electron microscopy and image analysis. *J Biol Chem* 272: 10685–10694.
- Ruiz GMJ, Souviron Rodríguez a, Martínez Morillo M. 2002. La glicoproteína-P una bomba de membrana que representa una barrera a la quimioterapia de los pacientes con cáncer. *An Med Interna* 19: 477-485.
- Rüstemoglu A, G. Gumus-Akay, S. Yigit and T. Tasliyurt. 2011. Analysis of common MDR1 (ABCB1) gene C1236T and C3435T polymorphisms in Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Genet. Mol. Res* 10: 3411-3420.
- Saito H, Okuda M, Terada T, Sasaki S, and Inui K 1995. Cloning and characterization of a rat H₂O₂/peptide cotransporter mediating absorption of β -lactam antibiotics in the intestine and kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 1631–1637.
- Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. 2003. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics* 4: 397–410.

- Sakaeda T NT, Okumura K. . 2003a. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. . *Pharmacogenomics* 4: 397–410
- Sakaeda T NT, Okumura K. . 2003b. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. . *Pharmacogenomics* 4: 397–410. .
- Sala-Rabanal MLDDFHBaTEaWEM. 2006. Molecular interactions between dipeptides, drugs and the human intestinal H⁺-oligopeptide cotransporter hPEPT1. *J Physiol* 149–166.
- Sanjay UCS, Jos H. Beijnen, Alfred H. Schinkel, Joep M. A. Lange, and Jan M. Prins. 2004. P Glycoprotein in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection and Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1073–1081.
- Scheiner MA, Da Cunha Vasconcelos F, Da Matta Rr, Dal Bello Figueira R Jr, Maia Rc. 2012. ABCB1 genetic variation and P-glycoprotein expression/activity in a cohort of Brazilian acute myeloid leukemia patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 138: 959-969.
- Schinkel AH. 1999. P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 36: 179-194.
- Schinkel AH, E. Wagenaar, C. A. Mol, and L. Van Deemter. 1996. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J. Clin. Investig* 97: 2517–2524.
- Schinkel AH, E. Wagenaar, L. Van Deemter, C. A. Mol, and P. Borst. 1995. Absence of the *mdr1a* P-glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A. *J. Clin. Investig* 96: 1698–1705.
- Schinkel AH, J. J. Smit, O. Van Tellingen, J. H. Beijnen, E. Wagenaar, L. Van Deemter, C. A. Mol, M. A. Van Der Valk, E. C. Robanus-Maandag, and H. P. Te Riele. 1994. Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs *Cell Res* 77: 491–502.
- Schinkel AHJonker JW. 2003. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* 55: 3-29.
- Schirmer P, Holodniy M. 2009. Oseltamivir for treatment and prophylaxis of influenza infection. *Expert Opin Drug Saf* 8: 357-71.
- Schwab M, Eichelbaum M, Fromm Mf. 2003. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 43: 285–307
- Serrano C. 1996. Polimorfismo Génico (HLA) en poblaciones hispanoamericanas. *In: Mestizaje e historia de la población en México*, P, G. B. Madrid, España, pp. 173–193.
- Shigeta S. 1999. Oseltamivir (Guest Commentaries). *Drugs* 58: 861-2.
- Silbernagl S. 1988. The renal handling of amino acids and oligopeptides. *Physiol. Rev* 68: 911–1007.
- Silva-Zolezzi IaH-M, Jesus Estrada-Gil, Juan Carlos Fernandez-Lopez, Laura Uribe-Figueroa, Alejandra Contreras, Eros Balam-Ortiz, Laura Del Bosque-Plata, David Velazquez-Fernandez, Cesar Lara, Rodrigo Goya, Enrique Hernandez-Lemus, Carlos Davila, Eduardo Barrientos, Santiago March, and Gerardo

- Jimenez-Sanchez. 2009. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *PNAS* 106: 8611-8616.
- Sparreboom A, J. Van Asperen, U. Mayer, A. H. Schinkel, J. W. Smit, D. K. Meijer, P. Borst, W. J. Nooijen, J. H. Beijnen, and O. Van Tellingen. 1997. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci* 94: 2031–2035.
- Stouch T, Gudmundsson O. 2002. Progress in understanding the structure-activity relationship of Pglycoprotein. *Adv Drug Deliv Rev* 54: 315–328.
- Sugawara MHW, Fei Yj, Leibach Fh, Ganapathy V, and Ganapathy Me 2000. Transport of valganciclovir, a ganciclovir prodrug, via peptide transporters PEPT1 and PEPT2. *J Pharm Sci* 89: 781–789.
- Sullivan SJ, Jacobson Robert M., . Dowdle Walter R., Poland Gregory A. 2010. 2009 H1N1 Influenza. *Clin Proc* 85: 64-76.
- Takuo OTK, Tamae Wagatsuma, Sho Wada, Hikaru Yabuuchi, Shigeki Enomoto, Kaori Morimoto, Yoshiyuki Shirasaka, Shoko Kobayashi, and Ikumi Tamai. 2009. Oseltamivir (Tamiflu) Is a Substrate of Peptide Transporter 1. *Drug Metabolism And Disposition* 37: 1676–1681.
- Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y. 2001. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR-1) gene. *J Pharmacol Exp Ter* 297: 1137-1143.
- Thiebaut F, Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M. M., Pas- Tan, I., and Willingham, M.C. 1987. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci* 84: 7735–7738.
- Thorlund K, Tahany Awad, Guy Boivin and Lehana Thabane. 2011. Systematic Review Of Influenza Resistance To The Neuraminidase Inhibitors. *BMC Infectious Diseases* 11: 134.
- Tirona RG, Kim Rb. 2002. Pharmacogenomics. The Search for Individualized Therapies. Germany, pp. 179–213.
- Toovey S, Rayner C, Prinssen E 2008. Assessment of neuropsychiatric adverse events in influenza patients treated with oseltamivir: a comprehensive review. *Drug Saf* 31: 1097–114.
- Ueda K, Cornwell, M. M., Gottes- Man, M. M., Pastan, I., Roninson, I. B., Ling, V. And Riordan, J. R. 1986. The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem. Bio- phys. Res. Commun* 141: 956–962.
- Urayama KY, Wiencke Jk, Buffler Pa, Chokkalingam Ap, Metayer C, Wiemels JI. 2007. MDR1 gene variants, indoor insecticide exposure, and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 1172-1177.
- Van Asperen J, Mayer U, Van Tellingen O, Beijnen JH. 1997. The functional role of P-glycoprotein in the blood-brain barrier. *J Pharm Sci* 86: 881-4.
- Van Asperen J, O. Van Tellingen, and J. H. Beijnen. 1998. The pharmacological role of P-glycoprotein in the intestinal epithelium. *Pharmacol. Res* 37: 429–435.
- Who, 2009a. *CDC Protocol of Realtime RTPCR for influenza A(H1N1)* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html> [Revisado diciembre 2011]

- Who, 2009b. *Pandemic (H1N1) 2009— update 70* [Internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.who.int/csr/don/2009_10_16/en/index.html. [Revisado
- Who, 2011. *2011-2012 Influenza Antiviral Medications* [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm> [Revisado junio 2012
- Writing Committee of The WHOCOCaOPI, Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Harper SA, Shaw M, Uyeki TM, Zaki SR, Hayden FG, Hui DS, Kettner JD, Kumar A, Lim M, Shindo N, Penn CNicholson KG. 2010. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med* 362: 1708-19.
- Yamashiro T, N. Watanabe, K. K. Yokoyama, C. Koga, T. Tsuruo, and Y. Kobayashi. 1998. Requirement of expression of P-glycoprotein on human natural killer leukemia cells for cell-mediated cytotoxicity. *Biochem. Pharmacol* 55: 1385–1390.
- Yang Y, Sugimoto JD, Halloran ME, Basta NE, Chao DL, Matrajt L, Potter G, Kenah ELongini IM, Jr. 2009. The transmissibility and control of pandemic influenza A (H1N1) virus. *Science* 326: 729-33.
- Yi SY, Hong, K.S., Lim, H.S., Chung, J.Y., Oh ,D.S., Kim, J.R., Jung, H.R, Cho, J.Y., Yu,K.S., Jang, I.J. And Shin, S.G. 2004. A variant 2677A allele of the MDR1 gene affects fexofenadine disposition. *Clin. Pharmacol. Ther* 76: 418-427
- Zucchelli MP, Leif Torkvist, Md, Francesca Bresso, Md, Phd, Jonas Halfvarson, Md, Phd, Anna Hellquist, Msc, Francesca Anedda, Phd, Ghazaleh Assadi, Msc, Gunnar B. Lindgren, Md, Monika Svanfeldt, Md, Martin Janson, Md, Colin L. Noble, Md, Sven Pettersson, Md, Phd, Maarit Lappalainen, Phd, Paulina Paavola-Sakki, Md, Leena Halme, Md, Martti Fa`Rkkila`, Md, Ulla Turunen, Md,Jack Satsangi, Md, Phd, Kimmo Kontula, Md, Phd, Robert Lo`Fberg, Md, Phd, Juha Kere, Md, Phd, and Mauro D`amato, Phd. 2009. PepT1 Oligopeptide Transporter (SLC15A1) Gene Polymorphism in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 15: 1562–1569.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Rosa Nelly González Ríos

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias con Acentuación en Inmunobiología

Tesis: **FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE TRANSPORTADORES DEL FÁRMACO OSELTAMIVIR, UTILIZADO EN EL BROTE PANDÉMICO DE INFLUENZA A H1N1, EN UNA POBLACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 25 de agosto de 1975, hija del Sr. José Isabel González Sánchez (†) y la Sra. Josefina Ríos Vda. de González.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Química Bacterióloga Parasitóloga en 1998.

Experiencia Profesional: Analista en el Comité para el Fomento y Protección Pecuaria del Estado de Nuevo León desde 2004, Técnico en Investigación en el Centro de Investigación Biomédica del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social desde 2009.